

MARCELO MACHADO PROENÇA

**CARACTERIZAÇÃO DA VARIAÇÃO EM POPULAÇÕES DE *Anastrepha fraterculus*
INDUZIDO POR RAIOS GAMA ORIUNDO DE CO⁶⁰.**

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

Orientador: Dr. Jefferson Luís Meirelles Coimbra

**LAGES, SC
2019**

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

Proença, Marcelo Machado

Caracterização da variação em populações de *Anastrepha fraterculus* induzido por raios gama oriundo de Co60 / Marcelo Machado Proença. -- 2019.

91 p.

Orientador: Jefferson Luís Meirelles Coimbra

Coorientador: Adalécio Kovalski

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

1. *Anastrepha fraterculus*. 2. Manejo integrado de pragas. 3. Técnica do Inseto estéril. I. Coimbra, Jefferson Luís Meirelles. II. Kovalski, Adalécio. III. Universidade do Estado de Santa Catarina, Centro de Ciências Agroveterinárias, Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal. IV. Título.

MARCELO MACHADO PROENÇA

**CARACTERIZAÇÃO DA VARIAÇÃO EM POPULAÇÕES DE *Anastrepha fraterculus*
INDUZIDO POR RAIOS GAMA ORIUNDO DE Co⁶⁰.**

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 Luis Meirelles Coimbra.

Universidade do Estado de Santa Catarina.

Membro interno: _____

Dr. Altamir Frederico Guidolin.

Universidade do Estado de Santa Catarina.

Membro externo: _____

Denise Schmidt

Dra. Denise Schmidt.

Universidade Federal de Santa Maria

Membro externo: _____

Janaína Pereira dos Santos

Dra. Janaína Pereira dos Santos.

EPAGRI - Estação Experimental de Caçador-SC.

Membro externo: _____

Braulio Caron

Dr. Braulio Otomar Caron.

Universidade Federal de Santa Maria

Lages - SC, 08 de fevereiro de 2019

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus, por me iluminar nos momentos mais difíceis da minha caminhada, mostrando sempre um novo caminho, uma nova solução. Muito obrigado Deus pelo dom da vida.

Ao meu orientador, professor Dr. Jefferson Meirelles Coimbra, por acreditar e apoiar e principalmente pela paciência desde o início, pela seriedade e amizade.

A minha esposa Claudia Maria Lopes da Silva e meus filhos Gabriel, Camile e Gustavo pelo incondicional apoio, carinho e compreensão, em todos os nossos momentos.

Aos meus pais Amilton e Regina pelo apoio total durante mais uma etapa da minha vida.

Ao professor Dr. Altamir Frederico Guidolin e ao pesquisador Dr. Adalécio Kovaleski, pelos ensinamentos e contribuição na coorientação deste trabalho.

A EMBRAPA por ceder o laboratório e material para execução dos experimentos e em especial aos Srs. Claudio de Andrade Barros e Clovis Vanin de Mello.

Agradecimento especial à Coordenação do Programa de Bolsas Universitárias de Santa Catarina UNIEDU/FUMDES (gerido pela Secretaria de Estado da Educação), pela concessão da bolsa de doutorado.

À Universidade do Estado de Santa Catarina e ao Centro de Ciências Agroveterinárias, pela oportunidade de realização do doutorado. Aos professores do Doutorado em Produção Vegetal, pelos ensinamentos transmitidos.

Enfim, agradeço a todos que de alguma forma fizeram parte da minha vida acadêmica, ajudando para a minha formação pessoal e profissional.

RESUMO

PROENÇA, MARCELO MACHADO. **Caracterização da variação em populações de *Anastrepha fraterculus* induzido por raios gama oriundo de Co⁶⁰**. 2019, 74 p. Tese de doutorado em Produção Vegetal da Universidade do Estado de Santa Catarina – Centro de Ciências Agroveterinárias, Lages, 2019.

A mosca-das-frutas sul-americana *Anastrepha fraterculus* (DIPTERA: *TEPHRITIDAE*) é a principal praga das frutíferas de clima temperado. Cerca de 2% da produção de maçãs no Brasil é perdida devido ao seu ataque. Devido a isto está sendo construída uma Biofábrica para criação e liberação de machos estereis (TIE) na região de Vacaria – RS, e pela necessidade de utilização de métodos de controle ecologicamente corretos. Para a aplicação da TIE é necessário a esterilização através de radioesterilização e, ao mesmo tempo, esta radioesterilização não devem alterar o comportamento do inseto e nem as qualidades biológicas para o seu sucesso em campo. O primeiro experimento teve como objetivo diferenciar quatro populações de moscas das frutas (população nativa, população mutante e seus dois cruzamentos recíprocos macho nativo com fêmea mutante e macho mutante com fêmea nativa) através do estudo do ciclo biológico. O segundo experimento teve como objetivo analisar o tempo de acasalamento, latência, número de ovos, porcentagem de eclosão de ovos e índice de isolamento reprodutivo (ISI) de *A. fraterculus*, irradiadas com doses de 40 Gy (Mastrangelo et al, 2018). Os experimentos foram desenvolvidos nos anos de 2017 e 2018 na Estação Experimental da Embrapa Uva e Vinho, em Vacaria-RS. No primeiro experimento as comparações biológicas foram conduzidas utilizando-se diferentes quantidades de casais de cada população, as quantidades destes foram estimadas em função da média por casal, os quais, foram individualizados em gaiolas, com idade entre 1 e 2 dias, onde foram avaliados os caracteres biológicos. No segundo experimento a fonte de radiação gama foi um irradiador de Co-60 (Gammabeam-650) localizado Laboratório de Radioentomologia do CENA/USP. Os pupários foram irradiados 48 horas antes da emergência. Logo após a emergência os adultos foram separados pelo sexo e alimentados. No dia anterior ao teste foram identificados com tinta. Os testes foram realizados sob condições de semi campo. Em cada gaiola foram avaliados 50 casais de cada população a ser analisada. Os resultados do primeiro experimento foram os seguintes, a população mutante apresentou maior longevidade do que a nativa e macho nativo com fêmea mutante, e não se diferiu do macho mutante com fêmea nativa, quanto à fecundidade somente a população macho nativo com fêmea mutante diferiu da macho mutante com fêmea nativa. No caráter de dias de pré-oviposição a população nativa (8,09) não diferiu da macho mutante com fêmea nativa (8,14), e a população mutante (12,00) não diferiu da macho nativo com fêmea mutante (12,30), demonstrando que esta característica pode se ter o efeito materno ou herança extracromossômica. Não ocorreu diferença na fecundidade diárias das fêmeas. A porcentagem de eclosão foi de 8 a 15% maior para a população macho nativo com fêmea mutante, diferindo-se das outras populações. O número de dias da fase larval e período ovo-larva a população mutante foi a que apresentou menores valores, com isto verificou-se a possibilidade de utilização da população mutante como produção de larvas para utilização em criação de parasitoides, diminuindo o tempo de produção das larvas e custo. A razão sexual foi a menor na população mutante com valor de 0,3714, e as outras populações apresentaram valores entre 0,4348 e 0,5466. No segundo experimento a duração da cópula da população nativa irradiada e não irradiada aumentou com o aumento da idade das moscas. A dose de radiação de 40 Gy não foi 100% efetiva na esterilização das moscas, mas ocorreu redução na

quantidade de ovos e na percentagem de eclosão dos mesmos. A população mutante irradiada e não irradiada não produziu ovos, com exceção no cruzamento entre a nativa não irradiada vs mutante irradiada. O ISI (Índice de Isolamento Reprodutivo) apresentou valores próximos a 1,0 quando os cruzamentos foram entre nativa irradiada ou não com mutante irradiada ou não, demonstrando baixa compatibilidade sexual (isolamento reprodutivo) entre as duas populações. Como conclusão do primeiro experimento temos mutante com maior longevidade, maior período de pré-oviposição, menor número de dias da fase larval e período ovo-larva, baixa razão sexual, diminuindo assim a quantidade de fêmeas a serem irradiadas em um processo na biofabrica com a técnica do inseto estéril. No segundo experimento concluímos que a população mutante demonstrou pouca e nenhuma atividade de cópula nos experimentos nas gaiolas, demonstrando sua baixa competição, não podendo ser usada na TIE. A população nativa não possui compatibilidade sexual com a população mutante.

Palavras chave: *Anastrepha fraterculus*. Manejo integrado de pragas. Técnica do Inseto estéril (TIE).

ABSTRACT

PROENÇA, MARCELO MACHADO. **Characterization of the variation in populations of *Anastrepha fraterculus* induced by gamma rays originating from Co⁶⁰** 2019, 74 p. Doctoral Thesis on Plant Production of Vegetal Universidade do Estado de Santa Catarina – Centro de Ciências Agroveterinárias, Lages, 2018.

Anastrepha fraterculus (DIPTERA: TEPHRITIDAE) is a pest of the fruit of the temperate climate. About 2% of apple production in Brazil is lost due to its attack. For this reason, a biofábrica of creation and liberation of sterile males (TIE) in the region of Vacaria - RS is being set up, due to the use of ecologically correct methods of control. For a TIE application it is necessary to sterilize by radio-sterilization and, at the same time, this radio-sterilization should not be altered for the behavior of the insect and also as biological for its success in the field. The present work had as objective to differentiate the populations of fruit flies (mutant and mutant with the native mother) through the study of the biological cycle. The second experiment had the objective of evaluating mating time, latency, number of eggs, egg hatching percentage and *A. fraterculus* reproductive isolation index (ISI), irradiated with doses of 40 Gy (Mastrangelo et al, 2018) . The experiments were carried out in the years 2017 and 2018 at the Experimental Station of Embrapa grape and wine, in Vacaria-RS. In the first experiment the biological comparisons were conducted using the paired-order variables of each population, and the increases were estimated as a function of the paired mean, in which they were individualized in cages, aged between 1 and 2 days , where the biological characters were evaluated. In the second experiment, the radiation source was a Co-60 irradiator (Gammabeam-650) located at the CENA / USP Radioentomology Laboratory. The puparia were irradiated 48 hours before the emergency. Soon after the adults were separated by sex and fed. The day before the test were identified with ink. The testes were performed under semi-field conditions. In each cage were evaluated 50 pairs of each population to be analyzed. The results of the first experiment were as follows, a mutant seeking greater longevity than a native and male with a mutant, and did not differ from the mutant male to a female, a fecundity with a native male with a female other than male. mutant with native female. In the pre-oviposition days character the native (8.09) is not different from mutant male with native female (8.14), and mutant population (12.00) is not different from natural male with mutant female (12.30), demonstrating that this competence may be maternal or extrachromosomal inheritance. Difference in females' daily fecundity. The percentage of hatching was 8 to 15% higher for the male population with mutant, different from the other species. The number of days of the larval phase and the egg-larval difference to the mutant population was a smaller data than values, with this it was verified a possibility of using the mutant population as larvae production for the use in the creation of parasitoids, larval production time and cost. The sex ratio was lower and the value of 0.3714, as well as will be more suitable between 0.4348 and 0.5466. In the second experiment the duration of copula of the irradiated and non-irradiated native population increased with the increase of the age of the flies. The radiation dose of 40 Gy was not 100% effective in sterilizing the flies, but a reduction in the amount of eggs and the percentage of hatching thereof. The irradiated and non-irradiated mutant population did not produce eggs, with the exception of no linkage between the non-irradiated native and the irradiated mutant. The ISI (Reproductive Isolation Index) showed the following values: 1 in which the crosses were inserted in irradiated or non irradiated irradiated mutant, showing low sexual (as reproductive) compatibility between the two populations. As the conclusion of the first experiment has a longer longevity, a longer period of pre-oviposition, a lower number of days in the larval phase and the egg-larva, a lower sex ratio, thus decreasing a

quantity of irradiated females in a biophilic process with a technique of the sterile insect. In the second experiment we concluded that the population did not demonstrate any copulation activity in the experiments in the cages, demonstrating their low competition, and could not be used in the SIT. The native population does not have sexual compatibility with the mutant population.

Keywords: *Anastrepha fraterculus*. Integrated pest management. Sterile Insect Technique (SIT).

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Recipientes utilizados no experimento de comparação de casais.....	41
Figura 2 - Coloração dos olhos das moscas, A) Nativa; B) Mutante.	60
Figura 3 - Organograma dos cruzamentos para obtenção da população mutante.	61
Figura 4 - Irradiador Gammabeam 650 do CENA/USP.....	62
Figura 5 - Gaiola para teste, localizada na estação experimental da EMBRAPA UVA E VINHO – Vacaria - RS.....	64

LISTA DE TABELAS

Tabela 01: Longevidade média das fêmeas (acima da diagonal) e do número total de ovos por fêmea (abaixo da diagonal) das diferentes populações de <i>A. fraterculus</i>	44
Tabela 02: Valor médio do número de dias do período de pré-oviposição (acima da diagonal) e período de oviposição (abaixo da diagonal) das diferentes populações de <i>A. fraterculus</i> (DIPTERA: TEPHRITIDAE).	46
Tabela 03 Valores médios do número de ovos por dia de oviposição (acima da diagonal) e razão sexual (abaixo da diagonal) das diferentes populações de <i>A. fraterculus</i> . (DIPTERA: TEPHRITIDAE).....	48
Tabela 04: Número médio de dias de incubação dos ovos (acima da diagonal) e porcentagem de eclosão dos ovos – viabilidade dos ovos (abaixo da diagonal) das diferentes populações de <i>A. fraterculus</i> (DIPTERA: TEPHRITIDAE).....	50
Tabela 05: Número médio de dias da fase larval (acima da diagonal) e de número de dias do período ovo – larva (abaixo da diagonal) das diferentes populações de <i>A. fraterculus</i> (DIPTERA: TEPHRITIDAE).....	52
Tabela 06: Número médio de dias de pupas (acima da diagonal) e de número de dias do período ovo - adulto (abaixo da diagonal) das diferentes populações de <i>A. fraterculus</i> (DIPTERA: TEPHRITIDAE).....	53
Tabela 07: Média da viabilidade de pupaL nas quatro populações de <i>A. fraterculus</i> (DIPTERA: TEPHRITIDAE).....	54
Tabela 08: Fenótipos das F1 das populações macho nativo com fêmea mutante e macho mutante com fêmea nativa de mosca das frutas <i>A. fraterculus</i> (DIPTERA: TEPHRITIDAE).....	55
Tabela 09: Valores médios de latência (tempo para o primeiro acasalamento), em diferentes cruzamentos de <i>A. fraterculus</i> (DIPTERA: TEPHRITIDAE).....	67
Tabela 10: Valores das médias de latência (tempo para o primeiro acasalamento) e duração de cópula média (número de casais) para as diferentes configurações de cruzamentos entre as populações de <i>A. fraterculus</i> (DIPTERA: TEPHRITIDAE) testadas.	68
Tabela 11: Aumento na duração da cópula nos cruzamentos homótipos de nativa irradiada (I – I) e homótipos de nativa não irradiada (N – N) com o aumento da idade das moscas.	69
Tabela 12: Valores médios de duração da cópula em minutos dos diferentes cruzamentos.	70
Tabela 13: Número médio de ovos por dia por gaiola nos diferentes cruzamentos.	71

Tabela 14: Porcentagem média de eclosão dos ovos nos diferentes cruzamentos..... 72

Tabela 15: Compatibilidade sexual de populações de *A. fraterculus* (DIPTERA: TEPHRITIDAE), verificadas pelas cópulas obtidas e avaliada através dos índices de performance de acasalamento. 74

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO GERAL	17
2 HIPÓTESES	19
3 OBJETIVOS	21
3.1 GERAL.....	21
3.2 ESPECÍFICOS	21
4 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	23
4.1 MOSCAS-DAS-FRUTAS SUL AMERICANA: <i>ANASTREPHA FRATERCULUS</i> (WIED., 1830) (DIPTERA: <i>TEPHRITIDAE</i>)	23
4.2 DISTRIBUIÇÃO	23
4.3 BIOECOLOGIA.....	24
4.4 COMPORTAMENTO.....	24
4.5 IMPORTÂNCIA ECONÔMICA, DANOS E PREFERÊNCIA DE HOSPEDEIROS.....	26
4.6 MONITORAMENTO E CONTROLE.....	29
4.7 TÉCNICA DO INSETO ESTÉRIL.....	31
4.8 CASOS DE SUCESSO DE TIE.....	33
5 CAPÍTULO 1: DIFERENCIAÇÃO GÊNÉTICA DE POPULAÇÕES DE <i>ANASTREPHA FRATERCULUS</i> (WIED., 1830) (DIPTERA: <i>TEPHRITIDAE</i>)	37
5.1 RESUMO	37
5.2 INTRODUÇÃO.....	38
5.3 MATERIAL E MÉTODOS.....	39
5.3.1 Localização do experimento	39
5.3.2 Populações avaliadas	39
5.3.3 Comparações biológicas	40
5.3.4 Metodologia utilizada	41
5.3.4.1 Fase de ovo.....	41
5.3.4.2 Fase larval e pupal.....	42
5.3.4.3 Adultos emergidos	42
5.3.5 Segregação fenotípica	42
5.3.6 Análise estatística	43
5.4 RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	43
5.4.1 Longevidade da fêmea e número total de ovos por fêmea	43
5.4.2 Pré-oviposição e período de oviposição	45
5.4.3 Número de ovos por dia de oviposição (fecundidade diária) e razão sexual	47
5.4.4 Período de incubação e porcentagem de eclosão dos ovos	49
5.4.5 Número de dias da fase larval e período ovo-larva	51
5.4.6 Número de dias de pupa e período ovo-adulto	52
5.4.7 Viabilidade pupal	54
5.4.8 Segregação fenotípica	54
5.5 CONCLUSÕES	55
6 CAPÍTULO 2: POPULAÇÕES MUTAGÊNICAS EM <i>ANASTREPHA FRATERCULUS</i> (DIPTERA: <i>TEPHRITIDAE</i>) CARACTERIZADAS QUANTO AO ACASALAMENTO E A FERTILIDADE.	57
6.1 RESUMO	57

6.2 INTRODUÇÃO	58
6.3 MATERIAL E MÉTODOS	59
6.3.1 Localização do experimento	59
6.3.2 Populações avaliadas.....	59
6.3.2.1 <i>Fonte de radiação</i>	61
6.3.2.2 <i>Efeito da irradiação sobre a fertilidade</i>	61
6.3.3 Testes nas gaiolas de semi-campo	63
6.3.4 Índices de performance de acasalamento	64
6.3.5 Análise estatística	65
6.4 RESULTADOS E DISCUSSÕES	65
6.4.1 Latência para o primeiro acasalamento e duração de cópula	65
6.4.2 Número de ovos por dia (fecundidade) e porcentagem de eclosão dos ovos.....	70
6.4.3 Índices de performance de acasalamento	72
6.5 CONCLUSÕES	75
7. CONSIDERAÇÕES FINAIS	77
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	79

1 INTRODUÇÃO GERAL

A Região Sul é a principal produtora de frutas de clima temperado, sendo a cultura da macieira a que mais cresceu nos últimos anos a região sul responde por 99,4 % da área plantada. Em 1974 o Brasil tinha 174 ha e na safra 2014 segundo o IBGE teve uma área plantada de 37.562 há.

