

SABRINA CRISTINA CORRÊA

**HERANÇA DA COR DO OLHO E CAPACIDADE DE VOO DA VARIANTE
MOSCA-DAS-FRUTAS-SUL-AMERICANA *Anastrepha fraterculus* (DIPTERA:
TEPHRITIDAE).**

Tese apresentada como requisito parcial para obtenção do título de doutor no Curso de Pós-Graduação em Produção Vegetal da Universidade do Estado de Santa Catarina - UDESC.

Orientador: Prof. Dr. Jefferson Luís Meirelles Coimbra

**LAGES
2019**

**Ficha catalográfica elaborada pelo programa de geração automática da
Biblioteca Setorial do CAV/UEDESC,
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)**

Corrêa, Sabrina Cristina

Herança da cor do olho e capacidade de voo da variante
mosca-das-frutas-sul-americana *Anastrepha fraterculus* (Diptera:
Tephritidae). / Sabrina Cristina Corrêa. -- 2019.
68 p.

Orientador: Jefferson Luís Meirelles Coimbra

Coorientador: Adalecio Kovaleski

Tese (doutorado) -- Universidade do Estado de Santa Catarina,
Centro de Ciências Agroveterinárias, Programa de Pós-Graduação
em Produção Vegetal, Lages, 2019.

1. Variação Genética. 2. Separação. 3. Endogamia. 4. Mutação.
5. Seleção. I. Coimbra, Jefferson Luís Meirelles. II. Kovaleski,
Adalecio. III. Universidade do Estado de Santa Catarina, Centro de
Ciências Agroveterinárias, Programa de Pós-Graduação em
Produção Vegetal. IV. Título.

SABRINA CRISTINA CORRÊA

HERANÇA DA COR DO OLHO E CAPACIDADE DE VOO DA VARIANTE MOSCA-DAS-FRUTAS-SUL-AMERICANA *Anastrepha fraterculus* (DIPTERA: TEPHRITIDAE).

Tese apresentada ao Curso de Pós Graduação em Produção Vegetal, na Universidade do Estado de Santa Catarina, como requisito parcial para obtenção do grau de Doutor em Produção Vegetal.

Banca examinadora:

Orientador: _____

Dr. Jefferson Luís Meirelles Coimbra.
Universidade do Estado de Santa Catarina.

Membro interno: _____

Dr. Altamir Frederico Guidolin.
Universidade do Estado de Santa Catarina.

Membro externo: _____

Dra. Denise Schmidt.
Universidade Federal de Santa Maria

Membro externo: _____

Dra. Janaína Pereira dos Santos.
EPAGRI - Estação Experimental de Caçador-SC.

Membro externo: _____

Dr. Braulio Otomar Caron. Universidade Federal de Santa Maria

Lages, 08 de fevereiro de 2019

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus por teus planos para a minha vida serem sempre maiores do que os meus sonhos! Sou grata pela vida e pelas pessoas que fazem parte dela, mas acima de tudo grato a Deus por me conceder tudo isso!

A toda a minha família, meus pais Adão Antônio Corrêa e Marlei Maria Sirena, minha irmã Steale Cristina Corrêa, por ter acreditado e caminhado, principalmente, nos momentos mais difíceis juntos na realização de mais um sonho. Amo vocês incondicionalmente.

Ao meu orientador Prof. Dr. Jefferson Luís Meirelles Coimbra pelos ensinamentos e principalmente pela confiança depositada em mim. Ao Prof. Dr. Altamir Frederico Guidolin e ao meu co-orientador Dr. Adalecio Kovaleski pela oportunidade e aprendizado. A Universidade do Estado de Santa Catarina – UDESC pelo ensino gratuito e de qualidade. A Profa. Dra. Patrícia Pierre Universidade Federal de Santa Catarina - Campus de Curitibanos pelo conhecimento, oportunidade e pela amizade.

Aos colegas do Laboratório de Entomologia, localizado na Embrapa Uva e Vinho, em Vacaria, RS, por tudo, principalmente, ao Cláudio Barros pela amizade. Agradeço ao Prof. Dr. Cláudio Roberto Franco do Laboratório Entomologia na Universidade do Estado de Santa Catarina - UDESC– CAV localizado em Lages, SC por conceder o laboratório para realização dos experimentos, pelo carinho e compreensão.

A todos os meus colegas de laboratório do Instituto de Melhoramento e Genética Molecular (IMEGEM), UDESC- CAV, Lages, SC. Agradeço em especial a minha amiga Thayse pelos conselhos, pela dedicação e orientação nos experimentos. As minhas amigas Rita Nicole, Murielli e ao Paulo pela compreensão e paciência nos ensinamentos. Agradeço em especial ao meu amigo Cleiton Wille pela realização de mais um sonho.

Aos meus amigos pelos os momentos de alegria e diversão em especial ao Romeu, Rodrigo, Diana, Ana, Dani, Talissa e Walter (Lorena, João, Ana Larissa, Juliana de Belém do Pará).

MUITO OBRIGADA!

**“Se você quiser descobrir os segredos do
Universo, pense em termos de
energia, frequência e vibração”
(Nikola Tesla).**

RESUMO

CORRÊA, Sabrina Cristina. **Herança da cor do olho e Capacidade de voo da variante mosca-das-frutas-sul-americana, *Anastrepha fraterculus* (Diptera: Tephritidae)**. 2019. 68 p. Tese (doutorado) – Universidade do Estado de Santa Catarina, Centro de Ciências Agroveterinárias, Doutorado em Produção Vegetal, Lages, 2019.

Considerada uma praga em potencial na fruticultura a mosca-das-frutas-sul-americana conhecida por *Anastrepha fraterculus* é destaque devido aos danos econômicos causados nos frutos tanto pela oviposição quanto pelo desenvolvimento de larvas. O estudo da variação genética, comportamental e reprodutiva de moscas-das-frutas, tem possibilitado o conhecimento de mecanismos evolutivos, adaptativos e no controle destes insetos-praga, seja por meios químicos, físicos ou genéticos. Foi observado em laboratório a presença de moscas mutantes para o caráter cor do olho de *Anastrepha fraterculus* apresentando cor branco do olho diferente da cor do olho vermelho da mosca selvagem. Neste sentido, o trabalho foi dividido em dois capítulos. No primeiro capítulo, o experimento foi realizado no Laboratório de Entomologia localizado na Embrapa Uva e Vinho em Vacaria, RS entre os meses fevereiro e junho de 2016. Foram realizados cruzamentos dirigidos: *i*) direto, *ii*) recíproco, *iii*) retrocruzamentos entre moscas mutantes e selvagens conforme o delineamento genético clássico de Mendel. As hipóteses mendelianas foram testadas pelo teste qui-quadrado (χ^2) para caráter cor de olho. A herança genética para a mosca mutante *A. fraterculus* para caráter cor do olho foi caracterizada como herança autossômica recessiva governada por um gene. O segundo capítulo, o experimento foi realizado no Laboratório Entomologia na Universidade do Estado de Santa Catarina - UDESC- CAV localizado em Lages, SC entre os meses setembro e dezembro de 2017. O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado com cinco repetições. Tubos cilíndricos de plástico preto foram utilizados para realizar a seleção de fenótipos superiores para a capacidade de voo. Foram avaliados a capacidade de voo, tamanho do comprimento da asa direita de fêmeas e machos (simetria bilateral) e número de ovos ovipositados pelas fêmeas por geração. Os dados foram submetidos a análise de variância por modelos lineares mistos generalizados e quando necessário comparado as médias por Tukey-Kramer ambos ao nível de 5% de significância. Não houve diferença significativa ao longo das gerações para as distribuições das frequências fenotípicas para a capacidade de voo da mosca mutante *A. fraterculus*. Não houve diferença no número de ovos ovipositados por fêmeas entre as gerações. Houve diferença significativa no tamanho do comprimento da asa direita entre fêmeas e machos.

Palavras-chave: Variação Genética. Separação. Endogamia. Mutação. Seleção.

ABSTRACT

CORRÊA, Sabrina Cristina. **Heritage of the eye color flight and capacity of the mutant fly *Anastrepha fraterculus* (Diptera: Tephritidae)**. 2019.68.Thesis (doctorate) - State University of Santa Catarina, Agroveterinary Sciences Center, PhD in Plant Production, Lages, 2019.

Considered to be a potential pest in fruit growing, the South American fruit fly known as *Anastrepha fraterculus* is highlighted due to the economic damage caused to the fruits by both oviposition and larval development. The study of the genetic, behavioral and reproductive variation of fruit flies has made possible the knowledge of evolutionary mechanisms, adaptive and in the control of these insects-pests, either by chemical, physical or genetic means. It was observed in laboratory the presence of mutant flies to the color character of the eye of *A. fraterculus* presenting white color of the eye different from the color of the red eye of the wild fly. In this sense, the work was divided in two chapters, where the objectives were: first chapter *i*) to characterize the genetic inheritance of the color of the eye of the mutant *A. fraterculus* through crossings between fixed and segregant populations; second chapter *ii*) characterize the distributions of phenotypic frequencies for flight capacity between generations and the reproductive and morphological difference of *A. fraterculus* mutant fly. In the first chapter, the experiment was carried out at the Entomology Laboratory located at Embrapa Uva e Vinho in Vacaria, RS between February and June 2016. Crosses were conducted: *i*) direct, *ii*) reciprocal, *iii*) backcrossing between mutant flies and wild according to Mendel's classic genetic outline. The Mendelian hypotheses were tested by the chi-square test (χ^2) for eye color character. The genetic inheritance for the mutant fly *A. fraterculus* for eye color character was characterized as an autosomal recessive inheritance governed by a gene. The second experiment was carried out at the Laboratory of Entomology at the State University of Santa Catarina - UDESC-CAV located in Lages, SC between September and December 2017. The experimental design was a completely randomized design with five replicates. Black plastic cylindrical tubes were used to carry out the selection of superior phenotypes for flight capability. Flying ability, right wing length of females and males (bilateral symmetry) and number of eggs oviposited by females per generation were evaluated. The data were submitted to analysis of variance by generalized linear mixed models and when necessary compared the averages by Tukey-Kramer both at the level of 5% of significance. There was no significant difference over the generations for the phenotypic frequency distributions for flight capacity of the mutant fly *A. fraterculus*. There was no difference in the number of eggs ovulated by females between generations. There was a significant difference in the size of the right wing length between females and males.

Keywords: Genetic Variation. Segregation. Inbreeding. Mutation. Selection.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 - Gaiolas cilíndricas de acrílico utilizadas para a realização dos cruzamentos e placas de oviposição para a coleta de ovos em condições de laboratório ($25 \pm 2^{\circ}\text{C}$, UR $60 \pm 10\%$ e fotofase 14 horas), Embrapa Uva e Vinho Vacaria- RS.....36
- Figura 2 - Indivíduos a) mutantes (coloração branca) e b) selvagens (coloração iridescente azuis-verde com um padrão de mudança em pigmentos vermelhos) homozigotos e contrastantes para o caráter cor do olho.....37
- Figura 3- Desenvolvimento larval em dieta artificial em condições de laboratório (câmara climatizada $26 \pm 2^{\circ}\text{C}$ $65 \pm 10\%$ UR, escotofase de 24 horas), Embrapa Uva e Vinho Vacaria- RS, 2019..... 38
- Figura 4 - Seleção visual para caráter cor de olho de mutantes e selvagens (fêmeas/machos) em condições de laboratório ($25 \pm 2^{\circ}\text{C}$, UR $60 \pm 10\%$ e fotofase 14 horas), Embrapa Uva e Vinho Vacaria- RS, 2019.38
- Figura 5- Tubos cilíndricos de plástico preto utilizados para realizar a seleção de fenótipos superiores para a capacidade de voo em condições de laboratório ($25 \pm 2^{\circ}\text{C}$, UR $60 \pm 10\%$ e fotofase 14 horas), Embrapa Uva e Vinho Vacaria- RS, 2019.....49
- Figura 6- Gaiolas de plástico confeccionadas contendo água destilada e dieta sólida composta para realização dos cruzamentos entre mutantes em condições de laboratório ($25 \pm 2^{\circ}\text{C}$, UR $60 \pm 10\%$ e fotofase 14 horas), Embrapa Uva e Vinho Vacaria- RS, 2019..50
- Figura 7- Tamanho do comprimento da asa direita de fêmeas e machos.....51
- Figura 8 - Distribuição de frequência da capacidade de voo de fêmeas e machos mutantes de *Anastrepha fraterculus* (Wied, 1830) (Diptera: Tephritidae) em condições de laboratório ($25 \pm 2^{\circ}\text{C}$, UR de $60 \pm 10\%$ e fotofase de 14 horas).....53

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Cruzamento entre casais mutantes e selvagens de <i>Anastrepha fraterculus</i> para o estudo da herança da cor do olho.....	36
Tabela 2 – Número de indivíduos avaliados quanto a cor do olho em populações fixas e segregantes de <i>Anastrepha fraterculus</i> do cruzamento recíproco. UDESC-IMEGEM, Lages, SC.....	40
Tabela 3- Análise de variância do caráter capacidade de voo da variante mutante <i>Anastrepha fraterculus</i> (Diptera: Tephritidae) considerando a geração e o sexo dos indivíduos e sua interação.....	52
Tabela 4 – Análise de variância do número de ovos ovipositados entre as gerações de fêmeas mutantes de <i>Anastrepha fraterculus</i> ao longo dos dias.	53
Tabela 5 - Oviposição ao longo de oito dias por fêmeas mutantes de <i>Anastrepha fraterculus</i> em placas de petri confeccionadas com tecido emborrachado em condições de laboratório (25 ± 2 °C UR de 60 ± 10 % e 14 h de fotofase).	54
Tabela 6 - Análise de variância do tamanho do comprimento da asa direita de fêmeas e machos da mosca mutante <i>Anastrepha fraterculus</i> (Diptera: Tephritidae).	55

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO GERAL	19
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	21
2.1 FAMÍLIA TEPHRITIDAE E GÊNERO <i>Anastrepha</i>	21
2.2 IDENTIFICAÇÃO	21
2.3 CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS	22
2.4 DANOS DIRETOS E INDIRETOS	22
2.5 MONITORAMENTO POPULACIONAL E CONTROLE BIOLÓGICO	23
2.6 TÉCNICA DO INSETO ESTÉRIL (TIE) EM MOSCAS- DAS- FRUTAS	24
2.7 VARIABILIDADE GENÉTICA.....	25
2.8 O COMPLEXO <i>fraterculus</i>	25
2.9 ESPECIAÇÃO E ISOLAMENTO REPRODUTIVO.....	26
2.10 GENÉTICA DE POPULAÇÕES	27
2.11 DELINEAMENTOS BIOMÉTRICOS	29
2.12 CARIOLOGIA E MARCADOR MOLECULAR.....	30
2.13 MUTAÇÕES EM MOSCAS-DAS-FRUTAS.....	31
3 CAPÍTULO I- HERANÇA DA COR DO OLHO DA VARIANTE MOSCA-DAS- FRUTAS-SUL-AMERICANA (DIPTERA: TEPHRITIDAE).	33
3.1 RESUMO	33
3.2 ABSTRACT	33
3.3 INTRODUÇÃO.....	34
3.4 MATERIAL E MÉTODOS.....	35
3.4.1 Local e Delineamento Experimental	35
3.4.2 Constituições Genéticas.....	36
3.4.3 Análise Estatística	39
3.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	39
3.5.1 Populações Fixas	39

3.5.2 Populações Segregantes	40
3.6 CONCLUSÃO	43
4 CAPÍTULO II- CAPACIDADE DE VOO DA VARIANTE MOSCA-DAS-FRUTAS-SUL-AMERICANA <i>Anastrepha fraterculus</i> (DIPTERA: TEPHRITIDAE).....	45
4.1 RESUMO	45
4.2 ABSTRACT.....	45
4.3 INTRODUÇÃO.....	46
4.4 MATERIAL E MÉTODOS.....	48
4.4.1 Local do Experimento.....	48
4.4.2 Estabelecimento da População Cor de Olho Branco	48
4.4.3 Teste da Capacidade de Voo.....	48
4.4.4 Caráter Tamanho das Asas.....	50
4.4.5 Análise Estatística.....	51
4.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	51
4.6 CONCLUSÃO	55
5 CONSIDERAÇÕES FINAIS	57
REFERÊNCIAS.....	59

1 INTRODUÇÃO GERAL

O território brasileiro possui uma grande diversidade de espécies frutíferas cultivadas em regiões distintas de clima tropical e temperado. O país é o terceiro maior produtor mundial de frutas frescas representado pela laranja, banana, abacaxi, melancia, coco, mamão, ameixa, pêssigo, uva e maçã com uma produção anual superior a 40 milhões toneladas, perdendo somente para a China e a Índia (ANUÁRIO BRASILEIRO DA FRUTICULTURA, 2018).

Desta maneira, diversos fatores podem causar perdas tanto na qualidade quanto na produção de plantas frutíferas, sejam elas nativas ou exóticas, devido as condições edafoclimáticas, posição geográfica e, principalmente, por insetos considerados pragas na fruticultura, como por exemplo as moscas-das-frutas (QUERINO et al., 2014).

As moscas-das-frutas pertencem a família Tephritidae, infestam mais de 54 espécies de plantas frutíferas, entre elas a família das Myrtaceae, Sapotaceae, Anacardiaceae, Passifloraceae, as quais são consideradas hospedeiras multiplicadoras destes insetos pragas (SILVA et al., 2010; BOMFIM et al., 2014).

Para o gênero *Anastrepha* estão registrados mais de 97 espécies no Brasil, das quais 45 espécies encontram-se distribuídas em Santa Catarina (NAVA; BOTTON, 2010). Do ponto de vista econômico, em Santa Catarina e no Rio Grande do Sul a espécie que tem maior relevância por ser considerada a principal espécie praga na fruticultura é a mosca-das-frutas-sul-americana *Anastrepha fraterculus* (MALAVASI et al., 2000).

Esta praga *Anastrepha fraterculus* encontra-se presente em mais de 95% das armadilhas instaladas nos pomares no RS e desperta a atenção dos produtores frutícolas, devido aos danos causados nos frutos, ocasionando perdas na produção e na qualidade para a comercialização (SALLES; KOVALESKI, 1990; KOVALESKI et al., 2000).

A espécie *A. fraterculus* pertence a ordem Diptera, família Tephritidae (GALLO et al., 2002), encontra-se distribuída na América Latina entre as latitudes 35°N e 35°S (ALUJA, 1994; MALAVASI et al., 2000).

Segundo Mendes (1958), em um estudo sobre os tecidos somáticos e a parte germinal, o número básico de cromossomo da espécie *A. fraterculus* é $n=12$, caracterizando uma espécie diploide. Selivon et al. (2004, 2005), em estudo sobre análises isoenzimas, cariótipos, morfologia do ovo, morfometria, concluiu que existem pelo menos quatro grupos diferentes denominados de *Anastrepha* sp.1 *aff fraterculus*, *A. sp.2 aff fraterculus*, *A. sp.3 aff fraterculus* e *A. sp. 4 aff fraterculus* compondo o grupo *fraterculus* no Brasil.

Posteriormente, outros trabalhos na área da biologia molecular com marcadores moleculares, possibilitaram a seleção de *primers* SSR polimórficos para a espécie *A. fraterculus*, os quais foram desenvolvidos e mapeados por Lanzavecchia et al. (2014) para caracterizar o complexo *fraterculus*.

Em 2010, em meio a uma criação de moscas selvagens de *A. fraterculus* foi observado a presença de moscas mutantes para o caráter cor de olho branco divergente da mosca selvagem que apresenta coloração do olho iridescente azuis-verde com um padrão de mudança em pigmentos vermelhos (YAMADA; SELIVON, 2001). Estudos sobre a herança da cor do olho e a capacidade de voo desta população de mosca mutante *A. fraterculus* são escassos na literatura brasileira.

O estudo sobre as variações genéticas, reprodutivas e morfológicas desta espécie mutante *A. fraterculus* irão possibilitar melhor entendimento do comportamento evolutivo, adaptativo e genético desta espécie. Fatores estes, em conjunto, contribuem na caracterização da variabilidade genética, de modo que, a descrição do fenótipo depende do componente genético, ambiental e da interação entre ambos. Caso não haja variabilidade genética para uma característica em questão dentro de uma população, a mesma pode ser considerada uma população endogâmica.

Desta maneira, o primeiro capítulo aborda a realização de experimentos através de cruzamentos entre pais homozigotos e contrastantes, a fim de caracterizar a herança da cor do olho da mosca mutante *A. fraterculus*. O segundo capítulo foi destinado à realização de testes de capacidade de voo, descrição do comportamento reprodutivo e análises morfológicas da mosca mutante *A. fraterculus*.

O estudo se baseou nas seguintes hipóteses: primeiro capítulo: *i*) a herança da cor do olho é autossômica recessiva governada por um gene; segundo capítulo: *ii*) A mutação na cor do olho afetou na capacidade de voo; *iii*) existe variabilidade genética para o caráter capacidade voo; *iv*) Existe diferenças entre as gerações para o comportamento reprodutivo e *v*) Existe diferenças nas análises morfológicas entre fêmeas e machos. Com base nestas hipóteses, os objetivos foram: primeiro capítulo *i*) caracterizar a herança genética da cor do olho da mutante *A. fraterculus* através de cruzamentos entre populações fixas e segregantes; segundo capítulo *ii*) caracterizar as distribuições das frequências fenotípicas para a capacidade de voo entre as gerações da mosca mutante *A. fraterculus*; *iii*) caracterizar se existe diferença reprodutiva e morfológica da mosca mutante *A. fraterculus*.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 FAMÍLIA TEPHRITIDAE E GÊNERO *Anastrepha*

As moscas-das-frutas dos gêneros *Anastrepha*, *Bactrocera*, *Ceratitis*, *Dacus*, *Ragoletis* e *Toxotrypana*, pertencem a Ordem Diptera, família Tephritidae, apresentam metamorfose completa, sendo estas, consideradas importantes pragas no mundo (GALLO et al., 2002). Mais de 4.448 espécies estão agrupadas em 484 gêneros de moscas das frutas, as quais encontram-se distribuídas nas regiões que compreendem a América do Sul, América Central, Caribe, México e Sul dos Estados Unidos (NORRBOM, 2004).

O gênero *Anastrepha* inclui cerca de 115 espécies, entre elas, sete espécies, tem importância agrícola, a *Anastrepha fraterculus* (Wied.), *Anastrepha grandis* (Macquart), *Anastrepha obliqua* (Marquart), *A. pseudoparallela* (Loew), *Anastrepha sororcula* Zucchi, *Anastrepha striata* Schiner e *Anastrepha zenildae* Zucchi (ZUCCHI, 2000).

2.2 IDENTIFICAÇÃO

A espécie *Anastrepha fraterculus* pode ser facilmente identificada erroneamente com outras espécies do gênero *Anastrepha*, como as espécies *A. sororcula*, *A. obliqua* e *A. zenildae*, (ZUCCHI et al., 1998).

O grupo *fraterculus*, é um grupo que evoluiu recentemente e é composto por mais de 27 espécies, sendo semelhantes morfológicamente entre si (SMITH-CALDAS, et al., 2001). O aparelho reprodutivo e a morfologia do ápice do ovipositor de fêmeas adultas é um dos métodos utilizados para diferenciar uma espécie da outra (ZUCCHI, 2000).

Hernández- Ortiz et al. (2004) realizaram experimentos com populações de *A. fraterculus* e amostras foram coletadas em sete localidades do México, duas no Brasil, uma na Colômbia e uma na Argentina para observar 19 variáveis morfométricas do acúleo, asa e mesonoto. Os resultados obtidos foram que existe diferenças significativas nas populações do México e da América do Sul no que diz respeito ao acúleo, que correspondem a entidades taxonômicas distintas.

2.3 CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS

As características morfológicas descritas para a espécie *A. fraterculus* é que o aparelho reprodutivo da fêmea é composto pela bainha do ovipositor com a abertura do oviduto próximo ao ápice com padrão alar do mesonoto (MÂNICA DA CRUZ et al., 2000).

Os ovos quando ovipositados por fêmeas de *A. fraterculus* apresentam um formato de meia lua e são arredondados nas extremidades com coloração branco-creme (SELIVON; PERONDINI, 1998). Dois dias após oviposição, é possível observar a eclosão de larvas, as quais passam por três ínstares e o seu tamanho varia conforme esta vai se desenvolvendo dentro fruto (BOTTON et al., 2003). Após o desenvolvimento larval, observa-se a presença de pupas do tipo coarctada, as quais apresentam uma coloração que varia de branco, amarelada, a marrom escuro (SALLES, 1995).

A *A. fraterculus* apresenta em torno de 7 mm de comprimento e 16 mm de envergadura, asas hialinas de cor amarela e com manchas em formato de S e V invertido (GALLO et al., 2002).

2.4 DANOS DIRETOS E INDIRETOS

As moscas das frutas são pragas de importância econômica na fruticultura e barreiras quarentenárias são impostas pelos países importadores, devido aos danos causados em frutos por fêmeas tanto diretamente quanto indiretamente (BOTTON et al., 2003). Danos diretos podem ser caracterizados como o desenvolvimento larval no interior de frutos. Os indiretos, tanto o corpo quanto o aparelho bucal das fêmeas de *A. fraterculus*, podem servir de transporte mecânico de fungos quando em contato com o fruto no momento da realização da punctura, levando assim à infecção e a incidência de podridões fúngicas, acarretando em perdas na qualidade dos frutos (MACHOTA JUNIOR et al., 2013).

Vários danos podem ocorrer em plantas frutíferas, entre eles, podemos citar, a cultura da videira na fase de grão ervilha, fêmeas ovipositam em bagas de uva, ocorrendo uma queda prematura, devido a oviposição e posteriormente o desenvolvimento larval em frutos maduros, acarretando perdas na cultura (ZART; BOTTON; FERNANDES, 2011).

Em maçã, foi possível observar em frutos verdes e imaturos algumas deformações devido a postura de fêmeas de *A. fraterculus* e a presença de galerias mal sucedidas causadas por larvas, levando a queda prematura dos frutos, tornando-se inviável a produção (SUGAYAMA et al., 1997).

2.5 MONITORAMENTO POPULACIONAL E CONTROLE BIOLÓGICO

Atualmente, o monitoramento populacional das moscas-das- frutas vem sendo realizado com o uso de atrativos alimentares, suco de uva tinto (25%), IscaMosca (5%), Torula (pastilhas), BioAnastrepha (5%) e CeraTrap® sem diluição em armadilhas instaladas nos pomares. O monitoramento populacional, permite conhecer melhor a ocorrência e a flutuação populacional das moscas-das-frutas em diversos locais, podendo auxiliar em programas de manejo integrado (MONTEIRO et. al, 2007).

No Brasil e no mundo o uso expressivo de inseticidas em pomares para o controle de insetos-pragas tem acarretado problemas relacionados com o desaparecimento de insetos benéficos, resistência a pragas, resíduos nos alimentos, surtos de pragas secundárias, desequilíbrio ambiental, bem como problemas à saúde humana (VREYSEN et al., 2006).

É importante salientar sobre a importância do conhecimento da bioecologia de insetos-pragas em relação as plantas hospedeiras, uma vez que, o controle torna-se mais eficaz quando é tomada a decisão seja por meio de métodos químicos, biológicos ou culturais (SALLES, 1995).

O controle biológico tem sido uma alternativa promissora para o controle destes insetos pragas, aumentando a diversidade biológica, conservação dos recursos naturais e a preservação de espécies nativas (AZEVEDO et al., 2013). Desta maneira, vários métodos tem sido utilizados para controlar as moscas- das- frutas como exemplo o uso de bactérias, parasitoides, predadores, vírus, fungos e nematóides (CARVALHO et al., 2000).

Na família Tephritidae vários estudos tem sido realizados com uma bactéria chamada *Wolbachia*, pois, esta causa alterações reprodutivas em seus hospedeiros, incompatibilidade citoplasmática (IC) unidirecional e bidirecional (WERREN, 1997).

A IC unidirecional, está associada quando o óvulo da fêmea que não está infectado pela bactéria é fertilizado com o espermatozoide do macho infectado. Por outro lado, a IC bidirecional está relacionada com possíveis linhagens diferentes de *Wolbachia* que pode infectar tanto machos quanto as fêmeas (RIBEIRO, 2009).

Desta forma, cruzamentos entre populações, espécies ou linhagens, pode ocorrer IC nos gametas femininos e masculinos, causando a morte do zigoto nas espécies diplóides ou gerando machos na prole haplodiploides (HARRIS et al., 2012).

O parasitoide exótico *Diachasmimorpha longicaudata* (Hymenoptera: Braconidae) é utilizado para o controle de larvas de *A. fraterculus* e *C. capitata* (PARANHOS, 2008).

2.6 TÉCNICA DO INSETO ESTÉRIL (TIE) EM MOSCAS- DAS- FRUTAS

A técnica do inseto estéril (TIE) consiste na liberação de um grande número de machos esterilizados por irradiação que irão acasalar com as fêmeas selvagens (espécie-específico), por serem estéreis não geram descendentes, diminuindo assim o nível populacional dos insetos (KNIPLING, 1955).

Esta técnica, por sua vez tem sido adotada em vários países, como EUA, México, Guatemala, Argentina, Chile, Peru, Portugal, Tunísia, Tailândia, África do Sul e Japão no controle das mosca-das-frutas tais como: *Ceratitis capitata*, *Bactrocera cucurbitae*, *Anastrepha ludens* e *Anastrepha obliqua* (Macquart, 1835), obtendo sucesso no controle destes insetos-pragas (HENDRICHES, 2002).

No ano de 2005 no Brasil, especificamente na região Nordeste em Juazeiro/Petrolina foi fundada a primeira biofábrica a utilizar a tecnologia de raios-x para esterilização de insetos para o controle da mosca-do-mediterrâneo, *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae).

Entretanto, existem alguns empecilhos na utilização da técnica do macho estéril, devido as diferentes doses radioativas à serem aplicadas para a esterilizar o macho. É realizado, após a esterilização, um padrão de controle de qualidade determinado pela Agência Internacional de Energia Atômica (IAEA/FAO), onde os machos estéreis devem apresentar capacidade de voo, atrair as fêmeas, copular e as fêmeas devem preferencialmente acasalar uma só vez (DIAS; GARCIA, 2014).

A esterilização por radiação gera mutações letais dominantes aleatórios nos gametas afetados, de modo que, os ovos postos pelas fêmeas fertilizadas por machos estéreis não se desenvolvem. No entanto, existe a possibilidade de ocorrer aspermia e sobrevivência reduzida do adulto, quando estes receberam doses de irradiação nos seus estádios iniciais de larvas e pupas de *A. fraterculus* (DIAS; GARCIA, 2014).

Na engenharia genética, existe um sistema conhecido como RIDL (Lançamento de Insetos carregando uma dominância letal) é um sistema transgênico espécie- -específico que induz a letalidade nos organismos portadores do transgene (PHUC et al., 2007). Este procedimento ocorre devido a integração de um transposon no material genético do inserto, o qual está relacionado com a codificação de uma proteína repressível por tetraciclina, que possui ação deletéria no desenvolvimento celular quando utilizada em altas doses intracelulares (OLIVEIRA et al., 2011).

Descendentes do RIDL e do TIE, morrem em consequência de herdar um ou mais mutações letais dominantes, havendo o declínio da população alvo (PHUC et al., 2007).

2.7 VARIABILIDADE GENÉTICA

Uma das formas de proporcionar criação da variabilidade genética tanto em plantas quanto em insetos é através da mutação. Neste sentido, a mutação pode ocorrer de forma espontânea na natureza ou induzida por agentes químicos ou físicos. A variabilidade genética pode ocorrer na segregação cromossômica independente e na recombinação genética da meiose vistos em suas progênies (STAHL, 1970).

A recombinação gênica, entre diferentes genótipos, é realizada por meio da hibridização natural ou artificial, havendo a fusão de gametas geneticamente diferentes resultando em híbridos heterozigóticos para um ou mais loci (HALLAUER; MIRANDA, 1991).

A diversidade alélica ou haplotípica (sequências nucleotídicas específicas) são geradas através de mecanismos genéticos de recombinação e diploidia. Em genética, a recombinação, refere-se ao crossing-over meiótico, no qual abrange eventos meióticos tanto de segregação independente quanto crossing-over, criando novas combinações gênicas passadas para a próxima geração (GUERRA, 1996).

Diante disso, a permuta ou “crossing over” ocorre nos cromossomos homólogos na meiose, havendo uma divisão reducional dos gametas (2^n , onde n = número de pares de cromossomos em indivíduos heterozigotos) e trocas em partes entre as cromátides não irmãs, possibilitando a recombinação de genes ligados (RAMALHO et al., 2012).

2.8 O COMPLEXO *fraterculus*

A caracterização da variabilidade genética, mediante a constituição de bancos de germoplasma e coleções de variações genéticas vêm sendo um fato importante na identificação do grupo *fraterculus* (SMITH-CALDAS et al., 2001).

Várias pesquisas têm auxiliado na identificação do complexo *fraterculus* por meio de estudos morfométricos multivariado, citotaxonomia, bioquímica, isoenzimas, cariótipo e a nível molecular. Tais estudos, indicaram a detecção da variabilidade genética, maior informação genética por loco e a existência de um complexo de espécies crípticas (onde duas ou mais espécies distintas são erroneamente classificadas dentro da espécie) (BARR, 2005; SELIVON et al., 2005).