A mosca-das-frutas sul-americana *Anastrepha fraterculus* é a principal praga das frutíferas de clima temperado o que corresponde a 95 a 97% dos indivíduos capturados em armadilhas nos pomares (SALLES, 1991). Nas demais regiões sua importância decresce em função da ocorrência de outras espécies (MALAVASI et al., 2000). Atualmente, cerca de 2% da produção de maçãs no Brasil é perdida devido ao ataque de *A. fraterculus* (TAUFER et al., 2000). Além dos danos diretos que reduzem a quantidade e a qualidade dos frutos, a presença do inseto dificulta a exportação devido as restrições quarentenárias impostas pelos países importadores. Também tem se observado uma associação direta na incidência de fungos fitopatogênicos associados ao ataque do inseto, o que amplia as perdas na produção nos diferentes cultivos (TAUFER et al., 2000).

O controle químico com inseticidas inibe o desenvolvimento larval, mas não impede a colocação dos ovos nas frutas(punctura) (KOVALESKI, 1995). Os inseticidas mais eficientes são os fosforados, mas nos últimos anos os países importadores de frutas reduziram os níveis aceitáveis de resíduos na maçã, sendo assim, os produtores aumentam os períodos de carência dos inseticidas para a colheita diminuindo a possibilidade dos resíduos acima dos LMR's (Limites Máximos de Resíduos).

Já na produção orgânica, o manejo de pragas é realizado através do controle biológico, ensacamento e com a utilização de produtos naturais para controle das pragas.

A utilização de parasitóides das moscas-das-frutas também é uma alternativa promissora e data do início do século XX (GINGRICH, 1993). Normalmente, os parasitoides coletados com maior frequência no Brasil são Braconidae (CANAL & ZUCCHI, 2000). Cruz et al (2011) registraram *Doryctobracon areolatus* (Szepligeti) (Braconidae), *Opius bellus* Gahan (Braconidae), *Aganaspis pelleranoi* (Bréthes) (Figitidae) e pela primeira vez a ocorrência de *Trichopria anastrephae* no Rio Grande do Sul em frutos de goiaba (*Psidium guajava* L.).

Em estudo feito por SANTOS & GUIMARÃES (2018) verificaram o parasitismo de *Aganaspis nordlanderi*, *A. pelleranoi* (Figitidae: Eucoilinae), *Doryctobracon brasiliensis* e *D. areolatus* (Braconidae: Opiinae), e o primeiro registro da espécie *A. nordlanderi* em Santa Catarina.

O parasitismo usualmente é inferior a 50% e nenhuma espécie de mosca-das-frutas foi, até então, completamente controlada através deste método clássico. Embora seja certo que inimigos naturais tenham papel importante na regulação da população de moscas-das-frutas, há restrições que limitam a capacidade de manterem a população do inseto praga abaixo de níveis desejáveis (GILSTRAP & HART, 1987).

Outra alternativa dentro do controle biológico está na técnica do inseto estéril (TIE), a qual, consiste na liberação de insetos estéreis no ambiente para competirem no processo de acasalamento com os selvagens, resultando em uma redução populacional gradativa a cada geração. (WALDER, 2000).

A TIE é uma técnica recomendada para programas de erradicação ou supressão populacional, nos últimos anos tem sido aplicada como uma alternativa de controle em substituição aos métodos convencionais. Entre os métodos de esterilização a irradiação ionizante é a mais utilizada (Co^{60} e Cs^{137}) ou de Raios X (WALDER, 2000, MASTRANGELO, 2008), sendo que nos últimos anos a segunda alternativa está sendo a mais estudada.

A utilização da TIE é bastante promissora e envolve a multiplicação massiva da praga em uma biofábrica, com a criação, esterilização e liberação dos insetos estéreis na natureza, para que a cópula com indivíduos selvagens resulte em insetos inférteis ou até sem descendência, diminuindo a reprodução e aumento da população ou até a erradicação da praga, quando feitas liberações constantes (MORELLI DE ANDRADE, 2008).

2 HIPÓTESES

- Existe compatibilidade no acasalamento das moscas nativas com a mutante.
- A mosca-das-frutas mutante não possui diferença nas características biológicas da mosca selvagem, com exceção na coloração dos olhos.
- A mosca-das-frutas mutante tem atividade comportamental diferente da mosca selvagem.
- A radiação proporciona esterilidade, mas diminui a atividade do inseto

3 OBJETIVOS

3.1 GERAL

Avaliar as características biológicas de duas populações e a herdabilidade destas características nas próximas gerações.

3.2 ESPECÍFICOS

- i) Avaliar a compatibilidade de cruzamento entre a mosca-das-frutas nativa e a mutante;
- ii) Avaliar a similaridade biológica entre a população de mosca-das-frutas nativa e mutante e das F1 resultante de seus cruzamentos recíprocos.
- iii) Através da radiação obter macho estéril de olho claro com agressividade suficiente para competir com o macho selvagem.

4 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

4.1 MOSCAS-DAS-FRUTAS SUL AMERICANA: *ANASTREPHA FRATERCULUS* (WIED., 1830) (DIPTERA: *TEPHRITIDAE*)

As moscas-das-frutas pertencem à ordem DIPTERA à subordem Brachycera, série Schizophora e à família TEPHRITIDAE (ZUCCHI, 2000). As espécies pertencentes a essa família são cosmopolitas, no entanto com distribuição limitada pelas condições climáticas e pela disponibilidade de hospedeiros.

O gênero *Anastrepha* é o maior dentro da família TEPHRITIDAE (Trypetinae, Toxotrypanini) (NORRBOM, 2001), com 197 espécies reconhecidas atualmente, sendo que 94 destas se encontram no Brasil (ZUCCHI, 2008).

Anastrepha fraterculus é uma espécie polífaga e a sua distribuição geográfica está relacionada a ocorrência de frutos hospedeiros nativos (MORGANTE, 1991; SELIVON, 2000; CARVALHO, 2006) que propiciam condições de sobrevivência durante todo o ano, além de contribuir para a ocorrência de gerações superpostas (sucessão hospedeira) (VELOSO et al., 2000), dificultando o seu controle.

Os adultos da mosca-das-frutas sul-americana possuem corpo de coloração amarela com asas transparentes, apresentando duas manchas características, uma em forma de “S” na parte central e uma em “V” invertido no ápice. Os adultos medem cerca de 7 mm de comprimento e 16 mm de envergadura. Normalmente, as fêmeas são maiores que os machos e diferem desses por possuírem, no final do abdômen, o ovipositor. A deposição dos ovos é realizada sob a epiderme em número de um a dois por postura. Estes são de coloração branca e alongada. As moscas-das-frutas são insetos de metamorfose completa passando pelos estádios de ovo, larva, pupa e adulto (NAVA & BOTTON, 2010).

4.2 DISTRIBUIÇÃO

A mosca-das-frutas sul-americana é de origem Neotropical, ocorrendo do Sul dos EUA (Texas), no México, na América Central e em toda a América do Sul, exceto no Chile, onde ocorre esporadicamente ao Norte do deserto de Atacama na fronteira com o Peru (MALAVASI et al., 2000).

No Brasil é praga importante para as culturas do pêssegueiro (*Prunus persica* L.), ameixeira (*P. domestica* L.), macieira (*Malus domestica* Borkh), pereira (*Pyrus communis* L.), citros (*Citrus spp.*), goiabeira (*Psidium guajava* L.), entre outras fruteiras (SALLES & KOVALESKI, 1990; KOVALESKI, 1997; NORA et al., 2000). No Rio Grande do Sul e em Santa Catarina, *A. fraterculus* é a espécie predominante, sendo que para o RS a mesma representa cerca de 95% e em SC 98% dos indivíduos de *Anastrepha* capturados em armadilhas nos pomares (SALLES; KOVALESKI, 1990). No Brasil, o gênero *Anastrepha* foi observado em todos os Estados, embora não haja registros publicados para alguns deles (MALAVASI et al., 2000).

4.3 BIOECOLOGIA

O ciclo biológico das moscas-das-frutas começa com a oviposição através da punctura feita pela fêmea na epiderme do fruto. Posteriormente com a eclosão dos ovos, as larvas se desenvolvem no interior dos frutos, muitas vezes causando o apodrecimento da polpa e a queda do mesmo, o que vai depender do hospedeiro atacado. Após completar o desenvolvimento larval, e este período de desenvolvimento varia conforme a espécie e as condições de ambiente, a larva sai do fruto e se enterra no solo para empupar. Após o período pupal emerge o adulto, reiniciando o ciclo (DUARTE; MALAVASI, 2000).

A biologia da *A. fraterculus* a 25°C é a seguinte : período de pré-oviposição de 7 a 14 dias; oviposição até os 46-62 dias; a fecundidade pode chegar a 40 ovos/fêmea/dia, com média de 25,2 ovos/fêmea/dia (uma fêmea pode chegar a colocar 979 ovos durante a vida); período de incubação variando entre 1 e 3 dias; desenvolvimento larval de 12-14 dias; período pupal de 11 a 21 dias. Em temperaturas entre 5 e 45°C o desenvolvimento ocorre somente na faixa de 15-30°C (MACHADO et al., 1995; MARTINS, 1986; SALLES 1993; SALLES, 2000).

4.4 COMPORTAMENTO

As moscas-das-frutas são insetos que desenvolvem as suas diversas atividades de maneira ordenada e rítmica. As moscas se alimentam de néctar de flores, exsudações de plantas e água livre, entre outros. Frutos machucados ou com aberturas na casca, são fontes constantes para sua alimentação. De acordo com Salles, (2000) as moscas-das-frutas necessitam ingerir alimentos ricos

em proteína para completar o desenvolvimento dos ovários no período de 7 a 30 dias após a emergência tornando-se assim aptas ao acasalamento.

Uma das principais atividades dos adultos são seus movimentos de deslocamento. Acredita-se que existam dois tipos básicos de movimentos: os dispersivos, aqueles que a mosca-das-frutas faz na procura da planta hospedeira e os não dispersivos, em que permanecem na área com o hospedeiro, até quando tiver frutos. A faixa de temperatura em que *A. fraterculus* tem plena condição para realizar o conjunto de movimentos que determinam o seu comportamento, situa-se entre 18 e 27°C, sendo que, entre 22 e 26°C há maior atividade. *A. fraterculus* voa pelo menos até 10 metros de altura. As maiores capturas, que possivelmente revelam a altura de maior concentração de voo, ocorreram entre 4 e 6 metros, em cerejeira do mato, guabirobeira e nêspereira (SALLES, 1995), indicando que a atividade de voo está relacionada, em última análise, a área da planta com frutos infestados. Adultos de moscas-das-frutas podem voar até 10 km de distância com auxílio de correntes de vento (PARANHOS et al, 2013).

As atividades de reprodução são restritas ao período matinal, fato que possivelmente explica por que a mosca-das-frutas não voa tanto durante este período (SALLES, 1993a). O acasalamento ocorre quase que exclusivamente entre às 7 e 9 horas da manhã. Selivon, (2000) verificaram que os acasalamentos ocorreram das 7 às 13 horas sendo que a maioria dos acasalamentos ocorreram no início da manhã. A cópula é longa, durando de 60 a 80 minutos. As fêmeas copulam mais de uma vez, com intervalos de 20 a 30 dias entre cópulas. Durante a vida, em média, as fêmeas chegam a copular 3 vezes e os machos 4 vezes (LIMA et al., 1994; MORGANTE & MALAVASI 1983). Logo após o acasalamento, as fêmeas iniciam a oviposição, a qual, acontece durante todo o dia, porém com maior intensidade no período da manhã (LIMA et al., 1994).

Nas espécies de *Anastrepha*, a oviposição é acompanhada por uma sequência de comportamentos: chegando ao fruto (via estímulos visuais e químicos); busca (a fêmea caminha ao longo da superfície da fruta, tocando-a com a porção anterior da cabeça e com a bainha do ovipositor); perfurar (o aculeo é inserido na polpa da fruta, mas a fêmea não deposita necessariamente ovos) e arrastar (a fêmea caminha ao longo da superfície da fruta com o aculeo estendido) (SUGAYAMA & MALAVASI, 2000, DE LIMA & HOWSE, 1997). Pouco se sabe, no entanto, sobre os fatores que influenciam a escolha do substrato de oviposição em *A. fraterculus* (Wiedemann, 1830), e como a experiência prévia pode influenciar o processo de seleção do hospedeiro.

As temperaturas bases inferiores, ou seja, nas quais cessa o desenvolvimento das diversas fases de *A. fraterculus* é de 9,2 °C para ovo, 10,3 °C para larva e 10,8 °C para pupa. A temperatura base inferior para o ciclo evolutivo, considerado como um todo é 10,7 °C. As constantes térmicas, ou seja, a quantidade acumulada de horas com temperaturas acima de 10,7 °C (graus-dia) é de 52,5 (ovo), 161,5 (larva), 227,7 (pupa) e 430,5 graus-dia para completar todas as fases do ciclo de vida (MACHADO et al., 1995).

De Lima & Howse, (1997) verificaram que ao amanhecer os machos maduros giravam varias vezes em 360 ° e movimentavam rapidamente suas asas (movimentação de chamamento). Aos 5 dias de vida estes movimentos de chamada cessam após uma hora de luz, se estendendo até 4 horas com idade de 8-9 dias.

4.5 IMPORTÂNCIA ECONÔMICA, DANOS E PREFERÊNCIA DE HOSPEDEIROS

A fruticultura de clima temperado vem sofrendo grandes prejuízos devido a mosca-das-frutas sul-americana *A. fraterculus* (Wied., 1830) principal espécie de importância econômica nos pomares da região Sul do Brasil (SORIA, 1985; SALLES, 1998; NORA & HICKEL, 2006; KOVALESKI & RIBEIRO, 2003; BOTTON et al., 2003). A presença de larvas de mosca-das-frutas no fruto dificulta a exportação devido a restrições quarentenárias exigidas pelos países importadores, o quais se somam ao dano direto diminuindo a qualidade e quantidade dos frutos, aumentando prejuízos ao produtor.

O dano de *A. fraterculus* é causado pela oviposição executada pelos adultos nos frutos e também pela alimentação das larvas na polpa, causando aceleração na maturação, apodrecimento e queda dos mesmos (KOVALESKI et al., 2000; NORA & HICKEL, 2006). A punctura no fruto durante a oviposição, deixa o mesmo suscetível a infecção de fungos e bactérias, não sendo mais utilizados para consumo e comercialização (DENARDI et al., 2003, SANTOS et al., 2008). Segundo Salles (1995), o dano causado pela fêmea nos frutos é irreversível.

Os danos causados por *A. fraterculus* variam de acordo com a espécie de frutífera e com a fase de desenvolvimento do fruto. Em maçãs ainda pequenas (20 mm) e verdes até próximo a colheita os danos podem ser observados (SUGAYAMA et al., 1997; RIBEIRO, 1999; NORA & HICKEL, 2006). A larvas não sobrevivem em frutos imaturos (KOVALESKI et al., 1995a; SUGAYAMA, 1995; SUGAYAMA et al., 1997). Ao eclodirem dos ovos, as larvas danificam as células próximas à punctura, fazendo com que os frutos fiquem deformados, reduzindo assim o

valor comercial (NORA & HICKEL, 1997; RIBEIRO, 1999). Abaixo da epiderme, na polpa, são verificadas células mortas semelhantes a cortiça, devido ao dano causado pelas larvas após eclodirem (ORTH et al., 1986; BRANCO, 1998). Em maçãs maduras as larvas não conseguem se desenvolver não chegando a fase adulta, demonstrando que a *A. fraterculus* não apresenta adaptação a este hospedeiro (SUGAYAMA et al., 1997).

Os danos na pereira começam quando os frutos estão próximos a maturação (NORA & SUGIURA, 2001). Em pêsegos, o dano no fruto começa após o inchamento dos frutos, o que ocorre uns 30 dias antes do ponto de colheita (SALLES, 1995). Na ameixa, os danos ocorrem já nos primeiros estádios de desenvolvimento, com 20 a 30 mm de diâmetro (SALLES, 1999).

Em uva os danos variam dependendo do cultivar, no início de desenvolvimento pode ocorrer a queda das bagas ainda verdes no estágio de “grão ervilha”, devido a ação das puncturas das fêmeas (ZART et al, 2011), em cultivares com bagas de coloração verde-claro a amarelada, é possível visualizar a presença das larvas e as galerias internamente (ZART et al, 2010). O desenvolvimento das larvas ocorre no período de maturação, onde as larvas destroem a polpa dos frutos ao se alimentarem, resultando em maturação precoce destas bagas devido a respostas fisiológicas da planta ao dano (BOTTON et al, 2005).

Hospedeiros

Existem no Brasil 97 espécies de plantas registradas como hospedeiras de *A. fraterculus*, sendo as principais das famílias Rosaceae, Myrtaceae e Rutaceae (ZUCCHI, 2008). No estado de Santa Catarina foram registradas 45 espécies de plantas como hospedeiras de *A. fraterculus* (NORA et al., 2000).

Segundo Carvalho (2005), a disponibilidade de hospedeiros e a densidade populacional das moscas-das-frutas estão diretamente ligadas. Assim, a identificação de seus hospedeiros primários para implantação do manejo desta praga é extremamente importante. As espécies de moscas-das-frutas têm diferentes preferências, como por exemplo, as espécies de *Anastrepha* tem preferência por plantas nativas, já a espécie *Ceratites capitata* prefere espécies introduzidas e em ambientes mais urbanizados (MALAVASI; MORGANTE; ZUCCHI, 1980).

Em pomares comerciais as plantas localizadas nas margens são atacadas primeiro, devido estarem mais próximas as áreas de vegetação nativa, apontando que a origem das moscas é de

hospedeiros nativos (RIBEIRO et al, 1995). Segundo Malavasi et al (1994) a origem de adultos que causam danos nos pomares comerciais de frutíferas, são dos hospedeiros nativos das áreas circunvizinhas aos pomares, como mirtáceas, presentes nas áreas nativas. Kovaleski et al (1999) verificaram que moscas utilizam os pomares para oviposição e alimentação, e estas são provenientes de mata nativa de áreas adjacentes ao pomar. Como a *A. fraterculus* não apresenta diapausa (SALLES, 1993), e se encontra na mata nativa nas cercanias dos pomares, possibilita infestações desta praga durante o ano todo (GARCIA et al, 2003), sendo assim o manejo e o controle ficam dificultados.

A captura de um determinado inseto praga, em armadilha com isca contendo atrativo alimentar em uma planta, não permite associar a planta ao inseto como sua hospedeira (MALO et al, 1987; NORRBOM & KIM, 1988b e ZUCCHI, 2000b). Segundo Zucchi, (2000b) não se tem registro de plantas hospedeiras para 56% das espécies analisadas no país, devido que a maioria dos estudos realizados das espécies foram executadas contendo atrativo alimentar. Nos últimos tempos no Brasil ocorreu aumento de estudos através de coleta de frutos, para se saber das espécies estudadas quais são seus hospedeiros. Este estudo tem grande importância para programas de manejo da mosca-das-frutas e o conhecimento da sua biologia e ecologia em diferentes hospedeiros. Zucchi, (2000b) elaborou uma lista de hospedeiros das espécies de *Anastrepha* no Brasil com as referências por espécie. Malavasi et al (1980) apresentaram um estudo de levantamento de hospedeiros em diversas regiões do país através da coleta de frutos.

Nos estados do Rio Grande do Sul e Santa Catarina as espécies mais utilizadas como hospedeiros por *A. fraterculus* são Goiabeira-serrana (*Acca sellowiana*), Guabirobeira (*Campomanesia xanthocarpa*), a Cerejeira-do-rio-grande (*Eugenia involucrata*) e o Araçazeiro-vermelho (*Psidium cattleianum*). Estas espécies mantem as populações ativas na região durante os meses de dezembro a maio, sendo assim hospedeiros multiplicadores da mosca-das-frutas (SALLES, 1995; KOVALESKI, 1997; GARCIA & NORRBOM, 2011). Algumas destas espécies já foram descritas como hospedeiras de *A. Obliqua* e *A. sororcula* no estado de Santa Catarina (MACQUART, 1835, GARCIA & NORRBOM, 2011).