Selivon et al. (2004) estudou os aspectos cromossômicos e morfológicos e constatou duas entidades biológicas diferentes de *A. fraterculus* que ocorre simpatricamente, a *A. sp. 1 aff fraterculus* (*A. sp1*) e *A. sp2 aff fraterculus* (*A. sp2*) na região Sul do Brasil. Posteriormente

foram identificadas mais duas novas espécies do complexo *fraterculus*, localizadas nas regiões sul, sudeste e no litoral do Brasil a *A. sp. 3 aff fraterculus* e em Guayaquil no Equador *A. sp. 4 aff fraterculus* (SELIVON et al., 2005)

Com isso, através das entidades morfológicas da *A. sp.1* e a *A. sp.2*, observa-se várias semelhanças entre as duas no que diz respeito a especiação e ao isolamento reprodutivo, devido aos mecanismos que causam alteração reprodutiva (incompatibilidade citoplasmática) no isolamento pós-zigótico.

2.9 ESPECIAÇÃO E ISOLAMENTO REPRODUTIVO

Para compreender melhor a biologia evolutiva e o complexo de espécies crípticas das moscas-das-frutas é fundamental conhecer o processo de especiação e a distribuição destes organismos no tempo e no espaço (OLIVEIRA, 2009).

Segundo Ridley (2006) o complexo de espécies crípticas compreende espécies isoladas reprodutivamente entre si, mas morfológicamente idênticas, no qual compreende mais de uma espécie de *Anastrepha fraterculus* (SELIVON et al., 2005).

O conceito de especiação pode ser definido quando indivíduos de uma população não conseguem mais trocar material genético entre si, uma vez que, a especiação é dividida em alopátrica, simpátrica, parapátrica e peripátrica (FUTUYMA, 2005; BICKFORD et al., 2007).

O conceito da especiação alopátrica é quando grandes populações são isoladas fisicamente por alguma barreira externa e as populações não conseguem mais cruzar entre si, ocorrendo o isolamento reprodutivo (COYNE, 1992). Já para a especiação simpátrica, não são separadas geograficamente, mas se tornam espécies diferentes. O processo de especiação é caracterizado pela ausência de fluxo gênico entre as populações de reprodução sexuada, de modo que a divergência do gene pode ocorrer ao acaso ou por seleção natural, ocorrendo assim o isolamento reprodutivo (WU, 2001).

O isolamento reprodutivo entre as populações é um mecanismo que proporciona identificar diferenças no sistema reprodutivo e morfológico entre espécies. Por consequência, quando dois grupos não compartilham um pool genético em comum, o F_1 é completamente inviável ou estéril em ambos os sexos, indicando grupos isolados reprodutivamente (WU, 2001).

Tanto a seleção sexual quanto a seleção ambiental (as incompatibilidades) são fatores que contribuem para o isolamento reprodutivo que é dividido em pré e pós-zigótico (BROCK-CLUTTON, 2009).

Um exemplo pré-zigótico é a alimentação que influencia no isolamento reprodutivo, devido os machos procurarem fêmeas que mantiveram a mesma dieta que os mesmos. Diante disso, a seleção pode estar atuando em função do gene da alimentação e reprodução, fenômeno este conhecido como pleiotropia (CRESONI-PEREIRA; ZUCOLOTO, 2005).

Já o processo pós-zigótico é mais complexo envolvendo vários fatores, entre eles: espécies diferentes reproduzindo-se e gerando híbridos. Os híbridos podem apresentar comportamentos aberrantes, conseqüentemente, baixa viabilidade ou esterilidade gamética, sendo assim existem casos em que o isolamento é total após o acasalamento devido a anomalias comportamentais (ROUGHGARDEN; AKÇAY, 2010).

Diante disso, sugere-se que as espécies possuem diferentes padrões de divergência genética, tanto ao nível intrapopulacional quanto ao nível interpopulacional. A divergência genética ocorre também quando comparada com o grau de isolamento sexual (duração pré-acasalamento e acasalamento) incompatibilidade híbrida (redução da reprodução) entre duas espécies (RITCHIE, 2007).

2.10 GENÉTICA DE POPULAÇÕES

Uma população é definida quando um conjunto de indivíduos da mesma espécie compartilham genes entre si, apresentam características e um sistema de acasalamento em comum (TEMPLETON, 2011).

Desta maneira, uma população pode ser caracterizada a partir da sua frequência alélica a qual refere-se a um alelo, que por sua vez, a frequência genotípica corresponde a um genótipo (HARTL; CLARK, 2010).

A estrutura de uma população será determinada pela quantidade de indivíduos envolvidos na reprodução. Em populações pequenas podem ocorrer alterações na sua estrutura, apresentando uma certa endogamia. Já em populações grandes, ocorre a união dos gametas aleatoriamente, apresentando um equilíbrio genético, e as frequências gênicas, genotípicas permanecem constantes de geração em geração (GRIFFITHS et al., 2013). Uma população compartilha um conjunto coletivo de genes locais chamados de pool gênico (conjunto). Portanto, a evolução ocorre quando há uma mudança no pool gênico, no qual ocorrem vários tipos de combinações gênicas ao longo do tempo (GRIFFITHS et al., 2013).

A dedução das frequências genotípicas (cruzamentos aleatórios de indivíduos) e das frequências alélicas da genética de populações está fundamentada na equação da lei de Hardy-

Weinberg. O modelo da equação Hardy-Weinberg pode ser ilustrado matematicamente entre frequências alélicas e genóticas é dado por:

$$\text{Binomial: } (p+q)^2: p^2+ 2pq+q^2=1 \text{ onde AA: } p^2 \text{ Aa:}2pq \text{ aa: } q^2$$

em que p^2 , $2pq$ e q^2 são frequências dos genótipos **AA**, **Aa** e **aa** nos zigotos de qualquer geração, p e q são frequências alélicas de **A** e **a** nos gametas precedente $p+q=1$. Para que não ocorra erros de amostragem, a população deve ser suficiente grande (HARTL; CLARK, 2010).

O cálculo pode ser utilizado para as frequências gênicas na geração atual (t_0) para calcular as frequências genóticas na geração seguinte (t_1) por amostragem do conjunto gênico e também pode ser usado para calcular as frequências gênicas na próxima geração (t_2).

Estas frequências gênicas devem permanecer tanto na geração (t_2) quanto na geração (t_1), aderindo ao equilíbrio de Hardy-Weinberg (RAMALHO et al., 2012). Portanto, frequências alélicas não devem mudar de uma geração para outra em uma população em equilíbrio.

No entanto, a teoria do equilíbrio Hardy-Weinberg só pode ser aplicada, caso sejam inexistentes ou de pequena magnitude fatores evolutivos, como a mutação, seleção natural, migração e deriva ou oscilação genética.

A mutação, ocorre a nível molecular de várias formas, por meio de substituições de uma única base, inserções, deleções, transposições, duplicações, criando diversidade alélica, onde os alelos são simplesmente formas alternativas de um gene (STAHL, 1970).

A seleção natural é um processo que ocorre quando há interação do genótipo com ambiente, ou seja, diferentes genótipos se expressam conforme as condições do ambiente, produzindo diferentes fenótipos Este processo está fundamentado na replicação diferencial do DNA, onde ambiente pode influenciar nos indivíduos para determinadas características hereditárias, tendo como consequência a chance de sobrevivência e reprodução (PEREIRA, 2014).

A migração ocorre quando indivíduos geneticamente diferentes introduzem seus genes em uma outra população, de modo que, ocorre alterações nas frequências gênicas nesta população (TEMPLETON, 2011).

Já a oscilação genética é um dos fatores que explica as modificações das frequências alélicas em populações. As principais consequências da oscilação genética são: *i*) diferenças nas subpopulações; *ii*) diminui a variância genética dentro de uma população e *iii*) aumento da homozigose (CARNEIRO et al., 2006).

2.11 DELINEAMENTOS BIOMÉTRICOS

A divergência genética pode ser avaliada através de modelos biométricos, os quais quantificam a heterose ou por métodos preditivos baseados no grau de diversidade genética, seja ela morfológica, agronômica, fisiológica ou molecular (CRUZ, 2008). Muitos genótipos podem apresentar o mesmo fenótipo e o mesmo genótipo pode ter diferentes efeitos fenotípicos em ambientes diferentes (FALCONER, 1981).

Delineamentos biométricos são uma alternativa utilizada para detectar a interação genótipo x ambiente (repetidos em vários ambientes), os quais proporcionam a estimação da variabilidade genética, correlação do genótipo e fenótipo, através dos efeitos ambientais e suas interações (CRUZ, 2008).

Os modelos biométricos estão fundamentados na avaliação da divergência dos genitores, abrangendo áreas importantes da genética e da experimentação, bem como procedimentos de análises uni e multivariadas de características qualitativas, quantitativas e moleculares (CRUZ; CARNEIRO, 2004).

Neste sentido, três aspectos diferenciam a genética qualitativa da quantitativa: *i*) caracteres quantitativos, geralmente são governados por vários genes (Herança poligênica); *ii*) através do estudo de populações, pode-se estimar parâmetros, como média, variância e covariância; *iii*) Variações contínuas e efeito do ambiente (CRUZ et al., 2012).

A variação genética entre as progênies vai depender da ação dos locos envolvidos e também da variação do caráter em questão nas diferentes gerações. Cabe destacar que os caracteres que possuem importância econômica é do tipo quantitativo em diferentes espécies, sendo estes caracteres estudados através do valor fenotípico em ação conjunta com o efeito genótipo sob influência do ambiente (MATHER; JINKS, 1984).

Contudo, a variação genética quantifica a expressão de um caráter na população e pode ser decomposta em três elementos: *i*) variância genética aditiva; *ii*) variância genética dominante; *iii*) variância genética epistática (FREEMAN, 1973).

A variância genética aditiva possui um número favorável de alelos em uma população que se apresenta em equilíbrio, devido aos valores genotípicos dos indivíduos, identificação dos possíveis genótipos superiores, definindo o ganho de seleção (MATHER; JINKS, 1984).

A variância genética epistática, refere-se à interação gênica de diferentes alelos, sendo complexa, devido sua herança dos caracteres em relação a variação genética aditiva e dominante (FALCONE; MACKAY, 1996). Os efeitos epistáticos são características quantitativas e estão

correlacionados com a base genética da heterose e depressão por endogamia (CHEVERUD; ROUTMAN, 1995; CACH et al., 2005).

A heterose manifesta na média fenotípica do híbrido (vigor híbrido) em relação à média das suas respectivas linhagens genitoras contrastantes (EBERHART; RUSSEL, 1966; BORÉM; MIRANDA, 2005; 2013). O grau médio da dominância expressa o tipo de interação intra-alélica entre o valor genotípico codificado do homozigoto, sendo expresso pela dominância completa 1 ($d=a$); ausência de dominância 0 ($d=0$); sobredominância > 1 ($d>a$); dominância parcial <1 ($d<a$) (CRUZ et al., 2012).

A herdabilidade é a proporção de variância genética sobre a variância fenotípica total, ou seja, a proporção herdável da variabilidade total. Esta proporção herdável é alterada pelo efeito do ambiente e a seleção de novos genótipos torna-se mais difícil (NUNES et. al., 2002). A herdabilidade pode ser dividida em dois tipos: herdabilidade no sentido amplo e herdabilidade no sentido restrito.

A herdabilidade no sentido amplo é definida pelo coeficiente de determinação entre a variação valor genotípico (V_g) sobre o valor fenotípico (V_f) (BORÉM; MIRANDA, 2013). A herdabilidade no sentido restrito é definida como o coeficiente de determinação entre a variação valor genético aditivo (V_a) e o valor fenotípico (V_f).

Neste sentido, os possíveis fatores que afetam a herdabilidade são: *i*) a característica; *ii*) o método de estimação; *iii*) a diversidade na população; *iv*) o nível de endogamia da população; *v*) o tamanho da amostra avaliada; *vi*) o número e o tipo de ambiente considerados; *vii*) a unidade experimental considerada e *viii*) a precisão na condução do experimento e da coleta de dados (BORÉM; MIRANDA, 2013).

2.12 CARIOLOGIA E MARCADOR MOLECULAR

Mendes (1958), estudou os tecidos somáticos (glânglios nervosos, larvas e pupas) e a parte germinal (testículos de pupas, ovários e adultos) de *A. fraterculus*. Este mesmo autor, observou nos tecidos somáticos de larvas fêmeas e machos a presença de 12 cromossomos ($2n=12$). Sendo que, no tecido somático da larva fêmea observou-se a presença de cinco pares e dois cromossomos não homólogos (um grande e um pequeno), de modo que a constituição da fêmea é de $10A+XX$ e a do macho $10A+XY$, sendo X maior que Y.

E na parte germinal, tanto os testículos de pupas quanto os de adultos, apresentaram na primeira divisão meiótica, cromossomos se movimentando para um lado do pólo $5A+X$ e para outro lado do pólo $5A+Y$. Já na segunda divisão meiótica, os espermátócitos apresentaram

5A+X e 5A+Y. Apesar dos estudos serem realizados de forma independente, ainda assim havia a necessidade de compreender melhor à respeito da biologia e a evolução de espécies no complexo *fraterculus* (SELIVON; PERONDINI, 1998).

O estudo genético em populações está baseado na estrutura genética, no sistema reprodutivo e no fluxo gênico, com transmissão mendeliana e os marcadores moleculares têm sido utilizados com sucesso no estudo das populações (AGUIAR et al., 2011).

Marcadores microssatélites são usados no grau de indivíduo aparentado, na determinação da pureza varietal, fluxo gênico, estimativa da taxa de cruzamento, diversidade genética e identificação de genes (RAMALHO et al., 2012)

A determinação da diversidade genética entre genótipos de interesse e a identificação de genes-alvo pode ser realizada com o uso de marcadores moleculares (FERREIRA & GRATTAPAGLIA, 1996). Em genética de populações são utilizados marcadores microssatélites ou SSR (Single Sequence Repeats), os quais tem sequências de DNA repetitivas em *tandem* (4 nucleotídeos de comprimento).

Os microssatélites são amplificados através da PCR, utilizando-se primers específicos de 20-30 bases, complementares as sequências que flanqueiam uma determinada sequência repetitiva. Entretanto, às sequências podem variar de tamanho pela adição ou perdas das unidades repetidas, caracterizando uma taxa evolutiva (FERREIRA; GRATTAPAGLIA, 1995).

A partir das sequências repetitivas, independentemente do elemento repetitivo (CA, GC, TG, ATC), é possível obter informações de uma determinada espécie. Os locus microssatélites pode ser distinguido pelo seu tamanho, após a amplificação e os fragmentos podem ser separados tanto em géis de agarose, corados com brometo etídio, quanto em géis poliacrilamida, com coloração com nitrato de prata (ZIMMER et al., 2005).

O polimorfismo possui uma grande quantidade de alelos e permite uma separação precisa de indivíduos aparentados, no qual são muito utilizados na biologia de populações, como exemplo no estudo de fluxo gênico ou na avaliação no grau de parentesco (SCHOLÖTTERER, 2004). Várias são as vantagens de se usar os microssatélites, entre elas, são codominantes (pode se distinguir a diferença entre homozigotos e heterozigotos), uma vez que requerem pouco DNA, pois, são multialélicos (FERREIRA; GRATTAPAGLIA, 1995).

2.13 MUTAÇÕES EM MOSCAS-DAS-FRUTAS

A mutação pode ser definida como qualquer efeito ou ação de mudar, alterar ou transformar algo no material genético. Um exemplo de mutação gênica, é o clássico estudado

em *Drosophila* o fenótipo de olho de Bar. Esta mutação gênica ocorre quando nas duplicações podem causar variações fenotípicas, alterando assim a forma oval normal do olho para fendas verticais. Neste caso, ocorreu uma mutação ligada a herança X, onde as fêmeas selvagens (B^+/B^+) apresentam aproximadamente 800 facetas, as fêmeas heterozigotas (B/B^+) tem cerca 350 facetas, enquanto as fêmeas homozigotas B (B/B) apresentaram em média 70 facetas (KLUG et al., 2010). As facetas são chamadas de omatídeos e possuem simetria bilateral (GALLO et al., 2000)

Nas primeiras décadas do século XX o pesquisador Thomas Hunt Morgan havia estudado a herança dos olhos brancos em *Drosophila* ligada ao cromossomo X. Uma possível explicação, seria que os genes encontram-se em regiões diferentes no cromossomos X e Y (divididos em regiões homólogas e diferenciais), apresentam mudanças nas proporções fenotípicas diferentes em cada sexo. Existem alelos mutantes que estão localizados em regiões diferentes e apresentam um padrão de herança monogêncica (pares de genes que segregam igualmente na formação de gametas) ligada ao X. Já os alelos mutantes com poucos genes a herança está no cromossomo Y chamados de ligados ao Y (STAHL, 1970).