As espécies vegetais hospedeiras, sua densidade na mata nativa, a susceptibilidade de seus frutos à oviposição e o desenvolvimento das larvas são os fatores que influenciam a infestação natural pela mosca-das-frutas (MALAVASI & MORGANTE, 1980).

4.6 MONITORAMENTO E CONTROLE

Os fatores mais importantes envolvidos no monitoramento para a captura da mosca-das-frutas são o tipo de armadilha e o atrativo utilizado (NASCIMENTO et al., 2000). O produto utilizado como atrativo é muito importante para proporcionar resultados que sejam confiáveis no monitoramento, o qual propicia segurança ao manejo da praga (SALLES, 1995).

No Brasil é comum nas frutíferas onde a mosca-das-frutas é praga, o uso de armadilhas do tipo McPhail (MCPHAIL, 1939). Apesar da baixa eficiência, considerada de difícil manejo e cara, o uso de armadilhas McPhail para monitoramento, juntamente com a proteína hidrolisada, é o principal meio de monitoramento para mosca-das-frutas no mundo (ALUJA, 1994; SHELLY et al., 2014).

No Sul do Brasil, o atrativo recomendado como padrão é o suco de uva diluído a 25% para a captura da mosca-das-frutas nos pomares de maçã, sendo também utilizados para outras culturas (KOVALESKI & RIBEIRO, 2002; KOVALESKI, 2004). Esse atrativo tem demonstrado baixa eficiência em alguns casos, como na maçã no período de maturação e no cultivo de videiras (ZART et al., 2009; ZUANAZZI, 2012). Na cultura da videira não é o mais eficiente devido a competição do atrativo com a liberação de voláteis dos frutos do cultivo durante as fases de pré-maturação e maturação, diminuindo a possibilidade da praga localizar a armadilha dentro do cultivo (ROSIER et al., 1995). Já Salles (1995) recomendava para pessegueiro diferentes atrativos entre eles vinagre de vinho, suco de pêsego e uva, proteína hidrolisada e melaço de cana, nas doses de 25, 10, 25, 5 e 7%, respectivamente. Também é utilizado melaço de cana-de-açúcar, sucos de frutas frescas ou suco fermentado e também vinagre de vinho tinto podem ser utilizados (VELOSO et al., 1994; SALLES, 1995). Porém, estes atrativos não são seletivos a insetos benéficos ou artrópodes não alvo (VILLAR et al., 2010; BORTOLI, 2014).

Devido aos problemas na captura em alguns pomares tem-se utilizado a levedura *Torula*[®], devido sua maior atratividade à mosca-das-frutas (SCOZ et al., 2006; MONTEIRO et al., 2007; POGERRE, 2007; AZEVEDO et al., 2012). Esses atrativos devem ser repostos semanalmente.

A empresa Bioibérica S.A. introduziu no mercado brasileiro uma nova formulação de proteína hidrolisada de origem animal, a qual está registrada pelo nome de CeraTrap[®], atrativo para diferentes espécies de mosca-das-frutas, o qual é estável nas condições de campo, com durabilidade maior que os demais atrativos disponíveis no mercado (SELAMI et al., 2011; BOTTON et al., 2014). O atrativo é obtido a partir de um processo exclusivo de hidrólise enzimática à frio (RAMOS

et al., 2011). Devido a alta atratividade de adultos de mosca-das-frutas, o mesmo está sendo utilizado no Manejo Integrado de Pragas na cultura dos citros (SELAMI et al., 2011).

O nível de controle para pulverização para *Anastrepha* spp. no Brasil é de 1,0 MAD (mosca/armadilha/dia) (MALAVASI; NASCIMENTO; CARVALHO, 1994; NASCIMENTO; CARVALHO; MALAVASI, 2000). Na região Sul do Brasil nas frutíferas de clima temperado, a aplicação de iscas tóxicas são iniciadas com MAD igual ou maior a 0,5 (KOVALESKI & RIBEIRO, 2003; BOTTON et al., 2005), e controle de cobertura em área total com inseticidas com 1,0 de MAD. Na CTPIM (2006) a utilização do MAD passou a ser feita somando os valores ao longo das semanas, o MAD de 0,5 é cumulativo para a aplicação inicial e nos vinte dias antecedentes a colheita.

Quanto ao número de armadilhas a serem utilizada por hectare, Salles (1995) propôs a utilização de duas a quatro armadilhas por hectare, dependendo do relevo. Já Kovaleski et al (2000) recomendaram para o Rio Grande do Sul que se deve padronizar as armadilhas e atrativos a serem utilizados para definição do nível de controle, recomendando a instalação de quatro armadilhas por hectare no monitoramento de *A. fraterculus*.

O método de manejo mais utilizado é o de pulverizações de cobertura com inseticidas organofosforados (KOVALESKI et al., 2000; BOTTON et al., 2016). O manejo por pulverização de cobertura já é utilizado a mais de quatro décadas sem aparecimento de insetos resistentes (NAVA; BOTTON, 2010; RAGA; SATO, 2011, HÄRTER et al., 2015). O manejo por cobertura é muito rápido e eficiente, mas os custos ao meio ambiente são elevados, como por exemplo uma baixa seletividade a insetos polinizadores e inimigos naturais e grande período de carência (SALLES, 1995; SCOZ et al., 2004; NAVA; BOTTON, 2010). O mercado mundial busca frutas para consumo “in natura” com níveis baixos de resíduo, e também produtos fitossanitários e manejo de pragas com menor impacto sobre os insetos benéficos à saúde humana, diminuindo-se a utilização de organofosforados (BÖCKMANN et al., 2014).

Um dos métodos utilizados no Manejo Integrado de Pragas (MIP) é o uso de isca tóxica, que esta sendo utilizado para o controle da mosca-das-frutas em várias regiões do mundo e no Brasil (STARK et al., 2004; RUIZ et al., 2008; NAVA; BOTTON, 2010; BORGES et al., 2015; BOTTON et al., 2016). Vários produtos são utilizados para fabricação de iscas tóxicas no Brasil, contendo diferentes ingredientes que atraem os insetos, sendo eles açúcares, proteínas, ferômonios e voláteis de plantas (BORGES et al., 2015; HÄTER et al., 2015). São menos danosos aos insetos

benéficos devido sua utilização ser em baixo volume por área e em pontos específicos nas áreas a serem protegidas. Nava e Botton, (2010) descreveram as seguintes vantagens de utilização: controle da população em início de infestação; redução dos danos em frutos devido a diminuição de postura efetuadas por fêmeas e menor contaminação em frutos devido a aplicação ser dirigida a outras estruturas da árvore.

Outras opções de manejo dentro do Manejo Integrado de Pragas (MIP) são:

- Coleta e destruição de frutos infestados;
- Raleio de cachos e bagas;
- Ensacamento de frutos;
- Preservação de inimigos naturais através do controle biológico;
- Controle Biológico com Fungos entomopatógenos e Parasitóides
- Técnica do Inseto Estéril (TIE)

4.7 TÉCNICA DO INSETO ESTÉRIL

Segundo a IPPC (International plant Protection Convention) (FAO, 2005) a Técnica do Inseto Estéril (TIE) é o “método de controle de pragas utilizando liberação inundativa de insetos estéreis em uma área para diminuir a reprodução em uma população da mesma espécie no campo”. Durante o acasalamento o inseto estéril transfere esperma com mutações letais dominantes para as fêmeas nativas, inviabilizando a próxima geração. Os insetos estéreis causam uma redução gradativa na população nativa (MASTRANGELO, 2009).

A técnica foi idealizada em 1937, para controle da mosca varejeira *Cochliomyia hominivorax* (Coquerel, 1858) (DIPTERA, Calliphoridae) pelo entomologista Edward Knipling, a qual, era considerada uma ameaça à bovinocultura e animais silvestres no Sudoeste dos Estados Unidos, e que em 1933 passou a ser encontrada na região Sudeste dos EUA (MALAVASI; ZUCCHI, 2000; DIAS; GARCIA, 2014).

Nos programas TIE as esterilizações dos insetos não são realizadas por quimioesterilizantes, pois os mesmos podem causar toxicidade aos organismos, problemas oncológicos, além de possível aparecimento de resistência dos insetos tratados e grande agressão ao meio ambiente (LABREQUE; SMITH, 1968; MASTRANGELO, 2009). Nos dias de hoje, nos programas TIE, a esterilização dos insetos alvo são realizadas por irradiação ionizante, de

radioisótopos de Cs¹³⁷ e Co⁶⁰, elétrons gerados de aceleradores que operem abaixo de 10 MeV, e de raios X que operam com feixe de elétrons de energia abaixo de 5MeV (WALDER, 2000; MASTRANGELO, 2009). Radiações geradas nessas faixas de energia (abaixo de 5 MeV para fótons e 10 MeV para elétrons) evitam a indução de radioatividade nos materiais irradiados (BAKRI et al., 2005a). Segundo Bakri et al (2005) a utilização de irradiação para esterilizar insetos apresenta as seguintes vantagens: aumento insignificativo da temperatura; logo após serem esterilizados os insetos podem ser liberados a campo; a irradiação não deixa resíduos e pode ser feito com os insetos já embalados para liberação a campo. A irradiação nas pupas deve ser feita de 1 a 2 dias antes da emergência do adulto (pupas acondicionadas a 25°C), pois neste período a irradiação não afeta a propensão ao acasalamento, voo e produção de feromônios sexuais (FLETCHER; GIANNAKAKIS, 1973, ALLINGHI et al.,2007). Allinghi et al (2007) estudaram irradiação de insetos na Argentina e avaliam seu comportamento e dosagens, adequadas para esterilização. Mastrangelo et al (2018) estudou no Brasil a otimização das doses de irradiação em *A. fraterculus*.

A população nativa e os insetos estéreis utilizados no TIE devem ser compatíveis e deve ter competitividade entre os machos estéreis e os nativos, para que ocorra a cópula entre os machos irradiados e as fêmeas nativas (OROZCO-DAVILA et al., 2007). O maior tempo de cópula pode evitar acasalamentos seguidos devido a redução do tempo para que a fêmea possa encontrar outros machos (VERA et al, 2006). Fritz & Turner, (2002) verificaram que uma grande quantidade de esperma na espermateca pode atuar mecanicamente, estimulando órgãos que inibem a receptividade da fêmea.

A viabilização deste tipo de programa de erradicação deve ser realizada prioritariamente em áreas onde se tem isolamento climático e/ou geográfico, sendo o resultado positivo somente quando utilizado em área ampla. Não deve ser utilizado somente para controle em áreas isoladas e sim para o controle total da praga na região. Juntamente a isto, deve-se ter barreiras fitossanitárias eficientes intermunicipais e estaduais, para se evitar possíveis reinfestações da praga se a área não for isolada (MORELLI DE ANDRADE, 2008).

4.8 CASOS DE SUCESSO DE TIE

O controle de mosca-das-frutas através do TIE em ampla área contempla aproximadamente 20 programas de manejo integrado no mundo (ENKERLIN, DIA). Esses programas podem ser agrupados segundo a estratégia utilizada:

1º Erradicação – eliminação de uma praga em determinada área; 2º Supressão – redução da população da praga; 3º Contenção – aplicação de medidas fitossanitárias e regulamentos em uma área infestada, para evitar a dispersão da praga e 4º Prevenção – aplicação de medidas fitossanitárias e regulamentos, visando prevenir a introdução ou re-invasão da praga em uma área livre (FAO, 2002).

O primeiro programa de TIE realizado a campo foi no Havaí em 1960, para controle da mosca-do-mediterrâneo. Após 13 anos de liberações de insetos estéreis a população selvagem foi reduzida a 90%. Devido a área receber insetos férteis de locais próximos, não ocorreu a erradicação da praga (WALDER, 2000). Neste programa inicial a liberação de insetos estéreis foi feita tanto de machos quanto de fêmeas, devido a impossibilidade de separação dos sexos antes da emergência dos adultos, sendo assim machos e fêmeas estéreis poderiam copular, diminuindo a eficiência do TIE.

O programa Moscamed (mosca-do-mediterrâneo) implantado no México e na Guatemala, e o Moscafrut no México e os programas de erradicação da mosca-do-mediterrâneo do Chile e Mendonza, Argentina (WALDER, 2000) são os programas de supressão e erradicação de mosca-das-frutas que estão em andamento tendo destaque em seu funcionamento.

No México e na Guatemala em 1976, após a detecção da mosca-do-mediterrâneo, foi criado o programa *Moscamed* que foi apoiado pelos governos da Guatemala, México e EUA, com suporte da FAO e da IAEA (International Atomic Energy Agency) para se estabelecer uma barreira sanitária de contenção na fronteira entre México e Guatemala. A espécie *C. capitata* foi erradicada de 640.000 hectares no estado de Chiapas, no México em 1982. Várias outras áreas da Guatemala já foram certificadas como zona livre de *C. capitata*, e ainda se mantêm a barreira de contenção (WALDER, 2000, MASTRANGELO, 2009). A maior fábrica de mosca-do-mediterrâneo do mundo foi construída pela Moscamed em Tapachula, no México, sendo que o primeiro lote produzido foi liberado em julho de 1979. Outras estratégias de controle foram utilizadas juntamente com as liberações, sendo elas: aspersão de inseticidas com proteínas (isca tóxica), destruição de frutos infestados e instalação de armadilhas. A utilização destas técnicas em conjunto proporcionou

uma redução da área infestada em 1979, de 3,1 milhões de hectares para 0,35 milhões em 1981 (WALDER, 2000).

Em 1972, nas ilhas do sudeste do Japão, em uma área de 225.000 hectares, a mosca do melão *Bactrocera curcubitae* Coquillett foi erradicada pela aplicação de um programa de TIE. Para reduzir a população inicial nativa foi utilizado iscas de inseticidas com metil-eugenol, conhecida como técnica de aniquilação de machos. Esta técnica inicial favoreceu o emprego do programa de TIE, devido a necessidade de liberação de uma menor quantidade de insetos estéreis. Em outubro de 1993 a mosca-do-melão foi declarada erradicada do Japão. Com a quebra de barreiras quarentenárias para o comércio de frutas e olerícolas, juntamente com a não agressão ao ambiente pela TIE e devido não ser mais necessário a aplicação de inseticidas na área erradicada, proporcionou-se ganhos superiores aos US\$ 170 milhões gastos na implantação do programa (WALDER, 2000; ENKERLIN, 2005).

No Chile o programa de erradicação da mosca-do-mediterrâneo teve início em 1963. A TIE foi implementada utilizando-se insetos importados da Guatemala, México e EUA a partir de 1987. Em dezembro de 1995, *C. capitata* foi considerada erradicada das regiões da cidade de Arica e Vale de Azapa. Isso foi possível devido a construção da biofábrica que possibilitava a liberação de 16 milhões de insetos estéreis por semana (MAG/SAG, 1995; WALDER, 2000). A relação benefício/custo deste programa é de 17:1. O governo chileno tem gasto anual de manutenção de US\$ 4 milhões, se a praga fosse reintroduzida o custo seria de US\$ 78 milhões/ano com a perda de mercado nos EUA (LINDQUIST, ENKERLIN, 2000).

A primeira biofábrica Moscamed no Brasil foi implantada em 2005 em Juazeiro na Bahia. O programa é utilizado para o controle de *C. capitata* (PARANHOS, 2005). A biofábrica está localizada no submédio do Vale do São Francisco, pois esta região é responsável por 95% das exportações de manga e uva do Brasil. Esta região também apresenta outras espécies de mosca-das-frutas sendo elas: *Anastrepha obliqua* Macquart e *A. fraterculus* (Wied.), as quais são pragas quarentenárias em países como EUA, Japão, Europa e Ásia, devido a isto, deve-se manter baixa a população na região, com índice de MAD < 1,0 (MALAVASI; NASCIMENTO, 2003). Além da produção de *C. capitata* em 2012 a biofábrica Moscamed em Juazeiro produziu e liberou mosquitos *Aedes aegypti* em áreas testes.

No Brasil a TIE é uma estratégia pouco utilizada, possivelmente porque exige que instituições públicas e privadas interajam, contando com o setor produtivo e a sociedade, viabilizando assim o aporte de recursos a longo prazo (IMPERATO & RAGA, 2015).

5 CAPÍTULO 1: DIFERENCIAÇÃO GÊNÉTICA DE POPULAÇÕES DE *Anastrepha fraterculus* (Wied., 1830) (DIPTERA: TEPHRITIDAE)

5.1 RESUMO

A mosca-das-frutas sul americana, *Anastrepha fraterculus* (DIPTERA: TEPHRITIDAE) é a principal praga das frutíferas de Clima Temperado, cerca de 2% da produção de maçãs no Brasil é perdida devido ao seu ataque. Devido a isto, está sendo construída uma biofábrica para criação e liberação de macho estéril (TIE) na Região de Vacaria – RS, diminuindo assim a necessidade na região de controle químico aumentando na região a utilização de métodos de controle de pragas ecologicamente corretos. O presente trabalho teve como objetivo diferenciar quatro populações de moscas das frutas (população nativa, população mutante, e seus dois cruzamentos recíprocos, utilizando macho nativo com fêmea mutante e utilizando macho mutante com fêmea nativa), através do estudo do ciclo biológico. O experimento foi desenvolvido no ano de 2017, na Estação Experimental da Embrapa Uva e Vinho, em Vacaria-RS. As comparações biológicas foram conduzidas utilizando diferentes quantidades de casais de cada população, as quais foram estimadas em função da média por casal. Os casais foram individualizados em gaiolas, com idade entre 1 e 2 dias, onde foram avaliados os caracteres biológicos. A população mutante apresentou maior longevidade do que a nativa e a macho nativo com fêmea mutante, e não se diferiu da macho mutante com fêmea nativa. Quanto à fecundidade, somente a população macho nativo com fêmea mutante diferiu da macho mutante com fêmea nativa. No caráter de dias de pré-oviposição a população nativa (8,09) não diferiu da macho mutante com fêmea nativa (8,14), e a população mutante (12,00) não diferiu da macho nativo com fêmea mutante (12,30), demonstrando que esta característica pode ser transferida por efeito materno ou herança extracromossômica. Não ocorreu diferença na fecundidade diária das fêmeas. A porcentagem de eclosão foi maior para a população macho nativo com fêmea mutante, diferindo-se das outras populações. Para o número de dias da fase larval e do período ovo-larva, a população mutante foi a que apresentou menores valores, com isto verificou-se a possibilidade de utilização da população mutante para a produção de larvas em criação de parasitoides, diminuindo o tempo de produção das larvas bem como os custos. A razão sexual foi a menor na população mutante com valor de 0,37, e as outras populações apresentaram valores entre 0,44 e 0,55. O fenótipo de olho claro na F2 das populações macho nativo com fêmea mutante e macho mutante com fêmea nativa apresentou segregação fenotípica 3:1, comprovando

assim que o gene de olho claro é recessivo autossômico. Como conclusão temos mutante com maior longevidade, maior período de pré-oviposição, menor número de dias da fase larval e período ovo-larva. A população mutante apresentou também uma baixa razão sexual, diminuindo assim a quantidade de fêmeas a serem irradiadas e distribuídas caso a mesma fosse utilizada em um processo na biofábrica com a técnica do inseto estéril.