A cor dos olhos compostos das moscas *Drosophila* é caracterizada por dois alelos que se encontram em regiões diferentes no cromossomo X. Neste caso, os alelos recessivos são os alelos mutante do olho branco representado por (w) e o alelo do tipo selvagem da cor do olho vermelho representado por (w^+). No momento do acasalamento, o macho que possui olho branco ($w/-$) cruza com uma fêmea que possui cor do olho vermelho (w^+/w^+) e toda a sua prole na F_1 apresenta as proporções de $\frac{1}{2}$ fêmea vermelha (w^+/w) e $\frac{1}{2}$ macho vermelho ($w^+/-$). Já em F_2 , os machos e as fêmeas da F_1 cruzaram e obteve-se uma proporção de $\frac{1}{4}$ fêmea vermelha (w^+/w^+), $\frac{1}{4}$ macho vermelho ($w^+/-$), $\frac{1}{4}$ fêmea vermelha (w^+/w) e $\frac{1}{4}$ macho branco ($w/-$). Assim, a herança ligada ao sexo é caracterizada devido as proporções fenotípicas serem diferentes nos dois sexos da prole (GRIFFITHS et al., 2013).

3 CAPÍTULO I- HERANÇA DA COR DO OLHO DA VARIANTE MOSCA-DAS-FRUTAS-SUL-AMERICANA (DIPTERA: TEPHRITIDAE).

3.1 RESUMO

O presente trabalho teve como objetivo identificar a herança genética da cor do olho da mutante *Anastrepha fraterculus*. O experimento foi conduzido em sala climatizada no Laboratório de Entomologia da Embrapa Uva e Vinho de Vacaria-RS entre os meses de fevereiro a junho de 2016. Foram realizados conforme o delineamento genético clássico cruzamentos dirigidos: *i*) direto, *ii*) recíproco, *iii*) retrocruzamentos com indivíduos mutantes e selvagens da mesma espécie. A fenotipagem foi realizada visualmente atribuindo a cor do olho branco para mutantes (A_{fraw}) e vermelho para selvagens (A_{fraW}). As hipóteses genéticas foram testadas pelo teste qui-quadrado $\chi^2_{0,001} = 10,83$. Os parâmetros genéticos, fenotípicos e a herdabilidade no sentido amplo foram obtidos pelo programa computacional Genes. O cruzamento entre os genitores, mostrou tanto na geração F₁ quanto em F₂, que são homocigotos e contrastantes para o caráter cor do olho. O cruzamento direto (A_{fraw} ♀ x A_{fraW} ♂) apresentou proporções fenotípicas diferentes esperadas em F₁. No cruzamento recíproco as gerações F₁, F₂, RC₁, RC₂, RC₁' e RC₂' (A_{fraW} ♀ x A_{fraw} ♂) seguiram as proporções fenotípicas mendelianas (1:0; 3:1; 1:1; 1:0; 1:1 e 1:0). Portanto, a herança genética para caráter cor do olho foi descrita como herança autossômica recessiva governada por um gene transmitida de forma mendeliana.

Palavras chave: *Anastrepha fraterculus*, Mutação, Variação Genética, Segregação.

3.2 ABSTRACT

The present work aimed to identify the genetic inheritance of the color of the eye of the mutant *Anastrepha fraterculus*. The present work aimed to identify the genetic inheritance of the color of the eye of the mutant *Anastrepha fraterculus*. The experiment was carried out in an air-conditioned room at the Entomology Laboratory of Embrapa Grape and Wine of Vacaria-RS from February to June 2016. The crossbreedings were carried out according to the classical genetic design: *i*) test cross, *ii*) reciprocal cross and, *iii*) backcrossing using mutant and wild individuals of the same species. Phenotyping was performed visually by assigning white eyes to mutants (A_{fraw}) and red to wild (A_{fraW}). Genetic hypotheses were tested using the chi-square test (χ^2). Genetic, phenotypic and heritability parameters in the broad sense were obtained by using the Genes software. The chi-square test $\chi^2_{0,001} = 10.83$ did not detect significant differences between the number of flies per phenotype. The crossbreeding between the parents showed in both F₁, F₂ generation, which are homozygous and contrasting to the eye color trait. The test cross (A_{fraw} ♀ x A_{fraW} ♂) showed phenotypic segregation in F₁ with presence of female and mutant males. The generations F₁, F₂, RC₁, RC₂, RC₁' and RC₂' (A_{fraW} ♀ x A_{fraw} ♂) in the reciprocal cross followed the Mendelian hypotheses ratio (1:0; 3:1; 1:1; 1:0; 1:1 and 1:0). Therefore, the genetic inheritance of the eye color trait was described as an autosomal recessive inheritance controlled by a gene transmitted in the Mendelian way.

KEYWORDS: *Anastrepha fraterculus*, Mutation, Genetic Variation, Segregation

3.3 INTRODUÇÃO

A espécie *Anastrepha fraterculus* (Wiedemann, 1830) conhecida como mosca-das-frutas-sul-americana, pertence a ordem Diptera, família Tephritidae e apresenta ampla dispersão, principalmente, na região Sul do Brasil (KOVALESKI et al., 2000; MANNI et al., 2015).

É considerada uma praga de importância econômica que causa danos nos frutos tanto pela oviposição quanto por larvas, além de servir como meio de transporte mecânico aos fungos, potencializando a incidência de podridões fúngicas (MACHOTA JUNIOR et al., 2013). Desta maneira, as frutas de clima temperado como a maçã, o pêssego, a ameixa e a uva são consideradas hospedeiras multiplicadoras para o desenvolvimento larval dessa espécie praga (BOTTON et al., 2003; BOMFIM et al., 2014).

Moscas-das-frutas mutantes são descritas na ordem Diptera para a característica cor de olho como um importante caráter biológico e apresentam várias cores para a cor do olho, como o vermelho, branco, amarelo e marrom (FUTUYMA, 1992). A mutação está condicionada na existência biológica de genes no espaço/tempo e causam distorções nas proporções fenotípicas, diferenças na expressão gênica como, na cor e tamanho do olho, asas, tórax, abdômen, longevidade e sistema reprodutivo (AGUIAR et al., 2011; XUE et al., 2017).

Este caráter fenotípico cor de olho é muito estudado pelos cientistas e tem servido como modelo experimental em estudos, como herança genética, envelhecimento precoce, mapeamento do genoma, monitoramento populacional, liberação e captura, exame de comportamento da maturidade fisiológica, transgenia e manipulação genética de insetos (LIU et al., 2014).

Nas primeiras décadas do século XX, o pesquisador Thomas Hunt Morgan em 1933, estudou a herança genética da mosca-das-frutas *Drosophila sp.* para a cor do olho do cruzamento entre moscas selvagens (vermelhos) e mutantes (brancos). Tais resultados o levaram a concluir que a herança genética para a cor dos olhos entre o cruzamento de selvagens e mutantes estava ligada ao cromossomo X (GRIFFITHS et al., 2013; RAMPASSO; VILELA, 2017). Mutantes, em geral, na família Tephritidae, possuem herança autossômica recessiva para o caráter cor do olho (branco), descritos para as espécies *Ceratitis capitata* (Wiedemann), *Bactrocera dorsalis* (Hendel) e a *B. cucurbitae* (Coquillett) (SAUL; McCOMBS, 1992; ZAPATER; PEREZ-CAMARGO, 2002; ZEPEDA-CISNEROS et al., 2010).

Mais recentemente, Yamada e Selivon (2001) descreveram pela primeira vez uma população de moscas mutantes de *A. fraterculus* para o caráter cor do olho (branco). Em seus

estudos, os autores identificaram a cor de olho para a mutante como *Rose* e sugeriram uma herança autossômica recessiva.

Em 2010, no laboratório da Embrapa Uva e Vinho em Vacaria, RS em meio a criação de moscas selvagens de *A. fraterculus* foi observado a presença de moscas mutantes para o caráter cor de olho. População de moscas selvagens de *A. fraterculus* apresentam cor vermelho para o caráter cor de olho e as mutantes apresentam cor do olho branco. O aumento destes indivíduos mutantes na população selvagem, tem sugerido que este caráter pode ser transmitido ao longo das gerações. No entanto, estudos que auxiliem na compreensão da herança genética para o caráter cor de olho desta nova população mutante são praticamente inexistentes na literatura.

O presente trabalho teve como objetivo identificar a herança genética da cor do olho da variante mutante *A. fraterculus* através de cruzamentos entre populações fixas e segregantes mantidas na Embrapa Uva e Vinho em Vacaria, RS.

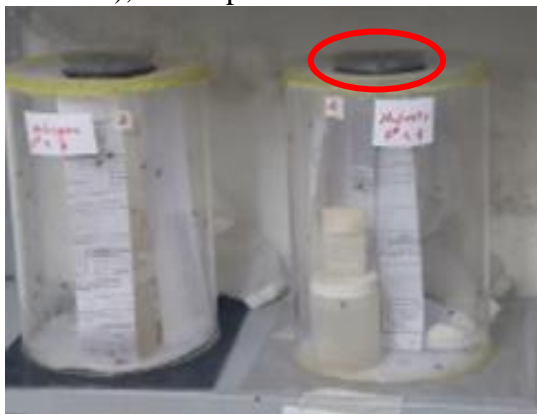
3.4 MATERIAL E MÉTODOS

3.4.1 Local e Delineamento Experimental

O experimento foi conduzido entre os meses de fevereiro e junho de 2016, no Laboratório de Entomologia, localizado na Embrapa Uva e Vinho, em Vacaria, RS, Brasil (latitude 28° 30' 44" S e longitude 50° 56' 02" W). As populações mutantes e selvagens de *Anastrepha fraterculus* são consideradas fixas e são mantidas a mais de 100 gerações pelo laboratório da na Embrapa Uva e Vinho em sala climatizada (25±1°C, 65±10% UR).

Foram montadas gaiolas cilíndricas de acrílico (10 cm x 40 cm) contendo dieta sólida com água destilada para a realização dos cruzamentos das gerações entre P₁, P₂, F₁, F₂, RC₁, RC₂, RC₁' e RC₂' (Figura 1).

Figura 1 - Gaiolas cilíndricas de acrílico utilizadas para a realização dos cruzamentos e placas de oviposição para a coleta de ovos em condições de laboratório ($25 \pm 2^\circ\text{C}$, UR $60 \pm 10\%$ e fotofase 14 horas), Embrapa Uva e Vinho Vacaria- RS.



Fonte: Elaborado pela autora, 2019.

Os cruzamentos dirigidos entre as populações fixas e segregantes (direto, recíproco, retrocruzamentos) estão apresentados na Tabela 1.

Tabela 1 - Cruzamento entre casais mutantes e selvagens de *Anastrepha fraterculus* para o estudo da herança da cor do olho.

CRUZAMENTOS	GENÓTIPO	FENÓTIPO
	Fixo	
	Afraw X Afraw (P_1)	Mutante (cor do olho branco)
	AfraW x AfraW (P_2)	Selvagem (cor do olho vermelho)
	Segregantes	
Direto	Afraw x AfraW ($P_1 \times P_2$)	Mutante x Selvagem
Recíproco	AfraW x Afraw ($P_2 \times P_1$)	Selvagem x Mutante
Retrocruzamentos	RC ₁ AfraW (F_1) x Afraw (P_1)	Selvagem x Mutante
	RC ₂ AfraW (F_1) x AfraW (P_2)	Selvagem x Selvagem
	RC _{1'} Afraw (P_1) x AfraW (F_1)	Mutante x Selvagem
	RC _{2'} AfraW (P_2) x AfraW (F_1)	Selvagem x Selvagem

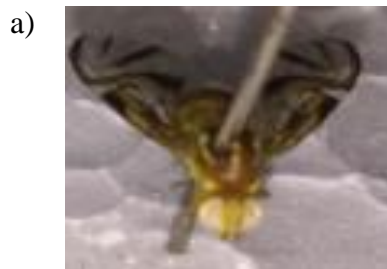
Fonte: Elaborado pela autora, 2019.

3.4.2 Constituições Genéticas

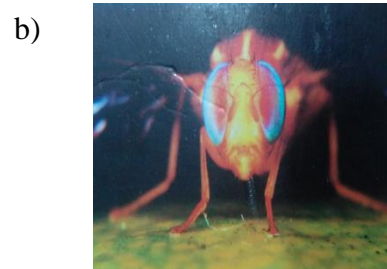
Foram avaliadas as populações fixas e segregantes de *A. fraterculus* obtidas a partir dos cruzamentos entre indivíduos homocigotos e contrastantes para o caráter cor do olho: *i*) mutantes: olhos compostos com coloração branca *ii*) selvagens: olhos compostos com coloração

iridescente azuis-verde com um padrão de mudança em pigmentos vermelhos (YAMADA; SELIVON, 2001) (Figura 2).

Figura 2 - Indivíduos a) mutantes (coloração branca) e b) selvagens (coloração iridescente azuis-verde com um padrão de mudança em pigmentos vermelhos) homozigotos e contrastantes para o caráter cor do olho.



Fonte: Elaborado pela autora, 2019.



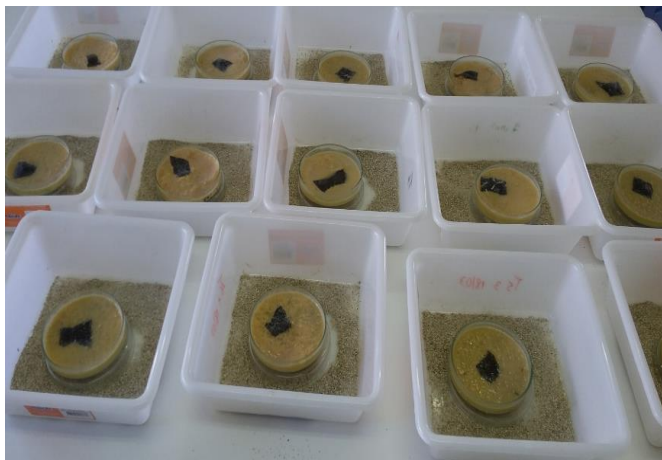
Fonte: Adaptado de Zucchi et al., 2000.

Fêmeas virgens (mutantes e selvagens) e machos (mutantes e selvagens) foram criados em gaiolas cilíndricas de acrílico (10 cm x 40 cm) separadas para garantir que não houvesse hibridações antes do estudo, para efetuar os cruzamentos e obter as progênes F₁. Os genitores puros quando em idade reprodutiva (seis dias) foram inseridos em cada gaiola (25 fêmeas e 25 machos) para a realizar as hibridações, obtenção da geração F₁.

As fêmeas acasaladas ovipositavam diariamente e os ovos foram coletados, em torno de 10 dias, a partir das placas de oviposição. As placas foram confeccionadas em tecido emborrachado, localizadas no topo de cada gaiola. Após a coleta, os ovos foram contados com auxílio de um pincel em um microscópio binocular (20x 40x) e em seguida, foram transferidos para papel toalha com auxílio de pipeta Pasteur, para posterior eclosão de larvas.

O desenvolvimento larval ocorreu em dieta artificial a base de milho, nipagin, açúcar, levedo de cerveja (proporção 1:1:1:1) em câmara climatizada (26 ± 2 °C $65 \pm 10\%$ UR) e escotofase de 24 horas, durante aproximadamente sete a 10 dias (MORELLI, 2012).

Figura 3 - Desenvolvimento larval em dieta artificial em condições de laboratório (câmara climatizada 26 ± 2 °C $65 \pm 10\%$ UR, escotofase de 24 horas), Embrapa Uva e Vinho Vacaria- RS, 2019.



Fonte: Elaborado pela autora, 2019.

Quando as larvas atingiram o terceiro ínstar ocorreu o empupamento em recipientes plásticos preenchidos com vermiculita esterilizada após empupamento procedeu-se a contagem dos pupários. O período pupal durou de 14 a 20 dias em sala climatizada (25 ± 1 °C, $65 \pm 10\%$ UR) com fotofase de 14 horas.

Após a obtenção da geração F_1 foi realizada a contagem e a seleção visual para a respectiva característica. Em seguida, para a obtenção das gerações F_2 e dos retrocruzamentos, foram montadas novas gaiolas com dieta sólida e água destilada, inseriram-se 25 fêmeas e 25 machos em cada gaiola, conforme seu respectivo cruzamento, ou seja, F_2 , os retrocruzamentos.

Após a emergência foi repetida a contagem e a seleção visual para a respectiva característica.

Figura 4 - Seleção visual para caráter cor de olho de mutantes e selvagens (fêmeas/machos) em condições de laboratório (25 ± 2 °C, UR $60 \pm 10\%$ e fotofase 14 horas), Embrapa Uva e Vinho Vacaria- RS, 2019.



Fonte: Elaborado pela autora, 2019.

3.4.3 Análise Estatística

Para analisar a hipótese do número de genes envolvidos (se um, dois ou mais genes) para característica de distribuição discreta foi utilizado o teste qui-quadrado $\chi^2_{0,001} = 10,83$ de probabilidade de erro. As respectivas hipóteses em F_2 na 3:1 (proporção fenotípica) e 1:2:1 (proporção genotípica), RC_1 (1:1), RC_2 (1:0), $RC_{1'}$ (1:1) e $RC_{2'}$ (1:0) foram testadas para os cruzamentos (SCHUSTER; CRUZ, 2008).