Palavras-chave: *Anastrepha fraterculus*, Comparação biológica, Manejo integrado de pragas.

5.2 INTRODUÇÃO

Para o sucesso de um programa baseado na TIE, alguns aspectos do comportamento reprodutivo da espécie também devem ser levados em consideração. A competitividade e a compatibilidade entre os insetos estéreis e selvagens são importantes para garantir que os machos irradiados terão a capacidade de copular as fêmeas no campo, sendo ainda competitivos com os demais (OROZCO-DAVILA et al., 2007). Em *C. capitata*, alguns estudos demonstram que apesar dos machos irradiados serem capazes de competir nos sítios de agregação, copular com as fêmeas, transferir esperma e induzir a infertilidade nestas, estes continuam sendo menos competitivos que os selvagens (HENDRICHS et al., 2002; KRAAIJEVELD; CHAPMAN, 2004).

Vera et al. (2006) estudaram a compatibilidade sexual de seis populações de *A. fraterculus* da América do Sul e verificaram que a maioria das populações apresentaram isolamento reprodutivo. Joachim-Bravo et al. (2003) verificou as diferenças observadas nos padrões de sobrevivência e de produção e postura de ovos de quatro espécies de *Anastrepha* as quais refletem estratégias que podem estar associadas à estabilidade do ambiente e/ou à capacidade diferencial de resposta a ambientes instáveis. Assim, pode-se sugerir a existência de estratégias de sobrevivência semelhantes entre *A. obliqua* e *A. fraterculus* e entre *A. sororcula* e *A. zenilidae*.

A duração média do ciclo evolutivo de *A. fraterculus* em condições de laboratório na temperatura de 25°C é de ovo 3 dias, larva (3 ínstar) 14 dias e pupa 13 dias. O período de pré-oviposição é de 10 dias e oviposição de 80 dias.

Na região Sul do Brasil no município de Vacaria-RS, está sendo instalada uma biofábrica de inseto estéril de moscas-das-frutas – Projeto Mosca Sul, com isto necessita-se de estudos sobre a biologia e o comportamento da mosca-das-frutas sul americana, *A. fraterculus* para a região sul do Brasil.

O objetivo deste trabalho foi comparar a biologia de *A. fraterculus* da população da criação de manutenção da EMBRAPA com a população mutantes de olhos claros.

5.3 MATERIAL E MÉTODOS

5.3.1 Localização do experimento

O experimento foi realizado de dezembro/2016 a março/2017 no Laboratório de Entomologia da Embrapa Uva e Vinho, Estação Experimental de Fruticultura de Clima Temperado (EEFCT) de Vacaria, RS, BR 285, km 4. Este foi conduzido em sala climatizada a $25 \pm 1^\circ\text{C}$, $70 \pm 10\%$ de UR e 14 horas de fotofase.

5.3.2 Populações avaliadas

Foram utilizadas quatro populações de mosca das frutas sul americana, as quais são provenientes da criação artificial da Estação Experimental da Embrapa Uva e Vinho, no município de Vacaria-RS. Os insetos para o início desta criação foram coletados no município de Vacaria – RS, de frutos infestados de goiaba-serrana (*Acca sellowiana*) e guavirova (*Campomanesia xanthocarpa*) da área da Estação Experimental da Embrapa Uva e Vinho, no ano de 2010 e, desde então, são adicionados anualmente machos coletados do campo oriundos de frutos de goiaba-serrana (*A. sellowiana*).

A primeira população foi chamada de nativa, sendo que a criação da mesma foi realizada em gaiolas com paredes de acrílico e com cobertura de tecido tipo voil. Sobre o tecido são depositados painéis de oviposição de 7 cm de diâmetro confeccionado com tecido tipo voil emborrachado com silicone preto, contendo água destilada no seu interior, onde são obtidos os ovos e para que os ovos não desidratem. Os ovos foram coletados diariamente e colocados sobre um papel filtro, por 48 a 72 horas a uma temperatura de 25°C e 70% de UR do ar. Após este período as larvas foram colocadas em uma dieta proposta pelo pesquisador Dr. Adalécio Kovaleski (dados não publicados), a qual é composta por 50g - levedura de cerveja, 1,8g - benzoato, 2g - nipagim, 600ml - água, 6g - ácido cítrico, 300g - farinha de milho e 30g - açúcar cristal, para desenvolvimento larval. Os adultos foram alimentados com dieta sólida (açúcar, gérmen de trigo e

proteína hidrolisada, na proporção de 3:1:1), açúcar e água. As quatro populações avaliadas foram criadas utilizando-se a mesma metodologia de criação.

A segunda população foi localizada no ano de 2010 pelo Dr. Adalécio Kovaleski, o qual coletou três espécimes de mosca-das-frutas com o olho claro dentre as moscas da criação de manutenção da Estação Experimental da Embrapa Uva e Vinho, a qual desde então está sendo criada na Estação da Embrapa com o fim de manutenção e estudo da população mutante de olhos claros.

A terceira e a quarta população foram formadas pelos cruzamentos recíprocos entre as duas populações descritas anteriormente, sendo a F1 destes cruzamentos utilizadas neste experimento. A terceira população foi obtida através do cruzamento da fêmea mutante com o macho nativo. A quarta população foi através do cruzamento do macho mutante e da fêmea nativa.

5.3.3 Comparações biológicas

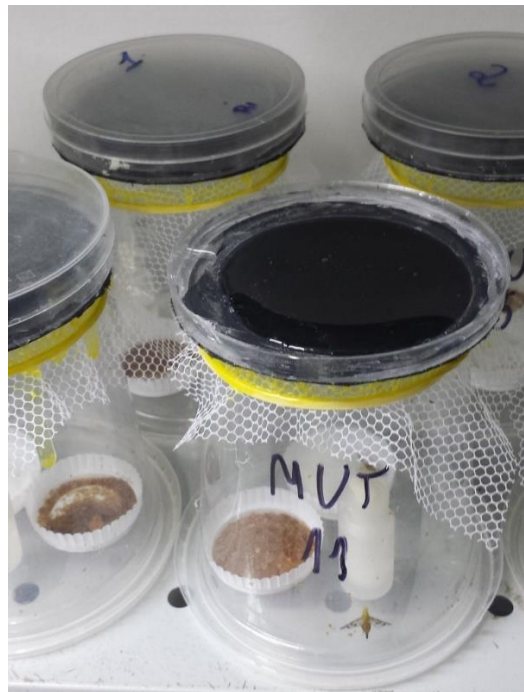
O número de casais utilizados de cada população variou, sendo que casais com idade entre 1 e 2 dias das populações nativa, mutante, macho nativo com fêmea mutante e macho mutante com fêmea nativa, foram individualizados em gaiolas, onde avaliou-se os seguintes caracteres:

- número de ovos totais por fêmea;
- número de ovos por postura;
- duração do período de pré-oviposição, oviposição e pós-oviposição;
- número total de dias de vida dos casais;
- duração do período de ovo;
- viabilidade dos ovos;
- duração do período de larva;
- duração do período ovo-larva;
- duração do período de pupa;
- duração do período ovo-pupa;
- viabilidade das pupas;
- razão sexual;
- F1 da população macho nativo com fêmea mutante e macho mutante com fêmea nativa analisada a segregação fenotípica para olho claro.

5.3.4 Metodologia utilizada

Os casais (um por recipiente) de cada população foram individualizados em recipientes formados por copos plásticos transparentes de 500 mL, onde foi retirada a parte inferior do copo (fundo) e coberta com tecido tipo voil. Aos casais foi fornecido alimento composto por açúcar, gérmen de trigo e proteína hidrolisada na proporção de 3:1:1 e açúcar em pequenas recipientes de 2 cm de diâmetro e a água em recipientes com algodão (Figura 01).

Figura 1 - Recipientes utilizados no experimento de comparação de casais.



Fonte: Foto tirada pelo autor.

5.3.4.1 Fase de ovo

Na parte superior da gaiola foi colocado um painel de oviposição de 7 cm de diâmetro confeccionado com tecido tipo voil emborrachado com silicone preto contendo água destilada no seu interior, onde foram obtidos os ovos e para que os mesmos não desidratem. Os painéis de oviposição foram colocados sobre as gaiolas no 5º dia. Os ovos foram coletados diariamente com o auxílio de uma pipeta. Esses foram individualizados por casal para verificação da viabilidade dos

ovos, sendo colocados sobre papel filtro, por 48 a 72 horas a uma temperatura de 25°C e 70% de UR do ar. Através dos dados coletados foram verificados também o de número total de ovos, total diário por fêmea e total no período de oviposição. Os ovos foram colocados sobre placas de petri contendo 50 gramas da dieta proposta pelo pesquisador Dr. Adalécio Kovaleski (dados não publicados). Após 5 dias da retirada das larvas eclodidas da placa, onde foram individualizados os ovos, verificou-se a quantidade de ovos não eclodidos em cada casal para se ter a viabilidade dos mesmos.

5.3.4.2 Fase larval e pupal

Após a eclosão das larvas nas placas de petri, as mesmas foram observadas diariamente até a formação da pupa. As larvas foram alimentadas em dieta artificial criada pelo pesquisador Dr. Adalécio Kovaleski (dados não publicados). A partir do oitavo dia foi ofertado vermiculita como substrato para formação da pupa. Diariamente foi verificado as larvas que empuparam anotando-se a data. Essas por sua vez, foram acondicionadas em potes plásticos de 100 ml com tampa, juntamente com a anotação do dia de postura dos ovos, dia de infestação na dieta e número de pupas com a data de formação da pupa. Com estes dados foi verificado o tempo de duração do período larval. As pupas formadas foram acondicionadas nas condições de $25 \pm 2^\circ\text{C}$, $60 \pm 10\%$ UR, sendo observadas diariamente até a emergência dos adultos.

5.3.4.3 Adultos emergidos

Foram observadas as emergências dos adultos das pupas, sendo anotadas as datas de emergência, quantidade, cor do olho e sexo, determinando-se assim o período médio de pupa, viabilidade das pupas e a razão sexual.

5.3.5 Segregação fenotípica

A F1 das populações macho nativo com fêmea mutante e macho mutante com fêmea nativa, quando da emergência dos adultos, foram avaliados quanto a segregação fenotípica para o carácter de olho claro. Na emergência das pupas foram anotados o número de adultos emergidos, emergência, sexo e cor do olho, para análise da segregação.

5.3.6 Análise estatística

Os resultados dos experimentos foram submetidos ao teste F e posteriormente o teste de comparação de média.

Quando os dados apresentaram distribuição normal, foi realizada uma análise de variância (ANOVA) e não normal e foi feita a transformação binomial Poisson.

A segregação fenotípica da F1 na população macho nativo com fêmea mutante e macho mutante com fêmea nativa, foram avaliados pelo teste do Qui-quadrado.

5.4 RESULTADOS E DISCUSSÕES

Os caracteres biológicos registrados no experimento entre comparações de populações são apresentados nas tabelas a seguir.

5.4.1 Longevidade da fêmea e número total de ovos por fêmea

O número de dias de longevidade da fêmea variou no experimento do menor de 34,79 na população nativa, até o maior de 54,64 na população mutante. As outras duas populações apresentaram valores intermediários sendo 38,0 e 41,86 dias, respectivamente para as populações macho nativo com fêmea mutante e macho mutante com fêmea nativa (tabela 01). O número de dias de vida da população mutante foi diferente da nativa e da macho nativo com fêmea mutante. Estes valores foram muito próximos ao encontrados Zart *et al* (2010) no cultivar de uva Itália (*Vitis vinifera*) encontrou longevidade média total de 43,13 dias, longevidade da fêmea de 34,27 dias e de machos 52,00 dias. Salles, (1999) demonstrou a longevidade de adulto em diferentes temperaturas, 15°, 20° e 25° C com valores de 128,7; 104,1 e 55,5 dias, respectivamente, sendo que na temperatura de 25°C o valor foi muito próximo ao encontrado para a população mutante. Joachim-Bravo et al (2003) observou em goiaba a sobrevivência de até 190 dias, e que 50% das fêmeas morreram até o 115° dia. Nunes et al (2013) testando diferentes dietas, não obtiveram diferenças significativas, sendo que as médias de longevidade de fêmeas variaram de 22,81 a 30,59 dias, e para machos de 21,67 a 25,14 dias, com valores menores que os verificados por este experimento.

Zanardi, (2011) estudando *C. capitata* em caqui cv. Fuyu, maçã cv. Gala e bagas de uva cv. Itália, observou longevidades de fêmeas 46,68; 47,12 e 42,44, dias respectivamente.

A mutação genética para olho claro atribuiu a população mutante maior longevidade às fêmeas, esta maior longevidade torna-se útil devido a possível utilização da população mutante para manutenção da criação do parasitoide *Diachasmimorpha longicaudata*, visto que as gaiolas de criação da mosca-das-frutas mutantes possuirão uma vida útil maior para produção de ovos na utilização das larvas para os parasitoides. Ainda dentro da longevidade das fêmeas, os cruzamentos recíprocos apresentaram valores intermediários as suas populações originárias.

Tabela 01: Longevidade média das fêmeas (acima da diagonal) e do número total de ovos por fêmea (abaixo da diagonal) das diferentes populações de *A. fraterculus*.

	⁴ NAT	MN	MM	MUT
	¹ 34,79	¹ 38,00	¹ 41,86	¹ 54,64
NAT ² 518,94	1	³ 0,8972	0,3912	0,0013*
MN ² 410,40	³ 0,4019	1	0,8685	0,0219*
MM ² 652,68	0,1996	0,0104*	1	0,1069
MUT ² 511,93	0,9997	0,6370	0,3423	1

Fonte: Elaborada pelo autor, 2018.

NOTAS: * Significativo pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro.

¹ Valores médios da longevidade das fêmeas

² Valores médio do número total de ovos

³ Probabilidade de significância.

⁴ (NAT) População Nativa, (MN) População utilizada Macho Nativo e (MM) População utilizada Macho Mutante e (MUT) População Mutante.

O número total de ovos por fêmea variou de 410,4 da população macho nativo com fêmea mutante até 652,68 da macho mutante com fêmea nativa, e estas duas populações foram as únicas

que diferiram entre si (Tabela 01). Comparando-se diferentes dietas, Nunes et al (2013) obtiveram resultados variando de 201,25 a 449,32 ovos, a dieta composta por açúcar refinado + extrato de levedura + gérmen de trigo cru à proporção de (3:1:1) apresentou valor mais próximo ao do presente estudo com 449,32. Salles (1999) observou que o número de ovos totais por fêmea foi estudado em diferentes temperaturas, sendo a 20°, 25° e 30°C, número de ovos médios de 171 (67 – 274), 408 (341 – 446) e 236 (159 – 276), respectivamente, nas temperaturas de 5-10-15°C e 35-40-45°C não ocorreu postura, sendo que os valores observados a 25°C se apresentaram menores que os observados no experimento. Segundo Zart et al (2010) em uva do cultivar Itália o número de ovos totais foi de 129,47 (5 – 323) por fêmea, correspondente a 30% do menor valor observado no presente estudo. Em estudo com diferentes hospedeiros, os resultados obtidos foram mirtilo 177,21 (21 – 404), amora preta 264,32 (21 – 672), araçá 408,48 (27 – 785) e pitanga 460,22 (201 - 975), sendo araçá e pitanga os que apresentaram os valores mais próximos (Bisognin et al. 2013) ao presente trabalho. De acordo com Zanardi (2011) em *C. capitata* os dados observados foram em caqui com 363,87 ovos, em macieira 192,22 ovos e em videira 206,78 ovos.

5.4.2 Pré-oviposição e período de oviposição

O período de pré-oviposição foi igual entre as populações macho nativo com fêmea mutante e mutante com valores de 12,30 e 12,00 dias, respectivamente, e iguais entre as populações macho mutante com fêmea nativa e nativa com valores de 8,14 e 8,09 dias, respectivamente. Estes dados demonstram que o período de pré-oviposição é herdado da fêmea, pois as populações dos cruzamentos recíprocos não diferiram da população original de onde foi utilizado a fêmea (Tabela 02). Os valores encontrados por Souza, (2015) em diferentes hospedeiros foram os seguintes, em gabiroba foi 9,91 dias, este valor é maior e muito próximo as populações macho mutante com fêmea nativa e nativa, já nos hospedeiros cerejeira-do-rio-grande e maçã foi 12,83 e 11,50, respectivamente, sendo muito próximos às populações macho nativo com fêmea mutante e mutante. Já Zart et al (2011) observou 11,77 dias no cultivar de uva Itália, próximos aos valores encontrados em mirtilo – 12,38 dias, amora preta – 10,93 dias, araçá – 11,74 dias e pitanga – 11,11 dias (Bisognin et al, 2013). Utilizando quatro diferentes dietas, Nunes et al (2013) apresentou os seguintes valores para as Dietas A, B, C e D 10,82, 10,95, 10,42 e 11,75 dias de pré-oviposição, respectivamente, sendo estes valores intermediários ao presente trabalho. Gonzalez (1971) com uma dieta composta de açúcar e extrato de soja (4:1) observou uma pré-oviposição de nove dias,

ficando muito próximo aos valores da população macho mutante com fêmea nativa e nativa. O maior valor encontrado em estudos em pré-oviposição foi de 22,7 dias em *A. fraterculus* por Salles (1999).

Em estudo com *C. capitata* em caqui, macieira e videira, para o período de pré-oviposição os valores observados foram 4,9, 11,74 e 10,43 dias, respectivamente (Zanardi, 2011).

Tabela 02: Valor médio do número de dias do período de pré-oviposição (acima da diagonal) e período de oviposição (abaixo da diagonal) das diferentes populações de *A. fraterculus* (DIPTERA: TEPHRITIDAE).

	⁴ NAT	MN	MM	MUT
	¹ 8,09	¹ 12,30	¹ 8,14	¹ 12,00
NAT ² 22,41	1	³ 0,0029*	1,0000	0,0200*
MN ² 17,85	³ 0,5015	1	0,0089*	0,9968
MM ² 25,36	0,7865	0,1593	1	0,0387*
MUT ² 28,43	0,3613	0,0488*	0,8649	1

Fonte: Elaborada pelo autor, 2018.

NOTAS: * Significativo pelo teste de Tukey a 0,05 de probabilidade.

¹ Valores médios do número de dias período de pré-oviposição

² Valores médios do número de dias período de oviposição

³ Probabilidade de significância.

⁴ (NAT) População Nativa, (MN) População utilizada Macho Nativo e (MM) População utilizada Macho Mutante e (MUT) População Mutante.

O período de oviposição variou de 17,85 dias na população macho nativo com fêmea mutante a 28,43 dias na população mutante, sendo que estas duas populações foram diferentes estatisticamente, as outras duas populações apresentaram valores intermediários, nativa apresentou 22,41 dias e macho mutante com fêmea nativa 25,36 dias (Tabela 02). Os valores encontrados por Nunes et al (2013) em quatro diferentes dietas apresentaram valores aproximadamente 15 a 50%

menores que o da população macho nativo com fêmea mutante que apresentou o menor valor. Zart et al (2011) em uva do cultivar Itália, observou 20,70 dias de oviposição sendo um valor intermediário aos encontrados neste trabalho. Já Bisognin et al, (2013) estudando diferentes hospedeiros, encontrou valores superiores nas culturas do araçazeiro (39) e pitangueira (33), e valores inferiores para mirtilheiro (11,79) e amoreira preta (16,68). Os valores mais próximos encontrados foram nas culturas da guabirobeira (18,61), cerejeira-do-rio-grande (28,47) e macieira (27,12), neste caso as moscas utilizadas nos experimentos são originárias da mesma criação (Souza 2015). O maior valor encontrado em publicações para o período de oviposição foi de 79,1 dias em *A. fraterculus* por Salles (1999).

O período de oviposição assim como a longevidade das fêmeas foi maior na população mutante, demonstrando que além da maior longevidade das fêmeas, o ganho da população mutante também ocorreu no período de oviposição, evidenciando maior ganho na utilização desta população na criação de parasitoides em comparação com a população de mosca-das-frutas nativa.

5.4.3 Número de ovos por dia de oviposição (fecundidade diária) e razão sexual

As populações não apresentaram diferença quanto a fecundidade diária, os valores variaram de 27,79 a 33,72 ovos/fêmea/dia. Segundo Quintero et al (2009) em *A. ludens* (DIPTERA: *TEPHRITIDAE*) não foi verificada diferença entre a fecundidade diária entre a população fenótipo selvagem (60,78) e a população fenótipo mutante (68,04), apesar de não ser a mesma espécie este trabalho apresentou fecundidade diária com o dobro dos valores encontrados no presente estudo. Com a utilização de alimento adaptado de Jaldo et al. (2001), composto de açúcar tipo cristal, gérmen de trigo, glúten de milho e lêvedo de cerveja (3:1:1:1), mais a adição de vitamina E, complexo vitamínico e poliaminoácidos, a média de fecundidade diária ficou entre 13,2 e 14,3 ovos/fêmea/dia, em três gerações na criação artificial, com valores menores que os observado neste trabalho (Efrom 2009). Nunes (2013) comparando quatro diferentes dietas apresentou 21,96, 30,17, 18,79 e 20,14 de fecundidade diária, respectivamente para as dietas A, B, C e D, somente o valor da dieta B está próximo aos encontrados no presente estudo e as dietas A, C e D apresentaram valores inferiores. Souza (2015) estudando a mesma população nativa em diferentes hospedeiros obteve dados inferiores, sendo eles, cereja 11,43 dias, guabiroba 20,70 dias e maçã 18,67 dias de fecundidade, demonstrando a possibilidade de que a dieta utilizada na criação artificial promove uma melhor nutrição aos insetos do que os hospedeiros estudados.

Tabela 03 Valores médios do número de ovos por dia de oviposição (acima da diagonal) e razão sexual (abaixo da diagonal) das diferentes populações de *A. fraterculus*. (DIPTERA: *TEPHRITIDAE*)

	⁴ NAT	MN	MM	MUT
	¹ 32,68	¹ 27,79	¹ 33,72	¹ 31,46
NAT ² 0,5388	1	³ 0,1793	0,9692	0,9687
MN ² 0,4348	³ 0,0889	1	0,1141	0,6025
MM ² 0,5466	0,9035	0,1011	1	0,8620
MUT ² 0,3714	0,0493*	0,4567	0,0523	1

Fonte: Elaborada pelo autor, 2018.

NOTAS: * Significativo pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro.

¹ Valores médios do número de ovos por dia de oviposição

² Valores médios da razão sexual

³ Probabilidade de significância.

⁴ (NAT) População Nativa, (MN) População utilizada Macho Nativo e (MM) População utilizada Macho Mutante e (MUT) População Mutante.

A razão sexual da população nativa (0,5388) e da população macho mutante com fêmea nativa (0,5466) foram muito próximas e ambas não se diferenciaram da população macho nativo com fêmea mutante (0,4348), neste caso tem-se como hipótese que em populações onde se tem incremento de genes nativos, aumenta-se a razão sexual. A razão sexual da população mutante foi de 0,3714, na prática ao implantar o experimento se teve dificuldade de montar os casais devido a menor emergência de fêmeas das pupas. Trabalhando com a mesma população nativa os dados obtidos por Souza (2015) em diferentes hospedeiros foram muito próximos a este trabalho, cereja-do-rio-grande apresentou 0,48, guabiroba 0,51 e maçã 0,58 de razão sexual, os valores ficaram próximos as populações nativa, macho nativo com fêmea mutante e macho mutante com fêmea nativa, sendo que estas populações possuem parte de sua constituição genética originária da mesma

população nativa utilizada em 2015. Walder et al (2014) trabalhando no período de domesticação das moscas para criação artificial em larga escala, obtiveram os valores de 0,48 a 0,56 de razão sexual da 2^a até 54^a geração, com uma média de 0,53, sendo estes valores muito próximos a este trabalho. A menor razão sexual registrada foi em dieta artificial sem ágar com bagaço de cana de açúcar como texturizante, foi observado 0,33, sendo que, na mesma dieta sem o bagaço, utilizado-se doses de ágar de 10 gramas e 36 gramas resultou em 0,51 e 0,53 de razão sexual, respectivamente (Nunes, 2013). Estudando os hospedeiros mirtilo, amora-preta, araçá e pitanga, Bisognin et al (2013) observou as razões sexuais de 0,61, 0,52, 0,52 e 0,40 respectivamente.

A eficiência do TIE depende de uma série de fatores, para se ter uma maior eficiência deve-se fazer a liberação de machos estéreis, sendo as fêmeas descartadas ou utilizadas para criação antes da esterilização. No Havaí por exemplo em um programa TIE iniciado em 1960, que após 13 anos de liberação de insetos estéreis, teve a população selvagem reduzida em 90%. Neste programa a liberação de insetos estéreis foi feita tanto de machos quanto de fêmeas, devido a impossibilidade de separação dos sexos antes da emergência dos adultos, sendo assim machos e fêmeas estéreis poderiam copular, diminuindo a eficiência do TIE (Dias; Garcia, 2014). A utilização da população mutante como inseto estéril nestes programas possui vantagem em relação a nativa, devido a mosca mutante apresentar a razão sexual de 0,3714. Em casos como o citado anteriormente onde não é possível fazer a separação de machos e fêmeas, com a utilização da mosca mutante tem-se uma menor quantidade de fêmeas, melhorando a eficiência do TIE. Neste caso tem-se a desvantagem da menor produção de fêmeas para a criação, tendo como consequência a menor produção de ovos.

5.4.4 Período de incubação e porcentagem de eclosão dos ovos

O período de incubação dos ovos foi menor na população mutante e não diferiu da população macho nativo com fêmea mutante, mas foi diferente das populações nativa e macho mutante com fêmea nativa. A incubação dos ovos está relacionada a temperatura. Segundo Salles (1999) o período de incubação ocorre dependendo da temperatura, sendo que com 15°C – 10,3, 20°C – 4,7, 25°C – 3,0 e 30°C – 2,3 dias, o qual corrobora com dados encontrados neste trabalho. Zart et al (2010) no cultivar de uva Itália observou 3,01 dias de incubação para *A. fraterculus*.

Na população de mosca mutante registrou-se o menor valor, para a incubação dos ovos demonstrando que a mutação conferiu uma característica que favoreceu esta população a ser utilizada para fornecimento de larvas para a criação de parasitoides (como por exemplo

Diachasmimorpha longicaudata entre outros). Com menor tempo de incubação a população terá uma criação mais rápida, e como consequência menor custo de manutenção.

Tabela 04: Número médio de dias de incubação dos ovos (acima da diagonal) e porcentagem de eclosão dos ovos – viabilidade dos ovos (abaixo da diagonal) das diferentes populações de *A. fraterculus* (DIPTERA: *TEPHRITIDAE*).

	⁴ NAT	MN	MM	MUT
	¹ 2,28	¹ 2,25	¹ 2,28	¹ 2,10
NAT ² 86,94	1	³ 0,6710	0,9831	0,0396*
MN ² 94,11	³ 0,0001*	1	0,6737	0,0837
MM ² 86,38	0,8288	0,0006*	1	0,0477*
MUT ² 81,63	0,0912	<,0001*	0,1582	1

Fonte: Elaborada pelo autor, 2018.

NOTAS: * Significativo pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro.

¹ Valores médios do número de dias de incubação dos ovos

² Valores médios do número de dias período de oviposição

³ Probabilidade de significância.

⁴ (NAT) População Nativa, (MN) População utilizada Macho Nativo e (MM) População utilizada Macho Mutante e (MUT) População Mutante.

A população macho nativo com fêmea mutante (94,11%) apresentou o valor mais alto de viabilidade de ovos, a mesma se diferiu de todas as outras populações. A população macho nativo com fêmea mutante (94,11%) apresentou o maior valor de viabilidade de ovos, comparando-se com Souza (2015); Nunes (2013) e Efrom (2009). Segundo Quintero et al, (2009) a mosca *A. ludens* de fenótipo mutante teve viabilidade de 86,78 % e de fenótipo selvagem 89,59 %, ambos os fenótipos apresentaram valores próximos às populações nativa, macho nativo com fêmea mutante e mutante. Zart et al (2010) apresentou o menor valor de viabilidade (61,75%) em uva do cultivar Itália. Os valores de eclosão de ovos observados por Yamada & Selivon (2001) para o fenótipo

selvagem (86,8%) ficou muito próximo ao encontrado no presente trabalho, já o fenótipo mutante apresentou valor abaixo do encontrado no presente trabalho (73,5%). Diferente do presente trabalho, os dados encontrados diferiram pelo teste de Mann-Whitney, entre o fenótipo selvagem e o mutante.

5.4.5 Número de dias da fase larval e período ovo-larva

O número de dias da fase larval e do período ovo-larva (Tabela 05) apresentaram a mesma tendência de valores. As populações nativa (9,59 dias larval – 11,81 dias ovo-pupa) e macho nativo com fêmea mutante (9,79 dias larval – 11,92 dias ovo-pupa) não diferiram entre si e apresentaram os maiores valores, tanto para o número de dias da fase larval como para o período ovo-larva. As populações macho mutante com fêmea nativa (9,30 dias larval – 11,50 dias ovo-pupa) e mutante (8,99 dias larval – 11,05 dias ovo-pupa) diferiram entre si e apresentaram valores inferiores. Salles (1999) demonstrou a importância da temperatura na fase larval, verificando que a 25°C tem-se o menor período da fase larva (11 dias). Em videira o período larval verificado foi maior, com 21,95 dias em uva do cultivar Itália com variação de 14 a 32 dias (Zart et al 2010). Em estudo para criação em larga escala, em três gerações da criação, a fase larval variou de 13,9 a 14,7 dias de duração, ficando bem acima dos valores deste trabalho (Efrom 2009).

A população mutante apresentou (anteriormente citado), o menor período de incubação (2,1 dias), e também apresentou menor período larval (8,99 dias), e conseqüentemente menor período ovo-larva (11,05 dias) em comparação com as populações nativa e macho nativo com fêmea mutante. Estes parâmetros comprovam a maior possibilidade de utilização da população mutante como criação base, para obtenção de larvas a serem utilizadas com *D. longicaudata*. Na tabela 05 podemos verificar a possível transferência das características de período larval e do período total de ovo-larva pelo macho, pois estas características não diferiram entre a população original e aquela onde foi utilizada o macho no cruzamento para obtenção da população.

A mutação conferiu características de maior precocidade para a produção das larvas favorecendo a sua utilização, devido ao menor custo da criação, menor tempo de produção das larvas, menor tempo de utilização dos vasilhames, espaço nas câmaras de criação e menor quantidade de alimentação para a multiplicação do parasitoide *D. longicaudata*.

Tabela 05: Número médio de dias da fase larval (acima da diagonal) e de número de dias do período ovo – larva (abaixo da diagonal) das diferentes populações de *A. fraterculus* (DIPTERA: *TEPHRITIDAE*).

	⁴ NAT	MN	MM	MUT
	¹ 9,59	¹ 9,79	¹ 9,30	¹ 8,99
NAT	1	³ 0,0553	0,0121*	<,0001*
² 11,81				
MN	³ 0,3632	1	0,0001*	<,0001*
² 11,92				
MM	0,0165*	0,0031*	1	0,0418*
² 11,50				
MUT	<,0001*	<,0001*	0,0066*	1
² 11,05				

Fonte: Elaborada pelo autor, 2018.

NOTAS: * Significativo pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro.

¹ Valores médios do número de dias da fase larval

² Valores médios do número de dias período ovo – larva

³ Probabilidade de significância.

⁴ (NAT) População Nativa, (MN) População utilizada Macho Nativo e (MM) População utilizada Macho Mutante e (MUT) População Mutante.

Como a população mutante apresentou menores valores da fase larval e período ovo – larva, a mesma pode ser utilizada na multiplicação de parasitoides, devido ser mais rápido e conseqüentemente mais barato a sua criação, para a utilização das larvas a serem parasitadas por parasitoides como *D. longicaudata* por exemplo.

5.4.6 Número de dias de pupa e período ovo-adulto

O maior número de dias de pupa foi na população mutante (14,7), seguido pela macho nativo com fêmea mutante (14,24), nativa (14,20) e macho mutante com fêmea nativa (13,82). Valores superiores foram descritos por Souza (2015) em cereja-do-rio-grande (17,45), guabiroba (16,67) e maçã (16,41). Segundo Salles (1999) na temperatura de 25°C o período de pupa é de 10

dias, sendo este valor inferior ao encontrado no presente estudo. Nunes (2013) comparando três tipos de dieta observou valores de 12 a 12,7 dias de pupa, e Bisognin et al (2013) estudando diferentes hospedeiros como mirtilo, amora-preta, araçá e pitanga, registrou os valores de 13,95; 13,85; 14,42 e 14,58 dias, respectivamente.

Tabela 06: Número médio de dias de pupas (acima da diagonal) e de número de dias do período ovo - adulto (abaixo da diagonal) das diferentes populações de *A. fraterculus* (DIPTERA: *TEPHRITIDAE*).

	⁴ NAT	MN	MM	MUT
	¹ 14,20	¹ 14,24	¹ 13,82	¹ 14,70
NAT ² 26,01	1	³ 0,7351	0,0001*	0,0002*
MN ² 26,16	³ 0,2393	1	0,0005*	0,0021*
MM ² 25,32	<,0001*	<,0001*	1	<,0001*
MUT ² 25,75	0,0488*	0,0029*	0,0010*	1

Fonte: Elaborada pelo autor, 2018.

NOTAS: * Significativo pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro.

¹ Valores médios do número de dias de pupa

² Valores médios do número de dias período ovo – adulto

³ Probabilidade de significância.

⁴ (NAT) População Nativa, (MN) População utilizada Macho Nativo e (MM) População utilizada Macho Mutante e (MUT) População Mutante.

O período de ovo a adulto teve valores de 25,32 dias na população macho mutante com fêmea nativa até 26,16 dias na população macho nativo com fêmea mutante, esta última não se diferiu da população nativa com 26,01 dias. Walder et al (2014) em dois estudos com diferentes quantidades de agar observou valores de 25,9 até 27,6 dias, sendo estes valores muito próximos ao encontrado pelo presente estudo. Já em estudo de controle de gerações (2^a até 54^a geração) observou-se 28,43 a 30,75 dias para o período de pupa com uma média de 30,04 dias, os quais são

valores superiores ao encontrado no presente estudo. Estudos em diferentes hospedeiros apresentaram valores de 25,95 dias em guabiroba valores encontrados (Souza, 2015; Zart et al, 2010 e Bisognin et al, 2013). Os menores valores de período ovo a adulto foi verificado em três dietas com diferenças na dose de ágar e texturizante, com valores para dietas D1 – 24,20, D2 – 23,80 e D3 – 22,0 dias.

5.4.7 Viabilidade pupal

Não se observou diferença para os valores de viabilidade pupal entre as populações (tabela 07). Já Yamada & Selivon (2001) encontraram diferentes valores, comparando mosca mutante de *Anastrepha* com não mutante no estado de São Paulo, observando valores de 81,6 % para o fenótipo nativo e 55,4 % para o fenótipo mutante.

Tabela 07: Média da viabilidade de pupaL nas quatro populações de *A. fraterculus* (DIPTERA: *TEPHRITIDAE*).

Populações	¹ NAT	MN	MM	MUT
Viabilidade das Pupas (%)	^{ns} 83,97	87,30	90,84	89,66

Fonte: Elaborada pelo autor, 2018.

NOTA:

¹ (NAT) População Nativa, (MN) População utilizada Macho Nativo e (MM) População utilizada Macho Mutante e (MUT) População Mutante.

5.4.8 Segregação fenotípica

A segregação fenotípica nas populações macho nativo com fêmea mutante e macho mutante com fêmea nativa não diferem da segregação fenotípica 3:1. A segregação 3:1 ocorre em ambos os sexos e no total de cada população, demonstrando que o fenótipo do olho claro é controlado por gene recessivo e autossômico. Yamada & Selivon (2001) encontraram segregação fenotípica 3:1 estudando *Anastrepha* sp.1 aff. *Fraterculus*, estudando a mutação da cor do olho, no município de Itaquera-SP. Utilizando cruzamentos recíprocos entre o fenótipo selvagem e mutante, obtiveram desvios significativos na proporção 3:1 em ambos os cruzamentos recíprocos, com um excesso de moscas de fenótipo selvagem. A segregação dentro do sexo no fenótipo selvagem e mutante ficou

na proporção 3:1, indicando que os desvios observados no total da amostra não estavam relacionados ao sexo, comprovando o gene recessivo e autossômico encontrado também no presente estudo.

Tabela 08: Fenótipos das F1 das populações macho nativo com fêmea mutante e macho mutante com fêmea nativa de mosca das frutas *A. fraterculus* (DIPTERA: *TEPHRITIDAE*).

Populações	Cruzamento		Fenótipo F1 das populações MN e MM						Prob.
	Macho	Fêmea	fenótipo olho escuro			fenótipo olho Claro			
			Macho	Fêmea	Total	Macho	Fêmea	Total	
¹ MN	Nativa	Mutante	125	105	230	48	30	78	0,2687*
¹ MM	Mutante	Nativa	105	116	221	33	38	71	0,8795*

Fonte: Elaborada pelo autor, 2018.

NOTAS: * Não significativo pelo teste de Qui-quadrado a 5% de probabilidade de erro.

¹ (MN) População utilizada Macho Nativo e (MM) População utilizada Macho Mutante.

5.5 CONCLUSÕES

- A população mutante apresentou maior longevidade, maior período de pré-oviposição e menor número de dias das fases larval e do período ovo a larva, sendo que estes últimos resultados fazem com que a população mutante possa ser utilizada na multiplicação de parasitoides, devido ser mais barato e mais rápido o processo de criação.
- A população mutante também apresentou uma baixa razão sexual, diminuindo assim a quantidade de fêmeas a serem irradiadas, se a população for utilizada na técnica do inseto estéril (TIE), sem a separação dos machos das fêmeas.
- A característica referente ao período de pré-oviposição pode ter sido transferida pela fêmea ou herança extracromossômica, devido a não diferenciação das populações de onde as mães foram utilizadas. Sendo assim a população macho nativo com fêmea mutante não diferiu da população mutante e macho mutante com fêmea nativa e não diferiu da população nativa.
- O caracter cor de olho é controlado por gene recessivo e autossômico.

6 CAPÍTULO 2: Populações mutagênicas em *Anastrepha fraterculus* (DIPTERA: TEPHRITIDAE) caracterizadas quanto ao acasalamento e a fertilidade.