Os parâmetros genéticos e fenotípicos branco (0) e vermelho (1) e a herdabilidade no sentido amplo foram obtidos com auxílio do programa computacional Genes: (Programa para análise e processamento de dados baseado em modelos de genética e estatística experimental, versão 2009.7.0).

3.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.5.1 Populações Fixas

Os resultados obtidos para populações fixas demonstraram que os genitores utilizados nos experimentos são homozigotos e contrastantes para o caráter cor de olho. Tanto na geração F_1 quanto na F_2 , os indivíduos mutantes apresentaram a cor do olho branco e os selvagens cor do olho vermelho (Tabela 2).

No cruzamento entre os genitores mutantes (Afraw x Afraw) a geração F_1 e F_2 totalizaram 4548 ovos, 1147 pupários, das quais 668 emergiram adultos. Já as moscas selvagens (AfraW x AfraW), praticamente são duas vezes superiores, 7252 ovos, 2136 pupários e 1828 adultos. Devido as diferenças biológicas encontradas entre os genitores mutantes e selvagens, além da cor do olho, acredita-se também que a mutação possa ter causado uma redução no número de ovos, pupários e adultos. Contudo, a partir do teste qui-quadrado foi obtido a proporção mendeliana para o caráter em questão (1:0 e 0:1), comprovando que os genitores mutantes e selvagens são contrastantes e homozigotos.

Tabela 2 – Número de indivíduos avaliados quanto a cor do olho em populações fixas e segregantes de *Anastrepha fraterculus* do cruzamento recíproco. UDESC-IMEGEM, Lages, SC.

População	Olho Branco		Olho Vermelho		Total	$X^1 W^1$	$X^2 S^1$
	Fêmea	Macho	Fêmea	Macho			
P ₁	246	236	-	-	482	0,20	0,20
P ₂	-	-	675	730	1405	2,19	2,19
F ₁	-	-	381	389	770	0,08	0,08
F ₂	84	91	345	302	822	6	1,57
RC ₁	263	278	220	292	1053	0,79	7,18
RC ₂	-	-	326	347	673	0,65	0,65
RC ₁ '	89	89	77	76	331	1,88	0,003
RC ₂ '	4	4	552	550	1110	0,05	0,05

Fonte: Elaborado pela autora, 2019.

NOTAS: $X^1 W^1$: teste qui-quadrado $\chi^2_{0,001} = 10,83$ para herança da cor do olho, hipótese testada de um gene com dominância completa. $X^2 S^1$: teste qui-quadrado para herança do sexo, hipótese de segregação independente (1:1).

3.5.2 Populações Segregantes

Hibridações dirigidas entre genitores mutantes e selvagens resultaram em diferentes proporções fenotípicas esperadas para o caráter cor do olho nas populações segregantes (Tabela 2).

No cruzamento direto (P₁ x P₂) por exemplo, foi observado na geração F₁, a presença de moscas mutantes, o que não é esperado quando se trata de pais homocigotos contrastantes. Dos 1795 ovos depositados pelas fêmeas em F₁, 598 desenvolveram até a fase de 197 (103 fêmeas/ 94 machos) indivíduos adultos com fenótipo cor de olho vermelho e 63 (41 fêmeas/ 22 machos) indivíduos herdaram cor do olho branco. Ao repetir o experimento com 25 casais acasalados (Afraw x AfraW) novamente observou-se proporções fenotípicas diferentes do que é esperado em F₁. Dos 3240 ovos, 791 se desenvolveram até a fase de e 390 indivíduos (192 fêmeas/ 198 machos) emergiram com o fenótipo cor de olho vermelho e 322 indivíduos (159 fêmeas / 163 machos) com o fenótipo cor de olho branco. A partir destes resultados, não houve a possibilidade de avançar as hibridações dirigidas para a geração F₂. Desta maneira, uma possível explicação para este evento ter ocorrido, seria algum alelo branco tenha permanecido na população selvagem em heterocigose, pois a população fundadora é suficientemente grande.

Em 1933, o pesquisador Tomas Hunt Morgan, realizou cruzamentos diretos e recíprocos com moscas *Drosophila melanogaster* e obteve resultados diferentes quanto a proporção fenotípica para caráter cor de olho entre as moscas do tipo selvagens (olhos vermelhos) e mutantes (olhos brancos). Morgan observou que o cruzamento direto (mutante x selvagem) não seguia as proporções fenotípicas mendelianas, devido a presença de machos mutantes em F₁ e concluiu que se tratava de uma herança ligada ao sexo (GRIFFITHS et al., 2013).

Foi relatada pela primeira vez uma mutação para o caráter cor do corpo, apresentando o corpo amarelo o macho mutante *Drosophila nappae*, pertencente ao grupo *tripunctata*. O macho mutante de corpo amarelo foi isolado e cruzado com fêmeas virgens selvagens que apresentam a cor do corpo castanho, o resultado obtido na geração F₁ foi que todos os descendentes apresentavam o fenótipo cor do corpo castanho. Para a geração F₂, foi observado descendentes fêmeas e machos selvagens com corpo castanho e somente machos mutantes com corpo amarelo, sugerindo uma herança ligada ao cromossomo X, devido ausência de fêmeas mutantes (RAMPASSO; VILELA, 2017).

Resultados obtidos a partir de hibridizações interespecíficas revelaram distorções nas proporções fenotípicas nos cruzamentos recíprocos em experimentos conduzidos em laboratórios, uma vez que, casos como a regra de Haldane, efeito materno e / ou citoplasmático, herança ligada ao sexo ou isolamento pós-zigótico podem ser responsáveis por tais diferenças (JUÁREZ et al., 2015).

Dos Santos et al (2001) em seus experimentos, realizou cruzamentos entre espécies diferentes de *Anastrepha*, tais como, *fraterculus*, *obliqua*, *sororcula* e obteve proporções fenotípicas diferentes relacionadas ao sexo. Quando cruzadas as espécies interespecífica de *A. sororcula* x *A. fraterculus* e *A. obliqua* x *A. sororcula*, foi observado a emergência de fêmeas e machos. Quando cruzado *A. fraterculus* x *A. obliqua* e *A. sororcula* x *A. obliqua*, foi observado somente a presença de fêmeas (viabilidade preferencial ou esterilidade de híbridos heterogaméticos XY) obedecendo claramente a regra de Haldane. Já o cruzamento entre *A. obliqua* x *A. sororcula* e *A. fraterculus* x *A. sororcula*, o número de descendentes foi bem abaixo do esperado devido a incompatibilidade genética, resultando em híbridos estéreis ou inviáveis com pouco tempo de sobrevivência.

Quanto aos resultados do cruzamento recíproco (P₂ x P₁), todos os 770 descendentes apresentaram o fenótipo de olhos vermelhos, revelando dominância completa na geração F₁. Portanto, o genótipo que condiciona o fenótipo vermelho apresenta dominância sobre fenótipo branco na geração F₁, seguindo as leis mendelianas.

Na geração F₂, foi observada uma proporção fenotípica 3:1, ou seja, dos 822 indivíduos, 647 indivíduos apresentaram o fenótipo vermelho e 175 indivíduos o fenótipo branco para a cor do olho. O teste qui-quadrado calculado para a geração F₂ foi no valor $\chi^2_{0,05} = 6$, sendo menor que tabelado $\chi^2_{0,001} = 10,83$, o que indica uma herança fenotípica governada por um gene.

A variação genética observada na geração F₂, depende do tipo de interação alélica envolvida na característica, quando comparado o fenótipo homozigoto com o fenótipo heterozigoto. Em populações segregantes, a variabilidade genética será maior quanto mais divergentes forem seus genitores, tendo a probabilidade de reagrupar os alelos favoráveis para as combinações de interesse em determinada característica (FALCONER, 1981).

As estimativas dos parâmetros genéticos e fenotípicos foram obtidas a partir da geração F₂ apresentando a variância fenotípica (σ_f^2) de 0,052658 a genotípica (σ_g^2) de 0,052558 e efeito ambiental (σ_E^2) de 0,001. A herdabilidade no sentido amplo foi estimada através da proporção da variância genética sobre a variância fenotípica total sendo de 99,81% (h_a^2). Estes resultados, confirmam que esta característica pode ser facilmente transmitida entre gerações e pode capitalizar ganhos com a seleção (BORÉM; MIRANDA, 2013).

Foram realizados os retrocruzamentos (RC₁, RC₂, RC_{1'} e RC_{2'}), a partir do cruzamento recíproco (P₂xP₁). Em delineamentos genéticos clássicos, os retrocruzamentos são ferramentas confirmatórias do tipo de herança envolvida, seja ela monogênica, oligogênica ou poligênica (governada por vários genes).

No RC₁ e RC_{1'} foi possível observar que 50% dos indivíduos possuem fenótipo vermelho e 50% com o fenótipo branco, o que pode concluir uma proporção 1:1 esperado nas leis mendelianas. Com relação aos retrocruzamentos RC₂ e RC_{2'}, foram constatados resultados diferentes do esperado. No RC₂, todos os indivíduos apresentaram o fenótipo vermelho na proporção 1:0. Enquanto no RC_{2'}, foram observados indivíduos mutantes (olhos brancos) com padrão fenotípico diferente do esperado 1:0.

No entanto, os valores encontrados pelo teste qui-quadrado foram abaixo do valor tabelado para ambas as gerações RC₂ e RC_{2'}, aceitando-se a hipótese de nulidade, não houve diferenças significativas entre o número de adultos selvagens e mutantes para as características cor de olho e sexo.

Uma vez estudada a herança genética de uma característica, métodos de melhoramento genético podem ser aplicados para o desenvolvimento de genótipos superiores (RAMALHO et al., 2012). Como exemplo, para a mosca *Ceratitis capitata* foi desenvolvido uma linhagem pela Agência Internacional de Energia Atômica (IAEA/FAO) utilizada na sexagem morfológica de

pupas, (branca fêmea; marrom macho) com sucesso na técnica do inseto estéril (TIE) (AUGUSTINOS et al., 2017).

Os avanços obtidos no campo da genética possibilitaram melhor entendimento na caracterização da ação dos genes envolvidos na herança genética, na evolução, especiação, compreensão do complexo *fraterculus* e de espécies crípticas (SELIVON et al., 2005; GARIOU-PAPALEXIOU et al., 2016). Com isso, estudos com espécies mutantes em laboratórios tem aumentado gradativamente e incentivado novas pesquisas sobre seu potencial evolutivo (ZAPATER; PEREZ-CAMARGO, 2002).

As taxas evolutivas indicam que o caráter cor de olho na mosca mutante *A. fraterculus* revelou herança autossômica recessiva governado por um gene, servindo como marcador genético visível, importante em estudos populacionais evolutivos, tanto em espécies inter ou intraespecífica quanto em espécies da ordem Diptera.

Diante dos resultados obtidos neste experimento, estudos futuros são indicados a serem realizados, como a genotipagem em nível de DNA, que é feita por meio de sequenciamento e marcadores moleculares, os quais de acordo CRUZ et al. (2011) são utilizados com o intuito de interpretar resultados e a proporção de locos em homozigose e heterozigose envolvida para o caráter em questão.

3.6 CONCLUSÃO

A herança genética para o caráter cor do olho foi descrita como herança autossômica recessiva governada por um gene transmitida de forma mendeliana.

4 CAPÍTULO II- CAPACIDADE DE VOO DA VARIANTE MOSCA-DAS-FRUTAS-SUL-AMERICANA *Anastrepha fraterculus* (DIPTERA: TEPHRITIDAE)

4.1 RESUMO

Populações de moscas-das-frutas criadas em laboratório podem desenvolver características fenotípicas e morfológicas indesejáveis para o controle de pragas espécie-específico. Isto se deve aos efeitos provocados pela endogamia, deriva genética e seleção que ocorrem durante o cruzamento de indivíduos aparentados. Tal fato deve ser levado em consideração quando no manejo integrado de pragas, em que moscas-das-frutas são utilizadas na técnica do inseto estéril (TIE), e indivíduos com capacidade de voo superior devem ser selecionados. O objetivo desta pesquisa foi avaliar a frequência fenotípica da capacidade de voo e as características morfológicas ao longo de três gerações de uma população mutante da mosca-das-frutas *Anastrepha fraterculus*. O experimento foi conduzido entre os meses de setembro a dezembro de 2017, no Laboratório de Entomologia na Universidade do Estado de Santa Catarina – UDESC- CAV. O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado com cinco repetições em sala climatizada. Tubos cilíndricos de plástico preto (18cm x 11cm) foram utilizados para realizar a seleção de fenótipos superiores para a capacidade de voo logo após a emergência dos insetos adultos. Foram avaliados o comprimento da asa direita de fêmeas e machos e o número de ovos dos insetos adultos por geração. Os dados foram submetidos a análise de variância por modelos lineares mistos generalizados e quando necessário comparado as médias por Tukey-Kramer ambos ao nível de 5% de significância. Os resultados obtidos para a capacidade de voo ao longo das três gerações não revelou diferenças significativas independentemente do sexo dos insetos. Também não foram identificadas diferenças significativas para o número de ovos ovipositados entre gerações e ao longo dos dias de oviposição. Entretanto, houve diferença significativa no comprimento da asa direita entre fêmeas e machos. Conclui-se que, não foi possível detectar diferença entre as gerações na porcentagem de voo para a mosca mutante *A. fraterculus*, devido à baixa variabilidade genética, sendo esta considerada uma população endogâmica para o caráter em questão. Isto pode ser provocado pelo cruzamento dos mesmos indivíduos ao longo das gerações.

Palavras-chave: *Anastrepha fraterculus*. Endogamia. Mutação. Seleção.

4.2 ABSTRACT

Populations of laboratory-created fruit flies may develop undesirable phenotypic and morphological characteristics for the control of species-specific pests, due to the effects caused by inbreeding, genetic drift and selection that occur during the crossing of related individuals. This fact should be taken into account when integrated pest management, in which fruit flies are used in the sterile insect technique (TIE), and individuals with superior flight capacity should be selected. The goal of this study was to evaluate the phenotypic frequency of flight capacity and morphological traits over three generations of a mutant population of *Anastrepha fraterculus*. The experiment was carried out from September to December 2017 at the Laboratory of Entomology in Santa Catarina State University- UDESC- CAV. The experiment was set up in a completely randomized design with five replications in an air - conditioned

room. Black plastic cylindrical tubes (18cm x 11cm) were used to carry out the selection of superior phenotypes which presented the ability to fly shortly after the emergence of adult insects. Length of the right wing of females and males, number of eggs and weight of adult insects per generation were evaluated. The data were subjected to the analysis of variance by generalized linear mixed models and, when necessary the Tukey-Kramer multiple comparison test at 5% significance was used. The results obtained for the flight capacity test over the three generations did not reveal significant differences regardless of the sex of the insects. Also, no significant differences were identified for the number of eggs ovulated among generations and throughout the days of oviposition. However, there was a significant difference in the length of the right wing between females and males. We can conclude that it was not possible to detect differences among generations related to flight capacity for the *A. fraterculus* mutant fly due to the low genetic variability being considered an endogamic population for the character in question. This can be caused by the crossing of the same individuals over the generations.

Keywords: *Anastrepha fraterculus*. Inbreeding. Mutation. Selection.

4.3 INTRODUÇÃO

A mosca-das-frutas-sul-americana *Anastrepha fraterculus* é considerada uma das principais pragas na fruticultura, principalmente, na região Sul do Brasil que produz maçã, uva, ameixa, goiaba e pêsego (SALLES; KOVALESKI, 1990). Pragas do gênero *Anastrepha* e *Ceratitidis* são consideradas quarentenárias do tipo A₂ e possuem restrições fitossanitárias pelos países importadores. São pragas de importância comercial, devido os danos causados nos frutos, acarretando um prejuízo de 2 bilhões de dólares no mundo (NORBONN, 2004; NORBONN et al., 2004).

Os avanços obtidos nas pesquisas de controle de pragas espécie-específico através do manejo integrado de pragas (MIP), têm sido, principalmente, na implementação da técnica do inseto estéril (TIE) (DIAS; GARCIA, 2014). Esta técnica é ambientalmente segura, eficaz no combate às moscas-das-frutas e pioneira no uso de insetos estéreis, que inicialmente foi concebida especificamente para o controle da mosca do mediterrâneo *C. capitata* (PARANHOS, 2005). No entanto, foram incluídos no TIE, dois novos gêneros de mosca-das-frutas: *Anastrepha* e *Bactrocera* (HENDRICH, 2002; FAO, 2015). Perante a nova inclusão do gênero *Anastrepha*, experimentos foram desenvolvidos para selecionar fenótipos superiores para característica capacidade de voo em uma população de moscas mutantes *A. fraterculus* para o caráter cor do olho branco. Esta população foi obtida inicialmente, através de cruzamentos com moscas selvagens (cor do olho vermelho) da mesma espécie e está sendo criada a mais de 100 gerações pelo laboratório da Embrapa Uva e Vinho Vacaria- RS.