6.1 RESUMO

As moscas-das-frutas (DIPTERA: TEPHRITIDAE) são consideradas as principais pragas da fruticultura mundial, e entre as medidas de controle, a Técnica do Inseto Estéril (TIE) tem se destacado em diversos países. Para a aplicação da TIE é necessário a esterilização através de radioesterilização, e ao mesmo tempo devem alterar o mínimo possível as qualidades biológicas do inseto para o seu sucesso em campo. O presente estudo analisou o tempo de acasalamento, latência, número de ovos, a porcentagem de eclosão de ovos e o índice de performance de acasalamento de *Anastrepha fraterculus* (Wiedemann), a mosca-sul-americana, irradiados com doses de 40 Gy (Mastrangelo et al 2018). Foram utilizadas duas populações, a primeira população de mosca-das-frutas é proveniente da criação artificial da Estação Experimental da Embrapa Uva e Vinho – no município de Vacaria-RS, a segunda população foi formada pelo cruzamento entre a população nativa com a população mutante de olhos claros, a qual foi localizada no ano de 2010 pelo Dr. Adalécio Kovaleski – pesquisador da EMBRAPA. Os cruzamentos foram feitos entre o macho nativo e a fêmea mutante e o seu recíproco; as F1 destes cruzamentos foram cruzadas entre si e na F2 foram selecionadas as de olhos claros e criadas para aumento de população e execução deste experimento, as quais foram chamadas de “Mutante”. A fonte de radiação gama foi um irradiador de Co-60 (Gammabeam-650) localizado no Laboratório de Radioentomologia do CENA/USP. As pupas foram irradiadas 48 horas antes da emergência. Logo após a emergência, os adultos foram separados pelo sexo e alimentados. No dia anterior ao teste foram identificados com tinta. Os testes foram realizados em condições de semi-campo, em gaiolas de tela de 2x2x2 m com entrada fechada, dentro de uma casa de vegetação. A duração da cópula da população nativa irradiada e não irradiada cresceu com o aumento da idade das moscas. A dose de radiação gama de 40 Gy não foi 100% efetiva na esterilização das moscas, mas reduziu a quantidade e a porcentagem de eclosão de ovos. A população mutante irradiada e não irradiada não produziu ovos em nenhum dos cruzamentos, com exceção entre a nativa não irradiada vs mutante irradiada. A população mutante demonstrou pouca e nenhuma atividade de cópula nos experimentos nas gaiolas, demonstrando sua baixa competição, não podendo ser usada na TIE. Os índices de performance de

acasalamento demonstraram baixa compatibilidade sexual entre a população nativa e a população mutante.

Palavras-chave: Técnica do Inseto Estéril. Mosca-das-frutas sul americana. *Anastrepha fraterculus*

6.2 INTRODUÇÃO

A TIE - Técnica do Inseto Estéril (Sterile Insect Technique - S.I.T.) é considerado um tipo de controle biológico autocida ou genético, onde a praga é empregada para seu próprio controle, pois insetos estéreis competem no processo de acasalamento com os selvagens férteis e conseqüentemente causando, gradativamente, uma redução populacional, podendo chegar até a uma erradicação (KNIPLING, 1955).

A TIE é utilizada em vários países para o controle, supressão e até mesmo erradicação de pragas da agricultura, pecuária e saúde pública. A introdução desta técnica no controle de pragas contribuiu para o desenvolvimento e até mesmo à criação de novas áreas entomológicas tais como a de criação de insetos em meios artificiais (produção massal), ecologia e simulação populacional, controle de qualidade, radioentomologia, dentre outras (WALDER, 2000). A técnica é considerada como um dos mais significativos eventos do século XX na área entomológica, juntamente com o isolamento e uso do patógeno *Bacillus thuringiensis* e a descoberta do inseticida DDT (RIDGWAY et al., 1992), sendo uma técnica consagrada e difundida pelos muitos exemplos de sucesso obtidos (KLASSEN et al., 1994).

Esta expansão de uso tem provado sucesso em proteger áreas de produção contra a infestação da mosca-do-mediterrâneo e embargos de bilhões de dólares em programas de exportação. A TIE para moscas-das-frutas é usada para minimizar o emprego contínuo de inseticidas, proteger o ambiente e se adequar aos padrões de segurança alimentar. Há biofábricas em operação na Argentina, Chile, Peru, Guatemala, México, Estados Unidos (Texas, Havaí), Portugal (Ilha da Madeira), África do Sul, Tailândia, Espanha (KLASSEN; CURTIS, 2005) e Brasil (MOSCAMED, 2006).

O presente trabalho teve como objetivo verificar a atividade e a competição da população de *A. fraterculus* nativa com a população mutante (olhos claros) na dose de 40Gy, a competição

foi avaliada através do acasalamento entres as populações, verificando a fertilidade e viabilidade dos ovos e índices de performance de acasalamento.

6.3 MATERIAL E MÉTODOS

6.3.1 Localização do experimento

O experimento foi realizado no ano de 2018, no Laboratório de Entomologia da Embrapa Uva e Vinho, Estação Experimental de Fruticultura de Clima Temperado (EEFCT), de Vacaria, RS. Este foi conduzido em gaiolas de tela (2x2x2 m) com entrada fechada, dentro de uma casa de vegetação, no centro de cada gaiola foram colocados ramos de *Ligustrum lucidum* (1,9 m de altura e copa com 1,1 m de diâmetro) fornecendo às moscas superfícies para atividades e acasalamento. As temperaturas durante o experimento foram as 08 horas da manhã de 18°C e as 12 horas de 28°C, sendo assim as condições de temperatura foram muito próximas as do campo em todos os dias do experimento. A criação das populações foi realizada em sala climatizada a $25 \pm 1^\circ\text{C}$, $70 \pm 10\%$ de UR e 14 horas de fotofase.

6.3.2 Populações avaliadas

Foram utilizadas duas populações provenientes da criação artificial da Estação Experimental da Embrapa Uva e Vinho, em Vacaria-RS.

A primeira população foi chamada de nativa (Figura 01-A), sendo que a criação da mesma é realizada em gaiolas com paredes de acrílico e com cobertura de tecido do tipo voil. Sobre o tecido são depositados painéis de oviposição de 7 cm de diâmetro, confeccionado com tecido do tipo voil emborrachado com silicone preto, contendo água destilada no seu interior, onde são obtidos os ovos e para que os mesmos não desidratem. Os ovos foram coletados diariamente e colocados em papel filtro, por 48 a 72 horas a uma temperatura de 25°C e 70% de UR do ar. Após este período as larvas foram colocadas em dieta proposta pelo pesquisador Dr. Adalécio Kovaleski (dados não publicados), a qual é composta por 50g - levedura de cerveja, 1,8g - benzoato, 2gr - nipagim, 600ml - água, 6gr - ácido cítrico, 300gr - farinha de milho e 30gr - açúcar cristal, para desenvolvimento larval. Os adultos foram alimentados com dieta sólida (açúcar, gérmen de trigo e proteína hidrolisada na proporção de 3:1:1), açúcar e água. Os insetos para o início desta criação foram coletados de frutos infestados de goiaba-serrana (*Acca sellowiana*) e guabiroba

(*Campomanesia xanthocarpa*) no ano de 2010 e, desde então, são adicionados anualmente machos coletados do campo de frutos de goiaba-serrana (*Acca sellowiana*).

A segunda população utilizada (Figura 02-B) formada pelo cruzamento entre a população nativa com a população mutante de olhos claros, esta última população foi localizada no ano de 2010 pelo Dr. Adalécio Kovaleski – pesquisador EMBRAPA – Vacaria – RS. Foram localizadas três espécimes de mosca-das-frutas com o olho claro dentre as moscas da criação de manutenção da Estação Experimental da Embrapa Uva e Vinho, desde então estão sendo criadas na estação da Embrapa com o objetivo de manter e estudar a população mutante de olhos claros. Os cruzamentos foram feitos entre o macho nativo e a fêmea mutante e o seu recíproco, as F1 destes cruzamentos foram cruzadas entre si e na F2 foram selecionadas as de olhos claros e criadas para aumento de população e execução deste experimento, as quais, foram chamadas de “Mutantes” (Figura 03).

Figura 2 - Coloração dos olhos das moscas, A) Nativa; B) Mutante.



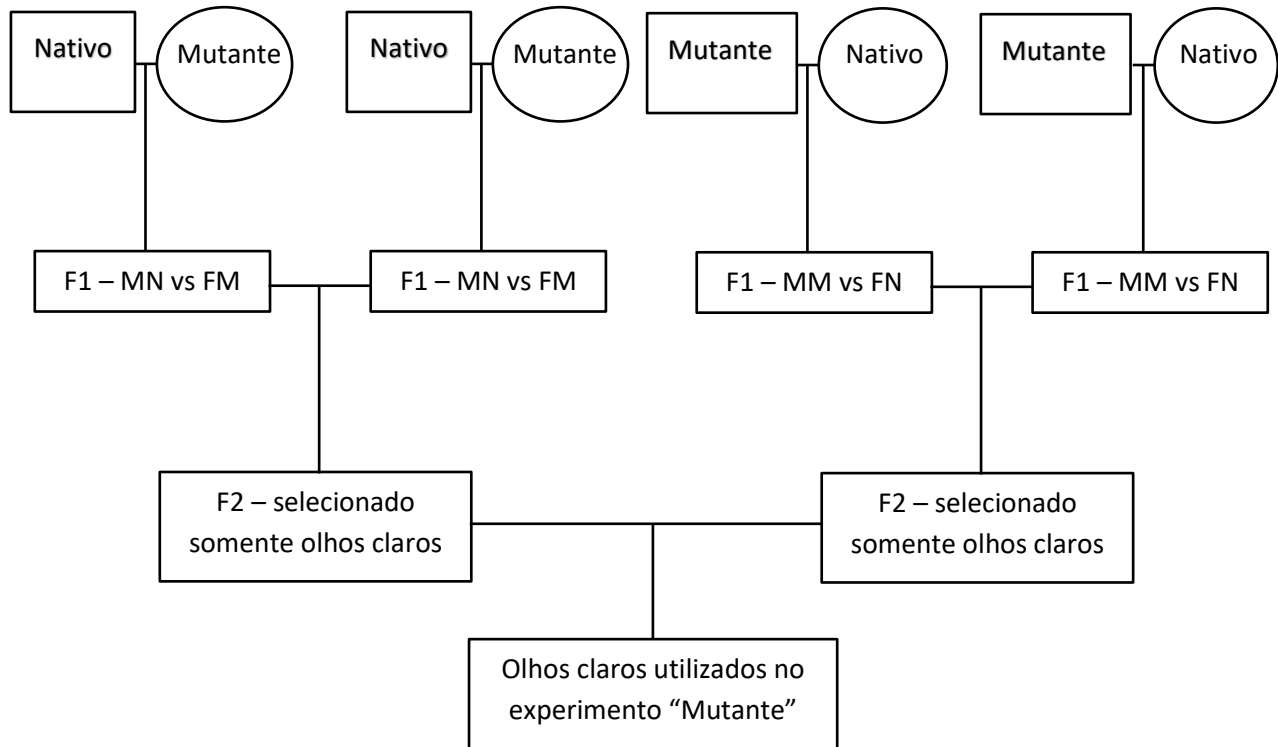
A)



B)

Fonte: Foto tirada pelo autor, 2018

Figura 3 - Organograma dos cruzamentos para obtenção da população mutante.



Fonte: Elaborado pelo autor 2018.

6.3.2.1 Fonte de radiação

A fonte de radiação gama foi um irradiador de Co-60 (Gammabeam-650) localizado no Laboratório de Radioentomologia do CENA/USP (Figura 04).

6.3.2.2 Efeito da irradiação sobre a fertilidade

Para *A. fraterculus* a melhor idade é de 48 horas antes da emergência pois seus resultados não indicam diferenças na porcentagem de eclosão entre ovos de indivíduos irradiados em diferentes idades dentro do intervalo de 24 a 96 horas antes da emergência (Allinghi et al, 2007).

A aplicação da radiação feita em pupas 24 a 48 horas antes da emergência dos adultos quando a metamorfose está quase concluída, tem os efeitos prejudiciais minimizados nos órgãos com baixa taxa metabólica.

Figura 4 - Irradiador Gammabeam 650 do CENA/USP



Fonte: Foto tirada por Aline Cristiane Kamiya.

Vários autores estudando outras espécies de tefritídeos como Velasco; Enkerlin, (1982); Hooper, (1972); Walder; Calkins, (1993); Toledo, (1993) concluíram que pupas irradiadas 24 a 48 horas antes da emergência apresentam alto nível de esterilidade. Devido a estes estudos, as pupas utilizadas neste experimento foram irradiadas 48 horas antes da emergência dos adultos.

As pupas foram irradiadas na dose de 40 Gy com base no trabalho de Mastrangelo et al, (2018), onde esta dosagem apresentou a maior esterilidade com o menor efeito sobre o comportamento das moscas-das-frutas. Após serem irradiadas as pupas foram colocadas em uma gaiola contendo água e alimento (açúcar, gérmen de trigo e proteína hidrolisada, na proporção de 3:1:1), após a emergência os adultos eram sexados e separados dentro das primeiras horas, para evitar o acasalamento dos mesmos, mantidas em sala climatizada a $25 \pm 1^\circ\text{C}$, $70 \pm 10\%$ de UR e

14 horas de fotofase. Aproximadamente 24 horas antes do teste de gaiolas a campo, as moscas foram marcadas individualmente de acordo com o seu tipo, colocando-as dentro de uma rede anti-mosquito e aplicando-se um pequeno ponto de tinta na superfície dorsal do tórax com auxílio de um pincel (FAO/IAEA/USDA, 2014). Na manhã do teste aproximadamente 1 hora antes do início, as moscas foram retiradas da sala climatizada e colocadas em temperatura ambiente para sua ambientação.

6.3.3 Testes nas gaiolas de semi-campo

Os testes de gaiolas de semi-campo foram realizados em quatro gaiolas de 2x2x2 metros com entrada fechada (Figura 05) dentro de uma casa de vegetação, em condições de umidade e temperatura próxima as do campo, as populações foram avaliadas de duas em duas. Em cada gaiola às 08:00 horas da manhã foram soltos 25 machos de cada população e após 15 minutos foram soltas as fêmeas também em número de 25 por população analisada, os casais nas gaiolas de campo foram acompanhados até as 12:00 horas.

Os casais em cópula foram coletados em tubo de ensaio tampados com algodão, onde foram anotados o número do casal, o horário do início e final da cópula e a configuração do casal (macho e fêmea – nativo estéril ou não, mutante estéril ou não). Os casais de mesma configuração de acasalamento foram transferidos para gaiolas (potes plásticos de 500 ml), com tecido voil na parte superior, onde foram colocados os painéis de oviposição formado por tecido voil emborrachado com silicone preto. Os ovos foram contados, coletados e colocados sobre papel filtro em placas de Petri, a fim de verificar a fertilidade (% eclosão) destes ovos. Após 72 horas foi verificado a eclosão das larvas para verificação da fertilidade. Os dados analisados foram: tempo de cópula, tempo de latência para o primeiro acasalamento e fertilidade dos casais de mesma configuração.

Figura 5 - Gaiola para teste, localizada na estação experimental da EMBRAPA UVA E VINHO – Vacaria - RS



Fonte: Foto tirada pelo autor 2018.

6.3.4 Índices de performance de acasalamento

Dentre os parâmetros avaliados a porcentagem de acasalamento, foi verificada através da quantidade que ocorreram em comparação com cópulas possíveis. O Índice de Isolamento Sexual (ISI, Index of Sexual Isolation) foi calculado pela seguinte fórmula - $ISI = [(\sigma^{\text{A}}\text{♀}^{\text{A}} + \sigma^{\text{B}}\text{♀}^{\text{B}}) - (\sigma^{\text{A}}\text{♀}^{\text{B}} + \sigma^{\text{B}}\text{♀}^{\text{A}})] / (\text{total de acasalamentos})$, este índice calcula mediante a razão da diferença entre o número de acasalamentos homotípicos e heterotípicos pelo número total de acasalamentos. Esse índice considera o número de casais obtidos para cada combinação possível, com valores variando de -1 (todos os acasalamentos são com membros da população oposta), passando por 0 (acasalamentos ao acaso) e indo até +1 (total isolamento entre as duas populações) (Mastrangelo, 2008).

As performances dos machos e das fêmeas foram medidas pelos índices MRPI (Male Relative Performance Index) = $[(\sigma^{\text{A}}\text{♀B} + \sigma^{\text{A}}\text{♀A}) - (\sigma^{\text{B}}\text{♀A} + \sigma^{\text{B}}\text{♀B})]/(\text{total de acasalamentos})$ e FRPI (Female Relative Performance Index) = $[(\sigma^{\text{B}}\text{♀A} + \sigma^{\text{A}}\text{♀A}) - (\sigma^{\text{A}}\text{♀B} + \sigma^{\text{B}}\text{♀B})]/(\text{total de acasalamentos})$, respectivamente. Esses índices demonstram a performance relativa para cada sexo, através da medida relativa da propensão de acasalamento de machos e fêmeas de uma população versus machos e fêmeas da outra. Este índice também varia entre -1 a +1. Sendo seus valores de -1 (indica que todos os acasalamentos foram feitos pelos machos mutantes irradiados ou não irradiados) a +1 (todos os casais foram formados pelos machos nativos irradiados ou não irradiados). Zero indica que machos ou fêmeas de ambas as populações participaram igualmente nos acasalamentos. Juntos, ISI, MRPI e FRPI, proveem uma visão global da realidade da compatibilidade entre duas populações testadas.

6.3.5 Análise estatística

Os dados foram analisados pelo teste F para análise de variância ($p < 0,01$) e pelo teste de Tukey para diferenciar as médias. As análises foram efetuadas através do programa estatístico SAS.

6.4 RESULTADOS E DISCUSSÕES

6.4.1 Latência para o primeiro acasalamento e duração de cópula

Na tabela 10 estão descritos os testes feitos por dia, o terceiro não está descrito, pois, neste dia os casais testados foram mutante não irradiada com mutante irradiada, no qual não ocorreu nenhum acasalamento. Nos outros dias em que se utilizou umas das populações mutante irradiada ou não, notou-se que a maioria dos insetos desta população se encontravam no chão da gaiola, enquanto que a população nativa irradiada ou não se encontravam na planta ou no telado da gaiola. Este comportamento pode ser explicado devido ao fato que a população mutante apresenta problemas de visão, Yamada & Selivon (2001) observaram rupturas do padrão omatidial normal nos olhos de indivíduos de olhos claros, dois tipos de alterações foram observados através de um microscópio eletrônico de varredura, na totalidade de indivíduos foram verificados trechos curtos de uma a duas fileiras de omatídeos que estavam desalinhados, e em 5% dos indivíduos avaliados foi verificado adicionalmente aumento de um único omatídio. Já na população nativa foi verificado

aproximadamente 1% de omatídeos desalinhados e nenhum caso de aumento no tamanho do omatídeo.

A diferença estatística somente ocorreu para os diferentes dias de cruzamento, não ocorrendo diferença entre as latências de cruzamentos no mesmo dia de experimentação. Nos cruzamentos testados, a latência (período de tempo entre a soltura das fêmeas nas gaiolas e o primeiro acasalamento) do cruzamento entre macho da população nativa irradiada com fêmea da população mutante irradiada (61,33 minutos), (Tabela 09) diferiu do cruzamento homótipo da população nativa não irradiada no dia 2 (3,67 minutos) e no dia 4 (3 minutos), diferiu também de todos os cruzamentos do dia 6 com homótipo de Nativa Irradiada (8,75 minutos), com homótipo da população nativa não irradiada (3,5 minutos), e com heterótipo macho nativo não irradiado com fêmea nativa irradiada (6,75 minutos) e com heterótipo macho nativo irradiado com fêmea nativa não irradiada (4,5 minutos). Os valores de latência onde o cruzamento ocorreu com mosca mutante irradiada ou não, apresentaram-se acima de 10 minutos. A latência nos casais homótipos de nativa não irradiada (“N – N”) foram menores que os observados em casais homótipos de nativa irradiada (“I – I”) apesar de não diferirem estatisticamente. Dias (2012) testando combinações de acasalamento utilizando a população de *A. fraterculus* da região de Vacaria – RS com outras de diferentes regiões observou-se valores de latência muito próximos aos encontrados no presente estudo.