Na literatura, estudos sobre esta nova mosca mutante são praticamente inexistentes. Futuramente, a mosca mutante *A. fraterculus* poderá ser utilizada à campo como marcador genético visível no TIE, caso a mutação não tenha afetado, além da cor do olho características como: *i*) capacidade de voo, *ii*) tamanho das asas e *iii*) número de descendentes (VAN LENTEREN, 2009). Tais características são imprescindíveis para obter sucesso no controle de tefritídeos no momento em que são liberados à campo para o acasalamento (IAEA, 2003).

Em laboratório, diversos tipos de populações são criadas para o controle de insetos-pragas, sejam moscas-das-frutas, parasitoides, inimigos naturais e, estão sujeitos a efeitos indesejáveis na estrutura genética, morfológica, fenotípica, quando se tratam de indivíduos aparentados (DE BORTOLI et al., 2014). Efeitos estes, advindos da domesticação, seleção de genótipos em ambiente com condições abióticas controladas, que por sua vez, ocorre uma redução no processo adaptativo, no tipo de reprodução, com efeito maior em indivíduos diploides (FUTUYMA, 1992, 2005).

As consequências da redução da variabilidade genética em uma colônia criada em laboratório, podem estar relacionadas à deriva genética, seleção (aptidão sexual) e endogamia (CRUZ et al., 2011). Desta maneira, em colônias pequenas, sobre efeito da deriva genética, ocorre o declínio da frequência de heterozigotos e o aumento do coeficiente de endogamia, devido aos cruzamentos entre indivíduos aparentados (HENTER, 2003). Portanto, o conhecimento da variabilidade genética é considerado ferramenta básica e fundamental para o melhorista no processo de seleção em populações para o entendimento de estratégias adaptativas e evolutivas a condições ambientais adversas (DA COSTA et al., 2015).

No melhoramento genético, seja ele de animais ou plantas, busca-se a seleção de fenótipos superiores, que pode ser tanto em indivíduos ou famílias, de modo que, a seleção e a recombinação em nível de indivíduos ou famílias, seja viável, obtendo populações melhoradas (GRANER, 1959; BELTRAME et al., 2012).

O objetivo desta pesquisa foi avaliar a frequência da capacidade de voo e as características reprodutivas e morfológicas de uma população de moscas mutantes *Anastrepha fraterculus*.

4.4 MATERIAL E MÉTODOS

4.4.1 Local do Experimento

O experimento foi conduzido entre os meses de setembro a dezembro de 2017, no Laboratório de Entomologia na Universidade do Estado de Santa Catarina - UDESC no Centro de Ciência Agroveterinárias – CAV localizado em Lages, SC, Brasil (27°45'33.5" S e 50°04'55.1" N).

As pupas para a execução do experimento foram obtidas a partir da colônia existente de moscas mutantes *A. fraterculus* mantida na Embrapa Uva e Vinho, em Vacaria, RS, Brasil (latitude 28° 30' 44" S e longitude 50° 56' 02" N) em sala climatizada (25±1°C, 65±10% UR).

4.4.2 Estabelecimento da População Cor de Olho Branco

Duas fêmeas com os olhos brancos foram encontradas em meio a uma criação de *A. fraterculus* tipo selvagem no ano de 2010 no laboratório da Embrapa Uva e Vinho Vacaria – RS, em sala climatizada (25±1°C, 65±10% UR) com fotofase de 14 horas.

Para estabelecer uma população de olhos brancos, inicialmente foram realizadas hibridações dirigidas com machos de olhos vermelhos. Após obter as progêneses F₁ e F₂ foi realizada a seleção de fêmeas e machos para estabelecer a população de mutantes.

Atualmente a população da mosca mutante é mantida a mais de 100 gerações pelo laboratório da Embrapa Uva e Vinho em Vacaria- RS. População esta, criada com dieta sólida composta por gérmen de trigo, levedo de cerveja (Bionis ® YE MF) e açúcar refinado na proporção de 1:1:3, em condições controladas em sala climatizada (25±1°C, 65±10% UR) com fotofase de 14 horas.

4.4.3 Teste da Capacidade de Voo

Tubos cilíndricos de plástico preto (18cm x 11cm) contendo 25 pupas cada um em seu interior foram utilizados para realizar a seleção de fenótipos superiores para a capacidade de voo logo após a emergência dos insetos adultos. Estes tubos, foram pulverizados em seu interior com talco para que as moscas não tivessem a possibilidade de caminhar pelos tubos, apenas voar. Os tubos foram acondicionados dentro de potes de plástico (30cm x 20 cm)

confeccionados na face superior com um tecido tipo voal, os quais foram colocados de forma invertida sobre os tubos para que as moscas não pudessem sair do recipiente.

Figura 5 - Tubos cilíndricos de plástico preto utilizados para realizar a seleção de fenótipos superiores para a capacidade de voo em condições de laboratório ($25 \pm 2^\circ\text{C}$, UR $60 \pm 10\%$ e fotofase 14 horas), Embrapa Uva e Vinho Vacaria- RS, 2019.



Fonte: Elaborado pela autora, 2019

Logo em seguida, com auxílio de um aspirador entomológico, 25 casais de mosca foram inseridos individualmente no interior de gaiolas de plástico com capacidade 750mL confeccionadas. Dentro da gaiola continhas água destilada e dieta sólida composta por gérmen de trigo, levedo de cerveja (Bionis ® YE MF) e açúcar refinado na proporção de 1:1:3 para alimentação dos adultos.

Figura 6 - Gaiolas de plástico confeccionadas contendo água destilada e dieta sólida composta para realização dos cruzamentos entre mutantes em condições de laboratório ($25 \pm 2^\circ\text{C}$, UR $60 \pm 10\%$ e fotofase 14 horas), Embrapa Uva e Vinho Vacaria- RS, 2019



Fonte: Elaborado pela autora, 2019.

Após oito dias, fêmeas acasaladas ovipositaram no topo da gaiola em placas petri confeccionadas com tecido emborrachado. Foi realizada a contagem de ovos, que em seguida, foram transferidos para a dieta artificial. Após a fase larval, 25 pupas com 14 dias foram colocadas novamente no interior de cada tubo para realizar a seleção dos fenótipos superiores para a próxima geração.

Foi utilizado no experimento o delineamento inteiramente casualizado com 5 repetições por geração.

4.4.4 Caráter Tamanho das Asas

Foram tomadas as medidas do tamanho do comprimento da asa direita (mesotorácicas direitas) de ambos os sexos, pois, os insetos tem simetria bilateral. A medições das asas foram realizadas, cuidadosamente, destacando as asas da base, as quais foram medidas com o auxílio de um paquímetro digital (Digital Caliper 0-150mm/0-6") (Figura 7).

Figura 7 - Tamanho do comprimento da asa direita de fêmeas e machos.



Fonte: Elaborado pela autora, 2019.

4.4.5 Análise Estatística

Os dados foram submetidos a análise de variância por modelos lineares mistos generalizados ajustando-se a distribuição dos erros para beta para o experimento envolvendo a porcentagem de voos por geração e gama para os demais experimentos. A escolha das distribuições foi feita com base no *Akaike information criterion* corrigido (AICc) e pelo melhor atendimento das pressuposições de homogeneidade de variância. Também foram realizadas inspeções gráficas através da análise de diagnóstico por gráficos quantil-quantil e resíduos vs valores preditos. Quando necessário foi realizado a comparação de médias por Tukey-Kramer ao nível de 5% de significância. As análises foram realizadas no software SAS *University Edition 9.4*.

4.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na Tabela 3. Estão apresentados os resultados referentes a análise de variância da capacidade de voo ao longo de três gerações da população mutante de mosca-das-frutas *A. fraterculus*. Verificou-se que, não houve diferença significativa na frequência fenotípica para voo entre as gerações e nem entre os sexos para a capacidade de voo.

Tabela 3 - Análise de variância do caráter capacidade de voo da variante mutante *Anastrepha fraterculus* (Diptera: Tephritidae) considerando a geração e o sexo dos indivíduos e sua interação.

Fonte	NGL	DGL	F valor
Geração	2	24	0,21
Sexo	1	24	0,26
Geração*sexo	2	24	1,35

Fonte: Elaborado pela autora, 2019.

NOTAS: *Significativo a 5% de probabilidade de erro. NGL: Graus de liberdade do numerador. DGL: Graus de liberdade do denominador.

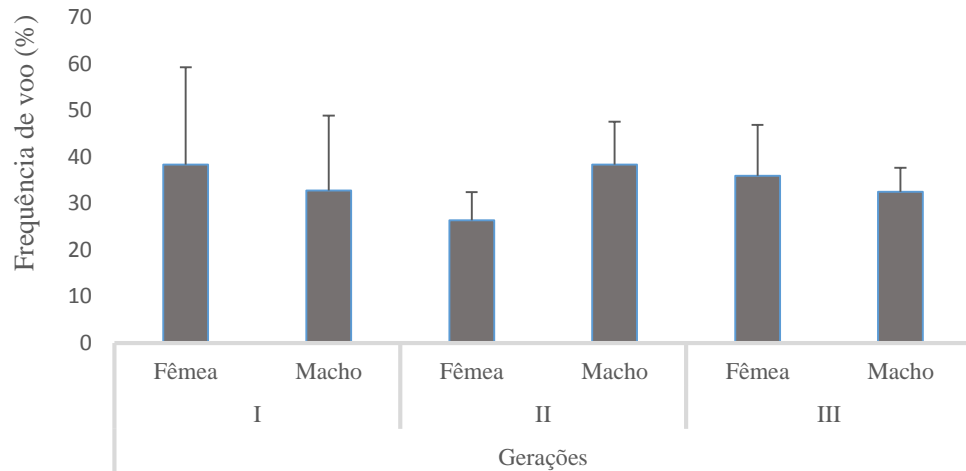
Colônias estabelecidas em laboratórios podem não apresentar variabilidade genética para uma determinada característica em questão, sendo considerado neste aspecto o mecanismo de maior relevância, a endogamia.

A Figura 8. A distribuição das frequências para o caráter capacidade de voo entre fêmeas e machos ao longo das três gerações revela pequena diferença entre indivíduos voadores. Contudo, as maiores frequências observadas foram para a geração I e III, diferenciando apenas da geração II. Na geração I, o total de indivíduos voadores foi de 71,2%, sendo que fêmeas e machos apresentaram frequência de voos em torno de 38,4% e 32,8%, respectivamente. Na geração II, a frequência de voo para fêmea foi de 26,4%, enquanto que o macho apresentou 38,4 % obtendo uma diferença de 12% a mais na capacidade de voo para o macho. No entanto, na geração III, foi possível observar um aumento na porcentagem de voo de 9,6% em relação a geração II para fêmeas que voaram no total 36% não diferenciando dos machos que voaram 35,2% com um total de voo 71,2%, mantendo a média de voo da geração I.

Uma população é considerada endogâmica quanto maior for o grau de parentesco entre indivíduos reprodutores, uma vez que, o que foi herdado foram genes idênticos cópias do mesmo alelo de ambos os pais por descendência, sendo estes aparentados (DE BORTOLI et al., 2014). Acasalamentos endogâmicos ocorrem entre indivíduos aparentados, como entre irmãos, pais e filhos, de modo que, a endogamia está relacionada a quantidade de ancestrais em comum compartilhados entre esses indivíduos endogâmicos (TREVISAN, 2014).

A endogamia leva ao aumento da homozigose, formando linhas puras, exibindo uma frequência mais alta de alelos recessivos homozigotos, que por sua vez, podem apresentar características indesejáveis, de modo que, a porcentagem de heterozigotos diminui em 50% a cada geração (RAMALHO et al., 2012).

Figura 8 - Distribuição de frequência da capacidade de voo de fêmeas e machos mutantes de *Anastrepha fraterculus* (Wied, 1830) (Diptera: Tephritidae) em condições de laboratório ($25 \pm 2^\circ\text{C}$, UR de $60 \pm 10\%$ e fotofase de 14 horas).



Fonte: Elaborado pela autora, 2019.

Estimativa dos valores genéticos podem serem feitas através do desempenho de indivíduos com base em seu próprio desempenho e de seus irmãos (VAN DEN BERG et al., 2015). No presente trabalho verificou-se que, não houve diferença significativa entre o número de ovos ovipositados entre gerações e dias de avaliação da mosca mutante *A. fraterculus* (Tabela 4).

Tabela 4 – Análise de variância do número de ovos ovipositados entre as gerações de fêmeas mutantes de *Anastrepha fraterculus* ao longo dos dias.

Efeito	NGL	DGL	F valor
Geração	1	175	3,61
Dias	7	175	1,17
Geração*Dias	7	175	2,07

Fonte: Elaborado pela autora, 2019.

NOTAS: *Significativo a 5% de probabilidade de erro. NGL: Graus de liberdade do numerador. DGL: Graus de liberdade do denominador.

Porém, neste experimento foi possível observar que nem todas as fêmeas acasaladas ovipositaram todos os dias (Tabela 5), das vinte e cinco fêmeas da geração I, seis não ovipositaram, uma ovipositou somente uma vez, duas fêmeas ovipositaram duas vezes e apenas quatro fêmeas ovipositaram ao longo dos oito dias.

Para a geração II, das vinte e cinco fêmeas, cinco não ovipositaram, duas ovipositaram somente uma vez e três fêmeas só ovipositaram ao longo dos oito dias. Os restantes das fêmeas oscilaram nos dias de oviposição.

Tabela 5 - Oviposição ao longo de oito dias por fêmeas mutantes de *Anastrepha fraterculus* em placas de petri confeccionadas com tecido emborrachado em condições de laboratório (25 ± 2 °C UR de 60 ± 10 % e 14 h de fotofase).

Geração	Total (vinte e cinco fêmeas)	Oviposição (dias)
I	6	0
	1	1
	2	2
	4	8
II	5	0
	2	1
	3	8

Fonte: Elaborado pela autora, 2019.

Portanto, as consequências da endogamia em populações formadas por linhagens em laboratório criadas em massa, estão sujeitas ao declínio drástico na fecundidade e viabilidade, bem como, a morfologia dos indivíduos, caso novos indivíduos selvagens não sejam introduzidos para aumentar a variabilidade genética (DUTTON; BIGLER, 1995; FUTUYMA, 1992, 2005).

Contudo, um dos maiores desafios em insetos criados em massa, é detectar a perda da variabilidade genética no controle de qualidade, pois, esta perda pode comprometer a eficácia deste agente biológico no campo (TREVISAN et al., 2016).

Portanto, em programas de melhoramento genético, busca-se a seleção de indivíduos superiores por meio da existência da variabilidade genética, que pode ser obtida através de hibridações (recombinações gênicas), acesso a banco de germoplasma, processo de transgenia e pelo mecanismo evolutivo das espécies, único capaz de criar a variabilidade genética, a mutação (CRUZ et al., 2011). A mutação é um dos processos que causa variabilidade genética, as quais são herdáveis, causam alterações nas sequências de bases nitrogenadas do DNA, aumentam a frequência de alterações na constituição genética do indivíduo, dando origem a um novo fenótipo (TEMPLETON, 2011).

Para a característica tamanho do comprimento da asa direita, houve diferenças significativas entre os sexos, razão pela qual, as fêmeas apresentaram dimensões maiores que as dos machos, confirmando o dimorfismo sexual observado em diversas espécies (SELIVON et al., 2004) (Tabela 6). Tanto o formato quanto o tamanho podem quantificar as variações nas estruturas morfométricas e tem sido utilizada para estudo de evolução, seleção sexual e na sistemática do meio (DALY, 1985).

Tabela 6 - Análise de variância do tamanho do comprimento da asa direita de fêmeas e machos da mosca mutante *Anastrepha fraterculus* (Diptera: Tephritidae).

Fonte	NGL	DGL	F valor
Geração	1	36	0,12
Sexo	1	36	18,8*
Geração*sexo	1	36	1,20

Fonte: Elaborado pela autora, 2019.

NOTAS: *Significativo a 5% de probabilidade de erro. NGL: Graus de liberdade do numerador. DGL: Graus de liberdade do denominador.

Além do aprimoramento nas técnicas de seleção é de extrema importância que a seleção feita seja eficiente para a capacidade voo no momento em que é liberado à campo para o acasalamento (GARDNER; LENTEREN, 1986, VAN LENTEREN, 2009).

O TIE, é um método utilizado no manejo integrado de pragas (MIP) e tem sido uma ferramenta promissora, com o objetivo de reduzir ou eliminar populações de insetos pragas, número de aplicações de inseticidas, adquirindo alimentos mais saudáveis e livres de agroquímicos (VREYSEN, 2006; DIAS; GARCIA, 2014).

4.6 CONCLUSÃO

1. Não houve diferença significativa nas distribuições da frequência fenotípica para o caráter capacidade de voo entre as gerações para a mosca mutante *Anastrepha fraterculus*.