Tabela 09: Valores médios de latência (tempo para o primeiro acasalamento), em diferentes cruzamentos de *A. fraterculus* (DIPTERA: TEPHRITIDAE).

Dia	População testada (♂ - ♀)		5° Dia I – MI ¹ 61,33
2°	³ N – N	¹ 3,67	² 0,0281*
4°	N – N	3,00	0,0254*
6°	N – I	6,75	0,0254*
	I – N	4,50	0,0177*
	N – N	3,50	0,0150*
	I – I	8,75	0,0348*

Fonte: Elaborada pelo autor, 2018.

NOTAS: * Significativo pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro.

¹ Valor médio de latência (tempo para o primeiro acasalamento)

² Probabilidade de significância.

³ (N) Nativa não irradiada, (I) Nativa irradiada e (MI) Mutante irradiada

Tabela 10: Valores das médias de latência (tempo para o primeiro acasalamento) e duração de cópula média (número de casais) para as diferentes configurações de cruzamentos entre as populações de *A. fraterculus* (DIPTERA: TEPHRITIDAE) testadas.

Dia	População testada – Idade	Casal	Latência	Duração Cópula
		(♂ - ♀)	(Minutos)	(Minutos)
1	Nativa Irradiada (I) – 9 dias	I – I	17,00	59,13 (38)
	Mutante Não Irradiada (MN) – 9 dias	I – MN	30,00	81,00 (1)
2	Nativa Não Irradiada (N) – 10 dias	N – MN	22,00	65,67 (3)
	Mutante Não Irradiada (MN) – 10 dias	N – N	3,67	67,13 (58)
4*	Nativa Não Irradiada (N) – 11 dias	N – MI	10,00	59,67 (3)
	Mutante Irradiada (MI) – 12 dias	N – N	3,00	82,04 (56)
	Mutante Irradiada (MI) – 12 dias	MI – MI	75,00	70,00 (1)
5	Nativa Irradiada (I) – 12 dias	I – MI	61,33	67,00 (5)
	Mutante Irradiada (MI) – 13 dias	I – I	11,67	87,71 (52)
6	Nativa Não Irradiada (N) – 14 dias	N – I	6,75	85,53 (34)
	Nativa Não Irradiada (N) – 14 dias	I – N	4,50	87,27 (33)
	Nativa Irradiada (I) – 14 dias	N – N	3,50	100,11 (45)
	Nativa Irradiada (I) – 14 dias	I – I	8,75	90,81 (37)

Fonte: Elaborada pelo autor, 2018.

NOTA: * No terceiro dia do experimento foi entre as populações Mutante Não Irradiada (MN) – 11 dias e Mutante Irradiada (MI) – 11 dias, mas não ocorreu acasalamento.

As diferenças entre duração da cópula e a latência apresentaram diferença entre os dias de cruzamento, e não apresentaram diferença entre os casais das populações testadas no mesmo dia. A diferença na duração da cópula (Tabela 12) ocorreu do cruzamento homótipos de nativa irradiada (59,13 minutos) do dia 1, com o cruzamento homótipos de nativa irradiada (87,71 minutos) do dia 5, e com os cruzamentos do dia 6, sendo eles nativa não irradiada com nativa irradiada (85,53 minutos) homótipos de nativa não irradiada (100,11 minutos) e homótipos de nativa irradiada (90,81 minutos). Também ocorreu diferença significativa entre o cruzamento homótipos de nativa não irradiada (67,14 minutos) do dia 2 com o cruzamento homótipos de nativa não irradiada (100,11 minutos) do dia 6. Dias (2012) em cruzamentos com a população Vacaria verificou muito próximos ao encontrado no presente.

No presente estudo, mesmo não ocorrendo diferença significativa, observa-se o aumento na duração da cópula com o aumento da idade das moscas (Tabela 11).

Tabela 11: Aumento na duração da cópula nos cruzamentos homótipos de nativa irradiada (I – I) e homótipos de nativa não irradiada (N – N) com o aumento da idade das moscas.

Cruzamento I – I		Cruzamento N – N	
Idade (dias)	Duração cópula	Idade (dias)	Duração cópula
9	59,13 a	10	67,13 a
12	87,71 b	11	82,04 ab
14	90,81 b	14	100,11 b

Fonte: Elaborada pelo autor, 2018.

NOTAS: * Valores seguidos pela mesma letra na coluna não diferiram pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro.

Tabela 12: Valores médios de duração da cópula em minutos dos diferentes cruzamentos.

Dia	População testada (♂ - ♀)	5º Dia I – I	6º Dia			
			N – I	N – N	I – I	
		¹ 87,71	85,53	100,11	90,81	
1º	³ I – I	¹ 59,13	² 0,0047*	0,0466*	<,0001*	0,0032*
2º	N – N	67,14		<,0001*	0,0438*	

Fonte: Elaborada pelo autor, 2018.

NOTAS: * Significativo pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro.

¹ Valores médios de duração da cópula

² Probabilidade de significância.

³ (I) Nativa irradiada, (N) Nativa não irradiada

6.4.2 Número de ovos por dia (fecundidade) e porcentagem de eclosão dos ovos

A fecundidade foi afetada pela irradiação na população nativa, diminuindo a fecundidade e a porcentagem de eclosão dos ovos. O número de ovos foi maior em todos os dias que se obteve a configuração de acasalamento nativa não irradiada e em um caso na configuração de acasalamento nativa irradiada com nativa não irradiada. Neste último caso o macho não foi esterilizado pela irradiação (Tabela 13).

A população mutante configurou cinco tipos de acasalamento (I – MN; N – MN; N – MI; MI – MI e I – MI) durante o experimento, e somente na configuração do cruzamento de nativa não irradiada com mutante irradiada ocorreu a postura, neste caso, demonstrando que a irradiação não foi eficiente na esterilização das fêmeas da população mutante.

Tabela 13: Número médio de ovos por dia por gaiola nos diferentes cruzamentos.

Dia	População testada (♂ - ♀)	2°	5°	6°
		N – N ¹ 41,31	I – I 6,14	I – N 37,96
1°	³ I – I	¹ 9,20	² 0,0234*	
2°	N – N	41,31	0,0009*	
5°	I – I	6,14		0,0081*

Fonte: Elaborada pelo autor, 2018.

NOTAS: * Significativo pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade erro.

¹ Valor da media do número médio de ovos por dia por gaiola

² Probabilidade de significância.

³ (I) Nativa irradiada, (N) Nativa não irradiada

As configurações de acasalamento homótipos de nativa não irradiada apresentaram porcentagem de eclosão acima de 90% (Tabela 14). A configuração de acasalamento que apresentou no macho ou na fêmea uma população irradiada, ocorreu com redução na porcentagem de eclosão dos ovos. No experimento do dia 6 a configuração de homótipos de nativa não irradiada (0,9181) não diferiu na porcentagem de eclosão dos ovos da configuração homótipos de nativa irradiada (0,6667), mas diferiu das duas outras configurações, nativa não irradiada com nativa irradiada (0,3158) e nativa irradiada com nativa não irradiada (0,2434). Em todos os outros dias de experimento a configuração homótipos de nativa não irradiada diferiu estatisticamente da configuração homótipos de nativa irradiada na porcentagem de eclosão dos ovos.

Segundo Mastrangelo et al (2018), a dose de 40 Gy foi eficiente na esterilização de *A. fraterculus*, já no presente trabalho a dose não foi efetiva na esterilização, porém a mesma teve como efeito a diminuição da porcentagem de eclosão dos ovos. Esta diferença pode ter ocorrido devido a dois fatores, populações diferentes e dietas diferentes, as quais podem originar moscas com diferentes níveis de lipídeos, aumentando a camada protetora do inseto, fazendo com que a irradiação seja menos eficiente.

Tabela 14: Porcentagem média de eclosão dos ovos nos diferentes cruzamentos.

População		1° Dia	2° Dia	4° Dia	5° Dia	6° Dia	
Dia	testada (♂ - ♀)	I - I	N - N	N - N	I - I	N - I	I - N
		¹ 0,1108	0,9278	0,9216	0,7162	0,3157	0,2434
2°	³ N - N	¹ 0,9278	² <,0001*				
4°	N - MI	0,6667	0,0304*				
	N - N	0,9216	<,0001*				
5°	I - I	0,7162	<,0001*	0,0269*	0,0389*		
	N - I	0,3158		<,0001*	<,0001*	0,0003*	
6°	I - N	0,2434		<,0001*	<,0001*	<,0001*	
	N - N	0,9181	<,0001*			<,0001*	<,0001*
	I - I	0,6667	0,0042*				0,0338*

Fonte: Elaborada pelo autor, 2018.

NOTAS: * Significativo pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro.

¹ Valor da média da porcentagem de eclosão dos ovos

² Probabilidade de significância.

³ (N) Nativa não irradiada, (I) Nativa irradiada e (MI) Mutante irradiada

6.4.3 Índices de performance de acasalamento

A porcentagem de acasalamento foi de 74,5 % (Tabela 15) quando se teve acasalamento de mosca nativa irradiada e não irradiada, sendo este valor muito próximo ao encontrado por Dias, (2012) quando testou o acasalamento entre as populações de Bento Gonçalves (RS), Vacaria (RS) e São Joaquim (SC). As menores porcentagens de acasalamento encontradas por Dias (2012) foram entre as populações de Pelotas (RS) vs Bento Gonçalves (RS) e Piracicaba (SP) vs São Joaquim (SC), com valores de 56,3 e 55,6%, respectivamente. Nos acasalamentos entre a população nativa não irradiada com mutante irradiada e não irradiada, apresentou 40,0 e 40,7% de porcentagem de acasalamento, respectivamente. Quando os cruzamentos foram com a nativa irradiada os valores foram inferiores, de 26% com a mutante não irradiada e 38,5% com a mutante irradiada. Estes dados demonstram que a irradiação diminui a capacidade de acasalamento da população.

O índice de isolamento reprodutivo ficou próximo a 1,0 (Tabela 15), nos cruzamentos entre nativa irradiada e não irradiada com mutante irradiada e não irradiada, o que demonstra que ocorreram acasalamentos dentro da mesma população (população nativa irradiada e não irradiada), demonstrando o isolamento reprodutivo entre a nativa e a mutante irradiadas ou não irradiadas. Segundo Dias (2012) o ISI apresentou dados próximos a 0,5, onde os cruzamentos foram feitos entre a população Piracicaba (SP) vs Bento Gonçalves (RS), Vacaria (RS) vs São Joaquim (SC), demonstrando a menor compatibilidade sexual entre estas populações, ou seja, menor isolamento reprodutivo. O cruzamento entre a população nativa irradiada e não irradiada apresentou valor próximo a zero, indicando acasalamentos aleatórios, sendo este valor muito próximo ao encontrado por Dias (2012) para os acasalamentos entre as populações do sul que foram testadas, e também por Nunes (2016) obtiveram valores próximos a zero testando *A. fraterculus* nativa irradiada e não irradiada. Em estudo de Mastrangelo (2009) com irradiação através de raios-X (ISI – 0,0058) e gama (ISI – 0,063) o ISI também verificaram valores próximos a zero, demonstrando a esterelização de *A. fraterculus* através da utilização de raios-X e gama não afetam a compatibilidade sexual entre a população irradiada e não irradiada.

O índice de performance do macho e da fêmea, apresentaram valores próximos a 1,0 (Tabela: 15) quando os cruzamentos foram entre as nativas irradiadas e não irradiadas com mutantes irradiadas ou não irradiadas, demonstrando que a maioria dos acasalamentos foram feitos pelos machos e fêmeas das populações nativa irradiada e não irradiada. O número de cruzamentos com mutantes irradiadas e não irradiadas foram poucos, sendo 12 cruzamentos com mutante fêmea e somente um acasalamento com macho e fêmea mutante, sendo que em todo o experimento ocorreram 366 acasalamentos.

Tabela 15: Compatibilidade sexual de populações de *A. fraterculus* (DIPTERA: TEPHRITIDAE), verificadas pelas cópulas obtidas e avaliada através dos índices de performance de acasalamento.

Populações Testadas	PA ¹	ISI ²	MRPI ³	FRPI ⁴
⁵ I – MN	26,0	0,95	1,00	0,95
N – MN	40,7	0,90	1,00	0,90
N – MI	40,0	0,90	0,97	0,87
I – MI	38,5	0,82	1,00	0,82
N - I	74,5	0,10	0,06	0,06

Fonte: Elaborada pelo autor, 2018.

NOTA:¹ Porcentagem de acasalamento = (número de cópulas obtidas/número total de cópulas) x 100

² Index of Sexual Isolation (índice de isolamento sexual)

$ISI = [(\♂A♀A + \♂B♀B) - (\♂A♀B + \♂B♀A)] / (\text{total de acasalamentos})$

³ Male Relative Performance Index (índice de performance relativa do macho)

$MRPI = [(\♂A♀B + \♂A♀A) - (\♂B♀A + \♂B♀B)] / (\text{total de acasalamentos})$

⁴ Female Relative Performance Index (índice de performance relativa da fêmea)

$FRPI = [(\♂B♀A + \♂A♀A) - (\♂A♀B + \♂B♀B)] / (\text{total de acasalamentos})$

⁵ (N) Nativa não irradiada, (I) Nativa Irradiada, (MN) Mutante não irradiada e (MI) Mutante Irradiada

O índice de performance de macho (MRPI) e fêmeas (FRPI) do cruzamento de nativa não irradiada com nativa irradiada, apresentaram valores próximos a zero (0,06) (Tabela: 15), demonstrando que machos e fêmeas das duas populações participaram igualmente dos acasalamentos. Valores semelhantes aos de Dias (2012) que obtiveram variação de -0,03 a 0,11 nos cruzamentos de compatibilidade entre populações originárias da região Sul do Brasil. Mastrangelo (2009) também apresentou resultados próximos a zero (MRPI = -0,2 a -0,043; FRPI = -0,11 a 0,079) no estudo da irradiação através de raios-X (MRPI = -0,2; FRPI = -0,11) e gama (MRPI = -0,043; FRPI = 0,079) para utilização na irradiação esterelizante em *A. fraterculus*.

6.5 CONCLUSÕES

- A irradiação na dose de 40 Gy não foi 100% efetiva na esterilização das moscas, onde ocorreu redução na quantidade de ovos e na porcentagem de eclosão dos ovos, mas não ocorreu esterilização total das moscas.
- As populações mutantes irradiadas e não irradiadas não produziram ovos, com exceção no cruzamento entre a população nativa não irradiada com a mutante irradiada.
- A população mutante demonstrou pequena a nenhuma atividade de cópula nos experimentos em gaiolas, demonstrando sua baixa competição sexual, não podendo ser usada na TIE.
- A população mutante está isolada reprodutivamente da população nativa.

7. CONSIDERAÇÕES FINAIS

As populações de *A. fraterculus* de olhos claros e normal apresentaram diferenças em alguns parâmetros biológicos avaliados, sendo que a população de olhos claros apresentou maior longevidade, maior período de pré-oviposição.

O resultado que mais chamou atenção foi a verificação da possibilidade de utilização da mosca de olhos claros na multiplicação de parasitoides, devido o menor tempo de crescimento entre ovo e larva, favorecendo sua utilização através do fornecimento de larvas com menor tempo e custo de produção.

A mosca-das-frutas sul americana que apresenta cor de olho claro não possui capacidade para utilização como marcador fenotípico em moscas esterilizadas para utilização na Técnica do Inseto Estéril (TIE) devido a mesma possuir baixa capacidade de competição com a mosca nativa, isto foi verificado através do experimento de acasalamento em gaiolas. As moscas mutantes irradiadas e não irradiadas quando colocadas nas gaiolas ficavam no chão da gaiola, sendo que nos acasalamentos que ocorreram com mosca dos olhos claros ocorreram com exceção de uma vez, sempre com a fêmea, demonstrando que os machos desta população são menos ativos. Esta menor competição das moscas de olhos claros pode ser devido a problema nos omatídeos que causa problema na visão das mesmas diminuindo assim sua atividade.

A dose de irradiação utilizada deve ser verificada novamente devido a baixa eficiência de esterilização que a dose de 40 Gy apresentou em ambas as populações, deve-se testar doses maiores de irradiação para verificação da dose mais eficiente e que venha a causar menores problemas morfofisiológicos nas moscas.

O índice de isolamento reprodutivo demonstrou que as duas populações apresentam isolamento reprodutivo, o qual, também pode ser explicado pelos problemas nos olhos apresentados pela mosca de olhos claros.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADAMUCHIO, J. G.; SHUBER, J. M.; CARDOSO, N. A.; PASTORI, P. L.; POLTRONIERI, A. S. **Influência da cor em armadilhas modelo McPhail para atração de mosca-das-frutas em pomares de pessegueiro**. *Caatinga*, v.21, n.3, p.124-127,2008.
- ALLINGHI, A.; CALCAGNO, G.; PETIT-MARTY, N.; CENDRA, P.G.; SEGURA, D.; VERA, T.; CLADERA, J.; GRAMAJO, C.; WILLINK, E.; VILARDI, J.C. Compatibility and competitiveness of a laboratory strain of *Anastrepha fraterculus* (DIPTERA: *TEPHRITIDAE*) after irradiation treatment. **Florida Entomologist**, Gainesville, v. 90, n. 1, p.27-32, 2007.
- ALUJA, M. Bionomics and management of *Anastrepha*. **Annual Review of Entomology**, v. 39, n. 1, p.155-178, 1994.
- AZEVEDO, F. R.; GURGEL, L. S.; SANTOS, M. L. L.; SILVA, F. B.; MOURA, M. A. R.; NERE, D. R. Eficácia de armadilhas e atrativos alimentares alternativos na captura de moscas-das-frutas em pomar de goiaba. **Arquivos do Instituto Biológico**, v.79, n.3, p.343-352, 2012.
- BAKRI, A., HEATHER, N., HENDRICH, J., AND FERRIS, I., Fifty Years of Radiation Biology in Entomology: Lessons Learned from IDIDAS, **Annals of the Entomological Society of America** 98(1):1-12. 2005.
- BISOGNIN, M.; NAVA, D.E.; LISBÔA, H.; BISOGNIN, A.Z.; GARCIA, M.S.; VALGAS, R.A.; DIEZ-RODRÍGUEZ, G.I.; BOTTON, M.; ANTUNES, L.E.C. Biologia da mosca-das-frutas sul-americana em frutos de mirtilo, amoreira-preta, araçazeiro e pitangueira. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.48, p.141-147, 2013. DOI: 10.1590/S0100-204X2013000200003
- BÖCKMANN, E.; KÖPPLER, K. HUMMEL, E. VOGT, H. Bait spray for control of european cherry fruit fly: na appraisal based on semi-field and field studies. **Pest Management Science**, v.70, p.502-509. 2014.
- BORGES, R.; MACHOTA JR, R.; BOFF, M.I.C.; BOTTON, M. Efeito de iscas tóxicas sobre *Anastrepha fraterculus* (Wiedemann) (DIPTERA: *TEPHRITIDAE*). **Bioassay**, v.10, n.3, 2015.
- BORTOLI, L. C., **Interações tritróficas entre moscas-das-frutas (DIPTERA: *TEPHRITIDAE*), seus hospedeiros e parasitoides (Hymenoptera) e avaliação de atrativos para monitoramento na Região da Serra Gaúcha**, RS. 90p. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação em Fitossanidade. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas. 2014.
- BOTTON, M. et al. Novas alternativas para o monitoramento e controle de *Anastrepha fraterculus* (Wiedmann, 1830) (DIPTERA: *TEPHRITIDAE*) em fruteiras temperadas. In: ENCONTRO NACIONAL DE FRUTICULTURA DE CLIMA TEMPERADO, 6., 2003, Fraiburgo. **Anais...** Caçador: Epagri, p. 163-170, 2003.
- BOTTON, M. et al. Recomendações para o monitoramento da mosca-das-frutas sul americana e da mariposa oriental na produção integrada do pêssego. Pelotas: UFPel, **Circular Técnica 1**, 2005

BOTTON, M.; NAVA, D. E.; ARIOLI, C. J.; GRÜTZMACHER, A. D.; ROSA, J. M. da; MACHOTA JR., R.; Borges, R. Supressão necessária. **Cultivar Hortaliças e Frutas**, p.10-13, 2014.