2. Não houve diferença significativa entre o número de ovos ovipositados por fêmeas entre gerações.

3. Houve diferença significativa no tamanho da asa direita entre fêmeas e machos.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A mosca-das-frutas-sul-americana *Anastrepha fraterculus* é considerada uma praga em potencial na fruticultura, principalmente na região Sul do país. Embora o controle seja feito de forma tradicional, com o uso expressivo de inseticidas, alternativas de manejo tem sido implementadas no controle desses insetos pragas, como a técnica do inseto estéril (TIE).

No entanto, para que seja possível o controle de forma eficaz, é de extrema importância entender, o comportamento genético, sexual e a bioecologia destes insetos praga. O comportamento genético de uma determinada característica irá depender do comportamento sexual de cada espécie reprodutora.

O comportamento de corte de machos de *A. fraterculus*, antes da cópula, é feito através de movimentos de cortejo com suas asas com uma formação típica da estratégia de lek para atrair fêmeas de *A. fraterculus*. As fêmeas por opção, escolhem o macho que tiver melhores características morfológicas e comportamentais como capacidade de voo, uma vez que, a opção de escolha, pode ajudar a entender a base do isolamento reprodutivo e quantificar as variações nas estruturas morfométricas (ALMEIDA et al., 2013). Desta maneira, o conhecimento sobre as estruturas reprodutivas e morfométricas podem ajudar a projetar métodos de controle mais eficazes baseados (TIE), pois, não há informação sobre a distribuição e o número exato de moscas mutantes *A. fraterculus* para caráter cor de olho no Brasil e no mundo. Esta mosca mutante para a cor do olho *A. fraterculus* será utilizada como um marcador fenotípico à campo no (TIE), com o propósito de substituir machos estéreis selvagens antes marcados com pó fluorescente, liberados e recapturados à campo.

Estes experimentos são pioneiros tanto na área de Genética quanto de Entomologia agrícola, pois, não havia sido realizado estudos antes sobre a herança da cor olho e capacidade de voo para a espécie mutante *A. fraterculus*. É um marco inicial e abertura para novos experimentos futuros que devem ser realizados para caracterizar esta mutante a *A. fraterculus*, através das análises genéticas com o uso de marcadores microssatélites específicos, os quais irão contribuir para um melhor entendimento da estrutura genética, padrões de dispersão e distribuição de variantes genéticas.

Estes marcadores moleculares podem ajudar na identificação das espécies dentro do complexo *fraterculus*, de modo que, estes marcadores são úteis na exploração da variabilidade genética em populações selvagens e fornecem protocolos de controle de qualidade para fábricas de criações artificiais de insetos-pragas.

Porém, machos criados em laboratórios podem apresentar características indesejáveis, no momento da competição com machos selvagens e acasalamento com fêmeas selvagens na natureza, devido à deriva genética e a seleção artificial. Por este motivo, é necessário realizar testes de capacidade voo para determinar a qualidade dos machos que serão liberados à campo. Em populações pequenas, a base genética torna-se restrita, havendo um declínio do fluxo gênico, aumento da homozigose, levando a endogamia para uma determinada característica em questão.

A adoção das proporções mendelianas clássicas foi elemento na interpretação da herança genética do caráter cor de olho da mosca mutante *Anastrepha fraterculus* por meio de cruzamentos entre P₁, P₂, F₁, F₂, RC₁, RC₂, RC₁' e RC₂', foi definida herança autossômica recessiva governada por um gene.

O estudo da herança de caracteres qualitativos baseia-se nas leis mendelianas, proporções fenotípicas e genotípicas da geração F₁, F₂ e os retrocruzamentos. Mendel definiu a natureza básica do gene, o que se herda do genitor para a progênie são novas combinações de genes que segregam de forma independente e recombinam aleatoriamente de uma geração para outra quando não ligados.

REFERÊNCIAS

- AGUIAR, A. V.; MOURA, N. F.; MOURA, M. F.; ZUCCHI, M. I.; VENCOVSKY, R.; CHAVES, L. J. Relação entre a variação genética de caracteres quantitativos e marcadores moleculares em subpopulações de Cagaiteira (*Eugenia dysenterica* DC). **Revista Brasileira Fruticultura**, Jaboticabal, v. 33, n. 1, p. 157-169, 2011.
- ALMEIDA, L. M. D.; ROCHA, L. L.; SOUZA, M. L. D.; MENDES, N. H. D.; SOUZA, M. G. A. D. Escolha de parceiros sexuais em *Anastrepha zenilidae* (Zucchi, 1979, Diptera: Tephritidae): papel dos caracteres morfológicos. **Biotemas**, v.26, n. 2, p. 113-120, 2013.
- ANUÁRIO BRASILEIRO DA FRUTICULTURA, 2018. Santa Cruz do Sul: Gazeta, 2018.
- AZEVEDO, F. R. et al. Incremento do controle biológico natural de moscas das frutas (Diptera: Tephritidae) em pomar de goiaba com valas. **Revista Científica Eletrônica de Agronomia**, Garça, v. 23, n. 1, p. 46 – 55, 2013.
- AUGUSTINOS, A. A.; TARGOVSKA, T.; CANCIO-MARTINEZ, E.; SCHORN, E.; FRANZ, G.; CÁCERES, C.; ZACHAROPOULOU, A.; BOURTZIS, K. *Ceratitidis capitata* genetic sexing strains: laboratory evaluation of strains from mass-rearing facilities worldwide. Special Issue: **Special Issue - Sterile Insect Technique**. Volume 164, Issue 3 Pages 305–317, 2017.
- BARR, N. B.; CUI, L.; McPHERON B. A. Molecular systematics of nuclear gene *period* in genus *Anastrepha* (Tephritidae). **Ann. Entomol. Soc. Am.** v. 98, n.3, p. 173-180, 2005.
- BERNADO, R. Breeding for quantitative traits in plants. **Woodbury**: Stemma Press, p.141, 2002.
- BELTRAME, R.; BISOGNIN, D. A.; MATTOS, B. D.; CARGNELUTTI FILHO, A.; HASELEIN, C. R.; GATTO, D. A.; SANTOS, G. A. Desempenho silvicultural e seleção precoce de clones de híbridos de eucalipto. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 47, n. 6, p. 791- 796, 2012.
- BOMFIM, D. A.; GISLOTI, L. J.; UCHÔA, M. A. Fruit Flies and Lance Flies (Diptera: Tephritoidea) and Their Host Plants in a Conservation Unit of the Cerrado Biome in Tocantins, Brazil. **Florida Entomologist**, v. 97, n. 3, 2014.
- BORÉM, A.; MIRANDA, G. V. **Melhoramento de plantas**. Viçosa: UFV, p. 525. 2005.
- BORÉM, A.; MIRANDA, G. V. **Melhoramento de plantas**. Viçosa: UFV, p. 99. 2013.
- BICKFORD, D.; LOHMAN, D. J.; SODHI, N. S.; SODJI, P. K. L.; MEIER, R.; WINKER, K.; INGRAM, K. K.; DAS, I. Cryptic species as a window on diversity and conservation. **Trends in ecology and evolution**, v. 22, n. 3, p.148-155, 2007.
- BROCK-CLUTTON, T. Sexual selection in females. **Animal Behaviour**, v.77, p. 3- 11, 2009.

BOTTON, M.; HICKEL, E. R.; SORIA, S. J. Pragas. In: FAJARDO, T. V. M. (Ed.). **Uva para processamento: fitossanidade**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, p. 82- 105, 2003.

BRITO DA COSTA, R.; DEON VILELA DE RESENDE, M.; DE SOUZA GONÇALVES, P.; CHICHORRO, J. F.; RODRIGUES ROA, R. A. Variabilidade genética e seleção para caracteres de crescimento da seringueira. **Bragantia**, v.67, n.2, 2008.

CARDLE, L.; RAMSAY, L.; MILBOURNE, D.; MACAULAY, M.; MARSHALL, D.; WAUGH, R. Computation and experimental characterization of physically clustered simple sequence repeats in plants. **Genetics**, v.15, n.6, p. 847-854, 2000.

CARNEIRO, P. L. S.; MALHADO, C. H. M.; EUCLYDES, R. F.; TORRES, R. A.; LOPES, P. S.; CARNEIRO, A. P. S.; CUNHA, E. E. Oscilação genética em populações submetidas a métodos de seleção tradicionais e associados a marcadores moleculares. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.35, n.1, p.84-91, 2006.

CARNEIRO, M. S.; VIEIRA, M. L. Mapas genéticos em plantas. **Bragantia**, v.61, n.2, 2002.

CARRANZA, J. **Sexual selection and evolution of evolutionary theories**. 2009. p. 1-2

CARVALHO, R. S.; NASCIMENTO, A. S.; MATRANGOLO, W. J. R. Controle Biológico In: **Moscas-das-frutas de Importância Econômica no Brasil Conhecimento Básico e Aplicado**. Malavasi, A. e Zucchi, R. A. Holos, Ribeirão Preto. p. 113-117, 2000.

CACH, N. T.; PEREZ, J. I.; LENIS, F.; CALLE, N. M.; CEBALLOS, H. Epistasis in the expression of revelant traits in Cassava (*Manihot esculenta* Carantz) fort Subhumid Conditions. **Journal of Heredity**, London, v.96, n.5, p. 586-592, 2005.

CLADERA, J. L.; VILARDI, J. C. JURI, M.; PAULIN, L. E.; GIARDINI, M. C.; CENDRA, P. V. G.; SEGURA, D. F.; LANZAVECCHIA, S.B. Genetics and biology of *Anastrepha fraterculus*: research supporting the use of the sterile insect technique (SIT) to control this pest in Argentina. **BMC Genetics** 15(Suppl 2): S12, 2014.

COYNE, J. A. Genetics and speciation. **Nature**, v. 15, p. 355-511, 1992.

CRESONI-PEREIRA, C.; ZUCOLOTO, F. S. The presence of the sexual partner and nutritional condition alter the *Anastrepha obliqua* MacQuart (Diptera: Tephritidae) Protein Discrimination Threshold. **Neotropical Entomology**, v.34, n.6, p. 895-902, 2005.

CRUZ, C. D.; REGAZZI, A. J.; CARNEIRO, P. C. S. **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético**. 3. ed. Viçosa, MG: UFV,2004. 480 p.

CRUZ, C.D. **Programa Genes: Diversidade Genética**. Viçosa, MG: UFV, 2008. 278 p.

CRUZ, C.D.; FERREIRA, F.M.; PESSONI, L.A. **Biometria aplicada ao estudo da diversidade genética**. Visconde do Rio Branco-MG, Suprema, p. 620, 2011.

- CHAKRABORTY, R.; STIVERS, D. N. SU, B. ZHONG, Y.; BUDOWLE, B. The utility of short tandem repeat loci beyond human identification: Implications for development of new DNA typing systems. **Electrophoresis** v.20, p. 1682-1696, 1999.
- CHEVERUD, J. M.; ROUTMAN, E. J. Epistasis and contribution to genetic variance components. **Genetic**, Pittsburg, v. 139, p. 1455-1461, 1995.
- DALY, H. V. Insect morphometrics. **Annual Review of Entomology**, Palo Alto, v. 30, p. 415-438, 1985.
- DA COSTA, R. B.; MARTINEZ, D. T.; DA SILVA, J. C.; ALMEIDA, B. C. Variabilidade e ganhos genéticos com diferentes métodos de seleção em progênies de *Eucalyptus camaldulensis*. **Revista de Ciências Agrárias/Amazonian Journal of Agricultural and Environmental Sciences**, v.58, n.1, p. 69-74, 2015.
- DE BORTOLI, S. A.; FERREIRA, R. J.; DE BORTOLI, C. P.; DE MAGALHÃES, G. O.; DIBELLI, W. Frequência fenotípica de asas e olhos ao longo de gerações em populações de laboratório de *Chrysoperla externa* (Neuroptera: Chrysopidae). **Revista Caatinga**, v.2, n.3, 2014.
- DIAS, N. P; GARCIA, F.R.M. **Fundamentos da técnica do inseto estéril (TIE) para o controle de moscas-das-frutas (Diptera, Tephritidae)**. Divulgação técnica. Biológico, São Paulo, v.76, n.1, p.58-62, 2014.
- DOS SANTOS, P.; URAMOTO, K.; MATIOLI, S. R "Experimental hybridization among *Anastrepha* species (Diptera: Tephritidae): production and morphological characterization of F1 hybrids." *Annals of the Entomological Society of*, Dos Santos, P., 2014.
- DUTTON, A.; BIGLER, F. Flight activity assessment of the egg parasitoid *Trichogramma brassicae* (Hym: Trichogrammatidae) in laboratory and field conditions. **Entomophaga**, v.40, n. 2, p.223-233, 1995.
- EBERHART, S. A.; RUSSEL, W. A. Stability parametrs for comparing varieties. **Crop Science**, v. 6, 1966.
- FALCONE, D. S.; MACKAY, T. F. **Introduction to quantative genetics**. London: longman, 1996. 464 p.
- FALCONER, D.S. The problem of environment and selection. **American Nature**, v.86, n.830, p.293-298, 1952.
- FAO. **Perspectivas Agrícolas no Brasil: desafios da agricultura brasileira 2015-2024**. Disponível em: <<http://www.fao.org.br/download/PA20142015CB.pdf>> Acesso em: 08 mai, 2018.
- FALCONER, D.S. **Introdução a genética quantitativa**. Tradução M. A. Falconer e J. C. Silva. Viçosa, MG: UFV, 1981. 279 p.
- FERREIRA, M. E.; GRATTAPAGLIA, D. **Introdução ao Uso de Marcadores moleculares em Análise Genética**. 2ed., Brasília: EMBRAPA-CENARGEN. p .220, 1995.

FUTUYMA, D. J. **Biologia evolutiva**. 2 ed. Ribeirao Preto, Sociedade Brasileira de Genética / CNPq, 1992.

FUTUYMA, D. J. **Evolution**. Sunderland, Sinauer Associates Inc. p.543, 2005.

FREEMAN, G. H. Statistical methods for the analysis of genotype-environment interactions. **Heredity**, v. 31, n.3, p. 339-354, 1973.

FRITZ, A. H. Sequence analysis nuclear rDNA of *Anastrepha suspensa*. **Entomological Society of America**, v. 99, n.2. p. 369-373, 2006.

GALLO, D. et al. **Entomologia agrícola**. Piracicaba, FEALQ, 920 p. 2002.

GARIOU-PAPALEXIOU, A.; GIARDINI, M. C.; AUGUSTINOS, A. A; DROSOPOULOU, E; LANZAVECCHIA, S. B.; CLADERA, J.L.; CACERES, C.; BOURTZIS, K.; MAVRAGANI-TSIPIDOU, P. ZACHAROPOULOU, A. Cytogenetic analysis of the south american fruit fly *Anastrepha fraterculus* (Diptera:Tephritidae) species complex: construction of detailed photographic polytene chromosome maps of the argentinian af.sp.1 member. **PLOS ONE**, 2016.

GUERRA, M. **Citogenética Geral**. Editora Guanabara, Rio de Janeiro, 1996.

GRANER, E. A. **Elementos de genética**: Bases para o melhoramento de plantas e animais. São Paulo, 1959.

GRIFFITHS, A. J. F.; WESSLER, S.; CARROLL, S. B.; DOEBLEY, J. **Introdução à genética**. Tradução Idilia Vanzellotti. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2013.

HARTL, D. L.; CLARK, A. G. **Princípios de genética de populações**. Tradução: Laura Roberta Pinto Utz, Maria Regina Borges-Osório, Nelson Jurandi Rosa Fagundes: consultoria, supervisão e revisão técnica desta edição: Eduardo Eizirik, 4. ed. Porto Alegre: Artmed, 2010.

HARRIS, A. F. et al. Successful suppression of a field mosquito population by sustained release of engineered male mosquitoes. **National Biotechnology**, v. 30, n. 9, p. 828-830, 2012.

HATEY, F.; TOSSER-KLOPP, G.; CLOUSCARD-MARTINATO, C.; MULSANT, P.; GASSER, F. Expressed sequence tags genes: a review. **Genet. Sel. Evol**, v.30, p. 521-541, 1998.

HALLAUER, A.R.; MIRANDA FILHO, J.B. **Quantitative genetics in maize breeding**. Ames: Iowa State University Press, p .468, 1991.

HENDRICHS, J.; ROBINSON, A.S.; CAYOL, J.P.; ERKENLIN, W. Medfly areawide sterile insect technique programmes for prevention, suppression or eradication: the importance of mating behavior studies. **Florida Entomologist**, v.85, n.1, p.1-13, 2002.

HERNÁNDEZ-ORTIZ, V.; GÓMEZ-ANAYA, J. A.; SANCHEZ, A.; McPHERON, B. A.; ALUJA, M. Morphometric analysis of Mexican and South American populations of the

- Anastrepha fraterculus* complex (Diptera: Tephritidae) and recognition of a distinct Mexican morphotype. **Bulletin of Entomological Research**, v. 94, n.6, p. 487-499, 2004.
- HECHT, M.K.; WALLACE, B.; PRANCE, G. T. Evolutionary biology. **Plenum Press**, NY, v. 21, p. 434, 1987.
- HENTER, H. J. Inbreeding depression and hapodiploidy: experimental measures in a parasitoid and comparisons across diploid and hapodiploid insect taxa. **Evolution**, Oxford, v. 57, n. 8, p. 1793-1803, 2003.
- IAEA/FAO/USDA. **Manual for Product Quality Control and Shipping Procedures for Sterile Mass Reared Tephritid Fruit Flies, Version 5.0**. Vienna: International Atomic Energy Agency, p. 85, 2003.
- JUÁREZ, M. L.; DEVESCOVI, F; BŘÍZOVÁ, R.; BACHMANN, G.; SEGURA, D. F. KALINOVÁ, B.; FERNÁNDEZ, P.; RUIZ, M. J.; YANG, J.; TEAL, P. E.A.; CACERES, C.; VREYSEN, M. J. B.; HENDRICH, J.; TERESA VERA. M. Evaluating mating compatibility within fruit fly cryptic species complexes and the potential role of sex pheromones in pre-mating isolation. **Zookeys**, n. 540, p. 125-155, 2015.
- KALINOWSKI, S.T.; TAPER, M.L.; MARSHALL, T.C. Revising how the computer program CERVUS accommodates genotyping error increases success in paternity assignment. **Molecular Ecology**, Oxford, v. 16, p.1099-1106, 2007.
- KLUG, W. S.; CUMMINGS, M. R.; SPENCER, C.A.; PALLADINO, M. A. **Conceitos de genética**. Tradução Maria Regina Borges Osório, Rivo Fischer. Dados eletrônicos. Porto Alegre: Artmed, 2010.
- KNIPLING, E. Possibilities of insect control or eradication through use of sexually sterile males. **Journal of Economic Entomology**, v. 48, p. 459-462, 1955.
- KOVALESKI, A.; SUGAYAMA, R.; URAMOTO, K.; MALAVASI, A. Rio Grande do Sul. In: MALAVASI, A.; ZUCCHI, R. A. (Ed). **Moscas-das-frutas de importância econômica no Brasil: conhecimento básico e aplicado**. Ribeirão Preto: Holos, p. 135-141, 2000.
- LANZAVECCHIA, S.B.L; JURI, M.; , BONOMI, A.; GOMULSKI, L.; SCANNAPIECO, A.C.; SEGURA, D.F.; MALACRIDA, A.; CLADERA, J.; GASPERI, G. Microsatellite markers from the 'South American fruit fly' *Anastrepha fraterculus*: a valuable tool for population genetic analysis and SIT applications. **BMC Genetic**, 2014.
- LIU, S-H; YAO, J.; YAO, H-W.; JIANG, P-L.; YANG, B-J.; TANG, J. Biological and biochemical characterization of a red-eye mutant in *Nilaparvata lugens* (Hemiptera: Delphacidae). **Insect Science**, n. 21, p. 469-476, 2014
- MACHOTA JUNIOR, R.et al. Fungi that cause rot in bunches of grape identified in adult fruit flies (*Anastrepha fraterculus*) (Diptera: Tephritidae). **Chilean Journal of Agricultural Research**, v. 73, n.2, 2013.

- MALAVASI, A.; ZUCCHI, R. A.; SUGAYAMA, R. L. Biogeografia. In: MALAVASI, A.; ZUCCHI, R. A. (Ed.). **Moscas-das-frutas de importância econômica no Brasil: conhecimento básico e aplicado**. Ribeirão Preto: Holos, p. 93, 2000.
- MÂNICA DA CRUZ, I. B. et al. Morfologia do Aparelho Reprodutor e Biologia do Desenvolvimento. In: MALAVASI, A.; ZUCCHI, R. A. (Ed.). **Moscas-das-frutas de importância econômica no Brasil: conhecimento básico e aplicado**. Ribeirão Preto: Holos, p. 55-66, 2000.
- MANNI, M.; LIMA, K. M.; GUGLIELMINO, C.R.; LANZAVECCHIA, S. B.; JURI, M.; VERA, T.; CLADERA, J.; SCOLARI, F.; GOMULSKI, L.; BONNIZONI, M.; GASPERI, G.; SILVA, J. G.; MALACRIDA, A. R. Relevant genetic differentiation among Brazilian populations of *Anastrepha fraterculus* (Diptera, Tephritidae). **ZooKeys** 540: 157-173, 2015.
- MATHER, K.; JINKS, J. L. Introdução a Genética Biométrica. Francisco A. Moura Duarte et al. (Tradução). Ribeirão Preto : **Sociedade Brasileira de genética**, 1984.
- MENDES, L. O. T. Observações citológicas em “moscas-das-frutas”. **Bragantia**, v.17, p. 29-39, 1958.
- MONTEIRO, L. B.; DE MIO, L. L. M.; MOTTA, A. C. V., SERRAT, B. M.; CUQUEL, F. L. Avaliação de atrativos alimentares utilizados no monitoramento de mosca-das-frutas em pessegueiro na Lapa- PR. *Revista Brasileira de Fruticultura*, v. 29, n.1, 2007.
- NEI, M. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. **Genetics**, Austin, v. 89, n.3, p. 583–590, 1978.
- MORELLI, R. et al. New protein sources in adults diet for mass-rearing of *Anastrepha fraterculus* (Diptera: Tephritidae). **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 55, n.6, p. 827-833, 2012.
- NAVA, D. E; BOTTON, M. Bioecologia e controle de *Anastrepha fraterculus* e *Ceratitidis capitata* em pessegueiro. **Embrapa Clima Temperado**, Pelotas, p. 29, 2010.
- NORRBOM, A. L.; ZUCCHI, R. A.; HERNÁNDEZ-ORTIZ. Phylogeny of the genera *Anastrepha* and *Toxotrypana* (Trypetinae: Toxotrypanini) based on morphology. In: Fruit flies (Tephritidae): phylogeny and evolution of behavior, Aluja M.; NORRBOM, A. L. (eds) **CRC Press**, Boca Ratón, florida. 299-342, 2004.
- NORRBOM, A. L. **Fruit fly (Diptera: Tephritidae) classification and diversity**. 2004. Disponível em: <http://www.sel.barc.usda.gov/diptera/tephriti/tephclas.htm> Acesso: 27 nov, 2018.
- NUNES, G.H.S.; RESENDE, G.D.S.P.; RAMALHO, M.A.P.; SANTOS, J. B. Implicações da interação genótipos x ambientes na seleção de clones de eucalipto. **Cerne**, v.8, n.1, p. 49- 58, 2002.
- OLIVEIRA, G. C. **Variações no gene *yolk* em moscas-das-frutas do grupo *fraterculus***. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de São Carlos, 2009.

OLIVEIRA, S. L.; OLIVEIRA, D. C.; CAPURRO, M. L. Mosquito transgênico: do paper para a realidade Transgenic mosquito: from paper to reality. **Revista da Biologia** p. 38-43, 2011.

PARANHOS, B.A.J. Técnica do Inseto Estéril e Controle Biológico: métodos ambientalmente seguros e eficazes no combate às moscas-das-frutas. In: **Simpósio De Manga Do Vale Do São Francisco**. Petrolina, Resumos, p. 12, 2005.

PEREIRA, E. J. **Teorias e métodos em melhoramento animal**: II Seleção. Pirassununga, p.207, 2014.

PHUC, K. H. et al. Late-acting dominant lethal genetic systems and mosquito control. **BMC Biology**, v. 5, p. 1-11, 2007.

QUERINO, R. B. et al. Fruit fly (Diptera: Tephritidae) community in guava orchards and Adjacent Fragments of native vegetation in Brazil. **Florida Entomologist**, v. 97, n. 2, 2014.

RAMALHO, M.A.P. et al. **Genética na agropecuária**. Lavras: UFLA. 5 ed, p. 566, 2012.

RAMPASSO, A. S.; VILELA, C. R. A spontaneous body color mutation in *Drosophila nappae* (Diptera, Drosophilidae). **Revista Brasileira de Entomologia**, v.6, n. 2, p. 111-113, 2017.

RIBEIRO, R. M. **Wolbachia e Incompatibilidade Citoplasmática em *Anastrepha sp.1 aff. fraterculus* e *A. obliqua* (Diptera: Tephritidae)**. Dissertação de Mestrado. Departamento de Biologia, Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, São Paulo, SP, 2009.

RIDLEY, M. **Evolution**. 3 ed. Porto Alegre: Artmed, p. 752, 2006.

RITCHIE, M. G. Sexual selection and speciation. **Annual Review of Ecology, Evolution and Systematics**, v.39, p. 82-87, 2007.

ROUGHGARDEN, J.; AKÇAY, E. Final responde: sexual selection need an alternative. **Animal Behaviour**, p. 1-6, 2010.

SALLES, L. A. B.; KOVALESKI, A. Mosca-das-frutas em macieira e pessegueiro no Rio Grande do Sul. Hortisul, v.1. p.5-9, 1990.

SALLES, L. A. B. **Bioecologia e controle da mosca-das-frutas sul-americana**. Pelotas: Embrapa – CPACT, p. 58, 1995.

SAUL, S. H.; McCOMBS, S. D. Light eye color mutants as genetic markers for released populations of Hawaiian fruit flies (Diptera: Tephritidae). **Journal of Economic Entomology**, v.4, p. 1240-1245, 1992.

SELIVON D., PERONDINI, A. L. P. Eggshell morphology in two cryptic species of *Anastrepha fraterculus* (Diptera: Tephritidae). **Ann. Entomol. Soc.** v. 91, p. 473-478, 1998.

SELIVON, D.; VRETOS, C.; FONTES, L.; PERONDINI, A. L. P. New variant forms in the *Anastrepha fraterculus* complex, Proc. 6th **International Fruit Flies Symposium**, 6-10 May, Stellenbosh, South Africa, B. Barnes (ed), Isteg Scientific Publications, Irene, Africa do Sul, p. 253-258, 2004.

SELIVON, D.; PERONDINI, A. L. P.; MORGANTE, J. S. a genetic-morphological characterization of two cryptic species of the *Anastrepha fraterculus* complex (Diptera, Tephritidae). **Ann. Entomol. Soc. Am.** v. 98, n.3, p. 367-381, 2005.

SILVA, J. G. et al. Diversity of *Anastrepha* ssp. (Diptera: Tephritidae) and Braconid Parasitoids from native and exotic hosts in Southeastern Bahia, Brazil. **Entomological Society of America**, 2010.

SUGAYAMA, R. L. et al. Oviposition behavior of *Anastrepha fraterculus* in apple and diel pattern of activities in an apple orchard in Brazil. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v. 83, p. 239-245, 1997.

SCHLOTTERER, C. The evolution of molecular markers-just a matter of fashion? **Nature Reviews, Genetics**, v.5, 2004.

SHUSTER, I. **Estatística genômica aplicada a populações derivadas de cruzamentos controlados**. Ivan Schuster, Cosme Damião Cruz, 2 ed. rev. –Viçosa- MG, UFV, 2008.

SMITH-CALDAS, M. R. B.; McPHERON, B. A.; SILVA, J. G.; ZUCCHI, R. A. Phylogenetic relationships among species of the *fraterculus* group *Anastrepha* (Diptera: Tephritidae) inferred from DNA sequences of mitochondrial cytochrome oxidase I. **Neotropical Entomology**, v.30, p. 565-573, 2001.

SHUKER, D. V. Sexual selection: endless forms or tangled bank? **Animal Behaviour**, p. 1-7, 2009.

STAHL, F. W. Os mecanismos da herança; tradução de Lídia Rosenberg. **Aratagy**. São Paulo, Ed Polígono, p. 242, 1970.

TEMPLETON, A. R. **Genética de populações e teoria microevolutivas**. Traduzido por Reinaldo Alves de Brito. Ribeirão Preto, S: Sociedade Brasileira de Genética- SBG, p. 705, 2011.

TREVISAN, M. **Efeito da endogamia em *Cotesia flavipes* (Cameron, 1891) (Hymenoptera: Braconidae) criada em *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794) (Lepidoptera: Crambidae) ao longo de gerações**. 2014. 72 f. Dissertação (Mestrado em Entomologia Agrícola) - FCAV-UNESP, Jaboticabal, 2014.

TREVISAN1, M.; DE BORTOLI, S. A.; VACARI, A. M.; VALÉRIA L. LAURENTIS, V. L.; RAMALHO, D. G. Quality of the Exotic Parasitoid *Cotesia flavipes* (Hymenoptera: Braconidae) Does Not Show Deleterious Effects after Inbreeding for 10 Generations. **Plos One**, p. 1-15, 2016.

- VASCONCELO, S. S. **Uma investigação: EST's (Expressed Sequence Tags) podem ser usados no desenvolvimento de marcadores moleculares baseados em íntrons?** Dissertação da Universidade Católica de Brasília, 2003.
- VAN DEN BERG, G. J. VERRYN, S. D.; CHIRWA, P. W.; VAN DEVENTER, F. Genetic parameters of interspecific hybrids of *Eucalyptus grandis* and *E. urophylla* seedlings and cuttings. **Silvae Genetica**, v. 64, n. 1-6, p. 291-308, 2015.
- VREYSEN, M. J.B.; HENDRICH, J.; ENKERLIN, W. R. A técnica do inseto estéril a um componente do sustentável área-wide protecção integrada de selecionados hortícolas pragas de insetos. **Research Journal of Fruit e Plantas Ornamentais**, v. 14, 2006.
- XUE, P.; ZHAO, X.; QIN, M.; SHI, Z.; ZHANG, M.; GU, W. Transcriptome Analysis of Male *Drosophila melanogaster* Exposed to Ethylparaben Using Digital Gene Expression Profiling. **Journal of Insect Science**, v. 17(4), n.87, p. 1-9, 2017.
- ZART, M.; BOTTON, M.; FERNANDES, O. A. Injúrias causadas por mosca-da-fruta sul-americana em cultivares de videira. **Bragantia**, Campinas, v. 70, n. 1, p.64-71, 2011.
- ZAPATER, M. C.; PEREZ-CAMARGO, G. A method for chromosome location of new autosomal recessive mutations of *Ceratitis capitata* (Wiedemann) (Diptera: Tephritidae) based on crosses with three strains bearing autosomal-Y translocations. **Neotropical Entomology**, v.31, n.1, p. 63-66, 2002.
- ZEPEDA-CISNEROS, C.S.; MEZA, J.S.; GÁLVEZ, S.; IBAÑEZ, J.; ROBINSON, A. S. Inheritance and linkage studies on eye color mutations in *Anastrepha ludens* (Diptera: Tephritidae). **Entomological Society of America**, p. 96-99, 2010.
- ZIMMER, P.; OLIVEIRA, A. C.; MALONE, G. **Ferramentas da biotecnologia no melhoramento vegetal**. Pelotas: Editora Gráfica Universitária –UFPEL, 2005.
- ZUCCHI, R. A.; ARAUJO, E.L.; CANAL D., N. A.; UCHOA F., M. A. La mosca Sudamericana de las frutas, *Anastrepha fraterculus* (WIEDEMANN) em el Brasil. In: **The South American fruit fly *Anastrepha fraterculus* (Wied); advances in artificial rearing, taxonomic status and biological studies**, IAEA, Vienna,1998.
- ZUCCHI, R. Importância econômica. In: MALAVASI, A.; ZUCCHI, R. A. (Ed). **Moscas-das-frutas de importância econômica no Brasil: conhecimento básico e aplicado**. Ribeirão Preto: Holos, p. 135-141, 2000.
- ZUCCHI, T. A. Diversidad distribución y hospederos del género *Anastrepha* em Brasil. In: **Mosca de la fruta em latinoamérica (Diptera: Tephritidae); diversidad, biología y manejo**; Hernandez-Ortiz v. (ED) Sy G. editores Distrito Federal, v.77, n.1. 2007.
- ZUCCHI, R. A. **Fruit flies in Brazil - *Anastrepha* species and their hosts plants**. 2008. Disponível em: www.lea.esalq.usp.br/anastrepha/. Acesso: 13/08/2018.
- ZUCOLOTO, S. Alimentação e Nutrição de Moscas-das-frutas. In: MALAVASI, A.; ZUCCHI, R. A. (Ed). **Moscas-das-frutas de importância econômica no Brasil: conhecimento básico e aplicado**. Ribeirão Preto: Holos, p. 81-86, 2000.

WERREN, J.H. Biology of Wolbachia. Annual Review. **Entomology**, v. 42, p. 587– 609, 1997.

YAMADA, S.M.; SELIVON, D. *Rose* an eye color mutation in a species of the *Anastrepha fraterculus* complex (Diptera:Tephritidae). **Annal of the entomological society of américa**, 2001.

WU, C. I. Genes and speciation. **Journal of Evolutionary Biology** .v.14, p. 889-891, 2001.