BOTTON, M.; ARIOLI, C. J.; MACHOTA-JÚNIOR, R.; NUNES, M. Z.; ROSA, J. M. Moscas-das-frutas na fruticultura de clima temperado: situação atual e perspectivas de controle através do emprego de novas formulações de iscas tóxicas e da captura massal. **Agropecuária Catarinense**, v.29, p. 103-107, 2016.

BRANCO, E. S. **Resistência de genótipos de macieira à mosca-das-frutas *Anastrepha fraterculus* (Wied., 1830) (DIPTERA: TEPHRITIDAE)**. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação em Ciências, Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 119p, 1998.

BRESSAN, S.; TELES, M. M. C.; CARVAJAL, S. S. R. Influência das cores e formas das armadilhas na captura de *Anastrepha spp.* (DIPTERA: TEPHRITIDAE) em condições naturais. Londrina, **Anais da Sociedade de Entomologia do Brasil**, v.20, n.1, p.18-26, 1991.

CANAL, N.A.; ZUCCHI, R.A. Parasitóides Braconidae. In MALAVASI, A.; ZUCCHI, A. **Moscas-das-frutas de importância econômica no Brasil, Conhecimento básico e aplicado**. Ribeirão Preto: Holos, 2000. p.119-126.

CARVALHO, R. S. Metodologia para monitoramento populacional de moscas-das-frutas em pomares comerciais. Cruz das Almas: Embrapa Mandioca e Fruticultura, **Circular Técnica 75**, 17 p., 2005.

CARVALHO, R. P. L. Biocontrole de moscas-das-frutas: histórico, conceitos e estratégias. **Bahia Agrícola**. Salvador, BA, v.7, n.3, p.14-17, 2006.

CAYOL, J.P., VILARDI, J., RIAL, E., VERA, M.T. New indices and method to measure the sexual compatibility and mating performance of *Ceratitidis capitata* (DIPTERA: TEPHRITIDAE) laboratory strains under field cage conditions. **Journal of Economic Entomology** 92: 140 – 145, 1999.

CRUZ, P.P., NEUTZLING, A.S., GARCIAL, F.R.M., Primeiro registro de *Trichopria anastrephae*, parasitoide de moscas-das-frutas, no Rio Grande do Sul. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.41, n.8, ago, 2011.

CTPIM – Comissão Técnica da Produção Integrada de Maçãs. Instrução Técnica **CTPIM n°023 – 2005/2006**. Junho de 2006. Disponível em: http://www.cnpuv.embrapa.br/tecnologias/pim/instrucao_ctpim_2005-2006_023.pdf Acesso em: 08 set 2018.

DE LIMA, I.S.; HOWSE, P.E.; SALLES, L.A.B. Reproductive behavior of the South American fruit fly *Anastrepha fraterculus* (DIPTERA: TEPHRITIDAE) laboratory and field studies. **Physiological Entomology**, Oxford, v. 19, p. 271–277, 1994.

DE LIMA, I. S. & HOWSE, P. E., Diurnal activity maturation of the South American fruit fly (DIPTERA: *TEPHRITIDAE*) in the laboratory. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil** 26: 299–308, 1997.

DENARDI, F.; BERTON, O.; SPENGLER, M. M. Resistência genética à podridão amarga em maçãs, determinada pela taxa de desenvolvimento da doença em frutos com e sem fermentos. **Revista Brasileira de fruticultura**, Jaboticabal, SP, v.25, n.3, p.494-497, 2003.

DIAS, V.S., **Compatibilidade de acasalamento de populações do complexo *Anastrepha fraterculus* (DIPTERA: *TEPHRITIDAE*) do Brasil**. Dissertação (Mestrado) - Instituto de Biologia da Universidade Federal da Bahia. 65p., 2012

DUARTE, A. L.; MALAVASI, A. Tratamentos quarentenários. In: MALAVASI, A.; ZUCCHI, R. A. (Ed.). **Moscas-das-frutas de importância econômica no Brasil: conhecimento básico e aplicado**. Ribeirão Preto: FAPESP-Holos. p. 187-192, 2000.

EFROM, C.F.S, **Criação de *Anastrepha fraterculus* (Wied.)(DIPTERA: *TEPHRITIDAE*) em dieta artificial e avaliação de produtos fitossanitários utilizados no sistema orgânico de produção sobre esta espécie e insetos benéficos**. Tese (Doutorado em fitotecnia), Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 98p., 2009.

ENKERLIN, W.R. Impact of fruit fly control programmes using the sterile male technique. In: Dyck, V.A.; Hen-drichs, J.; Robinson, A.S. (Eds.). **Sterile Insect Technique – Principles and practice in area-wide integrated pest management**. Houten: Springer, p.651-676, 2005.

FAO. **Glossary of phytosanitary terms**. Reference standard. Rome: FAO/IPPC, 2002. (ISPM/NIMP/NIMF, 5).

[FAO] Food and Agriculture Organization of the United Nations. JMPR–Pesticide residue data, pp. 797–871. **Food and Agriculture Organization of the United Nations**, Geneva, Switzerland, 2005.

FAO/IAEA/USDA Food and Agriculture Organization of the United Nations/International Atomic Energy Agency/United States Department of Agriculture. **Product Quality Control for Sterile Mass-Reared and Released Tephritid Fruit Flies**, Version 6.0. International Atomic Energy Agency, Vienna, Austria. 164 pp, 2014.

FLETCHER, B.S., GIANNAKAKIS, A., Sex Pheromone Production in Irradiated Males of *Dacus* (*Strumeta*) *tryoni*. **Journal of Economic Entomology**, V.66, Issue 1, 1 February 1973, Pages 62–64, 1973

FRITZ, B.; TURNER, N. Images of gambling in film. **Popular Culture Meeting**, 2002.

GARCIA, F. R. M.; CAMPOS, J. V.; CORSEUIL, E. Flutuação populacional de *Anastrepha fraterculus* (Wiedemann, 1830) (DIPTERA, *TEPHRITIDAE*) na região Oeste de Santa Catarina, Brasil. **Revista Brasileira de Entomologia**, Curitiba, v. 47, n. 3, p. 415-420, 2003.

GARCIA, F. R.; NORRBOM, A. L. Tephritoid flies (DIPTERA, *TEPHRITIDAE*) and their plant hosts from the State of Santa Catarina in Southern Brazil. **Florida Entomologist**, Gainesville, v. 94, n. 2, p. 151-157, 2011.

GILSTRAP, F.E.; HEART, W.G. **Biological control of the mediterranean fruit fly in the United States and Central America**. [S.I]: USDA, p. 1-64. (USDA -ARS, 56), 1987.

GINGRICH, R.E. Biological control of the *TEPHRITIDAE* fruit by inundative releases of natural enemies. In: ALUJA, M.; LIEDO, P. (Eds.) **Fruit flies: biology and management**. New York: Spring-Verlag, p.311-318, 1993.

GONZÁLEZ, J.B.; VARGAS, C.V.; JARA, B.P. Estudios sobre la aplicación de la técnica de machos estériles en el control de la mosca sudamericana de la fruta, *Anastrepha fraterculus* (Wied.). **Revista Peruana de Entomología**, v.14, p.66-86, 1971.

HÄRTER, W. R.; BOTTON, M.; NAVA, D. E.; GRUTZMACHER, A. D.; GONÇALVES, R. S.; JUNIOR, R. M.; BERNARDI, D.; ZANARDI, O. Z. Toxicities and Residual Effects of Toxic Baits Containing Spinosad or Malathion to Control the Adult *Anastrepha fraterculus* (DIPTERA: *TEPHRITIDAE*). **Florida Entomologist**, v. 98, n. 1, p. 202–208, 2015.

HENDRICHS, J.; ROBINSON, A. S.; CAYOL, J. P.; ERKENLIN, W. Medfly area-wide 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.

HOOPER, G. H. S. Sterilization of the Mediterranean fruit fly with gamma radiation effect on male competitiveness and change in fertility of females alternately mated with irradiated and untreated males. **Journal of Economic Entomology**, College Park, v. 65, p. 1–6, 1972.

IMPERATO, R.; RAGA, A. Técnica do Inseto Estéril. Campinas: Instituto Biológico, 2015. 16 p., **Documento Técnico 18**. Disponível em:
http://www.biologico.agricultura.sp.gov.br/docs/dt/DT_tecnica_inseto_esteril.pdf.

JALDO, H. E.; GRAMAJO, M. C.; WILLINK, E. Mass rearing of *Anastrepha fraterculus* (DIPTERA: *TEPHRITIDAE*): a preliminary strategy. **Florida Entomologist**, Gainesville, v. 84, p. 716-718, 2001.

JOACHIM-BRAVO I. S., MAGALHÃES T. C., SILVA NETO A. M. DA, GUIMARÃES A. N., NASCIMENTO A. S., Longevity and Fecundity of four species of *Anastrepha* (DIPTERA: *TEPHRITIDAE*). **Neotropical Entomology**, 32: 543-549, 2003 .

KLASSEN, W.; CURTIS, C. F. History of the sterile insect technique. In: DYCK, V. A.; HENDRICHS, J.; ROBINSON, A. S. (Ed.). **Sterile Insect Technique. Principles and practice in area-wide integrated pest management**. Dordrecht: Springer, p. 3-36, 2005.

KLASSEN, W.; LINDQUIST, D. A.; BUYCKS, E. J. Overview of the Joint FAO/IAEA Division's involvement in the fruit fly sterile insect technique programs. In: CALKINS, C. O.; KLASSE, W.;

LIEDO, P. (Ed.). **Fruit flies and the sterile insect technique**. Boca Raton: CRS Press, p. 3-26, 1994.

KNIPLING, E. F. Possibilities of insect control or eradication through the use of sexually sterile males. **Journal of Economic Entomology**, College Park, v. 48, p. 459-462, 1955.

KRAAIJEVELD, K. & T. CHAPMAN. Effects of male sterility on female remating in the Mediterranean fruit fly, *Ceratitidis capitata*. **The Royal Society**, Biology Letters 271: 209-211, 2004.

KOVALESKI, A.; RIBEIRO, L.G.; NORA, I.; HUMERES, E. 1995. Determinação da influência de atrativos alimentares na captura de *Anastrepha fraterculus* (Wied., 1830) (DIPTERA: *TEPHRITIDAE*) em macieira no RS e SC. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENTOMOLOGIA, 15., 1995, Caxambu, MG. **Resumos...** SEB, Caxambu, MG, p.606, 1995.

KOVALESKI, A. **Processos adaptativos na colonização da maçã (*Malus doméstica*) por *Anastrepha fraterculus* (WIED.) (DIPTERA: *TEPHRITIDAE*) na região de Vacaria, RS.** 122p. Tese de Doutorado, IB/USP, São Paulo, 1997.

KOVALESKI, A.; SUGAYAMA, R. L.; MALAVASI, A. Movement of *Anastrepha fraterculus* from native breeding sites into apple orchards in Southern Brazil. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, Dordrecht, v. 91, p. 457-463, 1999.

KOVALESKI, A.; SUGAYAMA, R. L.; URAMOTO, K.; MALAVASI, A. Moscas-dasfrutas nos Estados Brasileiros: Rio Grande do Sul. p.285-290. In: MALAVASI, A.; ZUCCHI, R.A. (Eds.) **Moscas-das-frutas de importância econômica no Brasil: conhecimento básico e aplicado**. Ribeirão Preto: Holos, 327p, 2000.

KOVALESKI, A.; RIBEIRO, L. G. Manejo de pragas na produção integrada de maçã. Bento Gonçalves: Embrapa Uva e Vinho. **Circular Técnica 34**, 2002.

KOVALESKI, A.; RIBEIRO, L. G. Manejo de pragas na produção integrada de maçã. In: PROTAS, J. F. S.; SANHUEZA, R. M. V. **Produção integrada de frutas: o caso da maçã no Brasil**. Bento Gonçalves: Embrapa Uva e Vinho, p. 61-76, 2003.

KOVALESKI, A.; Pragas. In: KOVALESKI, A. (ed.). **Maçã: Fitossanidade**. Bento Gonçalves: Embrapa Uva e Vinho. **Frutas do Brasil 38**, 85p, 2004.

LA BRECQUE, G. C.; SMITH, C. N. Principles of insect chemosterilization. New York: **Appleton Century Crofts**, 353 p, 1968.

LINDQUIST, D.; ENKERLIN, W. The Chile medfly programme: a review of the programme to prevent the medfly from becoming established in Chile. **Report on expert mission**. Roma: FAO, 2000 (fao tcp chi9066).

MCPHAIL, M. Protein lures for fruit flies. **Journal of Economic Entomology**, v.32, p.758-761, 1939.

MACHADO, A. E.; SALLES, L. A. B.; LOECK, A. E. Exigências térmicas de *Anastrepha fraterculus* (Wied.,) e estimativa do número de gerações anuais em Pelotas, RS. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Londrina, v. 24, n. 3, p. 573-578, 1995.

MAG/SAG Ministerio de Agricultura/Servicio Agrícola y Ganadero. 1995. **Chile: a medfly-free country**. Pamphlet. Government of Chile, Santiago, Chile.

MALAVASI, A.; MORGANTE, J. S.; ZUCCHI, R. A. Biologia de “moscas-das-frutas” (DIPTERA: *TEPHRITIDAE*). I. Lista de hospedeiros e ocorrência. **Revista Brasileira de Biologia**, Rio de Janeiro, v. 40, n. 1, p. 9-16, 1980.

MALAVASI, A.; NASCIMENTO, A. S.; CARVALHO, R. da S. Moscas-das-frutas no MIP-citros. In: SEMINÁRIO INTERNACIONAL DE CITROS, MANEJO INTEGRADO DE PRAGAS, 3., Bebedouro, **Anais...** Campinas: Fundação Cargill, p.211-231, 1994.

MALAVASI, A.; NASCIMENTO, A. S. Programa Biofábrica Moscamed Brasil. In: SIMPÓSIO DE CONTROLE BIOLÓGICO, 8., 2003, Águas de São Pedro. **Resumos...** Águas de São Pedro: SEB, p.52, 2003.

MALAVASI, A. Áreas livres ou de baixa prevalência. In: MALAVASI, A.; ZUCCHI, R. A. (Eds.). **Moscas-das-frutas de Importância Econômica no Brasil: conhecimento básico e aplicado**. Ribeirão Preto: Holos, 327p. p.175-181, 2000.

MALAVASI, A.J.S.; ZUCCHI, R.A. **Moscas-das-frutas de importância econômica no Brasil. Conhecimento básico e aplicado**. Ribeirão Preto: Holos, 320p, 2000.

MALO, E.; BAKER, P.S.; VALENZUELA, J. The abundance of species of *Anastrepha* (DIPTERA: *TEPHRITIDAE*) in the coffee producing area of coastal Chiapas, Southern Mexico. **Folia Entomologica Mexicana**, Xalapa, v. 73, p. 125-140, 1987.

MARTINS, J.C. **Aspectos biológicos de *Anastrepha fraterculus* (Wied., 1830) (DIPTERA-TEPHRITIDAE) em dieta artificial sob diferentes condições de laboratório**. p.79. Dissertação (Mestrado), Departamento de Entomologia, ESALQ/USP, Piracicaba, SP, 1986.

MASTRANGELO, T. A. **Esterilização de moscas-das-frutas (DIPTERA:TEPHRITIDAE) com raios-X para Programas de Técnica do Inseto Estéril**. 91 p. Dissertação (Mestrado) – Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2009.

MASTRANGELO T, KOVALESKI A, BOTTEON V, SCOPEL W, COSTA MDLZ. Optimization of the sterilizing doses and overflooding ratios for the South American fruit fly. PLoS ONE 13(7): e0201026. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0201026>, 2018.

MATIOLI, S.R.; MORGANTE, J.S. ; MALAVASI, A. Genetical and biochemical comparisons of alcohol dehydrogenase isozymes from *Anastrepha fraterculus* and *A. obliqua*: evidence for gene duplication. **Biochem. Genet.** 24: 13-24, 1986.

MONTEIRO, L. B.; MIO, L. L. M. de; 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, p.72-74, 2007.

MORELLI DE ANDRADE, R. **Influência da recópula de fêmeas selvagens de *Ceratitis capitata* (Wied., 1824) (DIPTERA: TEPHRITIDAE) na eficiência da técnica do inseto estéril**. 2008. 57f. Tese (Doutorado em Ciências – Área de concentração em Entomologia) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2008.

MORGANTE, J.S.; MALAVASI, A. ; PROKOPY, R.J. Mating behavior of wild *Anastrepha fraterculus* flies (DIPTERA, TEPHRITIDAE) on a caged host tree. **Florida Entomol.** 66: 234-241, 1983.

MORGANTE, J.S. Moscas-das-frutas (TEPHRITIDAE): características biológicas, detecção e controle. Brasília: SENIR, **Boletim Técnico 2**, 19 p, 1991.

MOSCAMED BRASIL. **Relatório Anual 2006**. Juazeiro, Bahia, 47 p, 2006.

MOSSINSON, S.; YUVAL, B. Regulation of sexual receptivity of female Mediterranean fruit flies: old hypotheses revisited and a new synthesis proposed. **Journal Insect Physiology**, v.49, n.6, p.561-567, 2003.

NASCIMENTO, A. S.; CARVALHO, R. S.; MALAVASI, A. Monitoramento populacional. In: MALAVASI, A. & ZUCCHI, R. A. (Eds.). **Moscas-das-frutas de Importância Econômica no Brasil: conhecimento básico e aplicado**. Ribeirão Preto: Holos, 327p. Cap. 13, p.109-112, 2000.

NAVA, D.E., BOTTON, M., Bioecologia e Controle de *Anastrepha fraterculus* e *Ceratitis capitata* em Pessegueiro. **Documento 315** – Pelotas, Embrapa Clima Temperado, 29p., 2010

NORA, I.; HICKEL, E. Controle integrado de mosca-das-frutas: manual do produtor. Florianópolis: Epagri, **Boletim didático 15**, 21 p, 1997.

NORA, I.; HICKEL, E. R.; PRANDO, H. F. Moscas-das-frutas nos estados brasileiros: Santa Catarina. In: MALAVASI, A.; ZUCCHI, R. A. (Ed). **Moscas-das-frutas de importância econômica no Brasil: conhecimento básico e aplicado**. Ribeirão Preto: Holos. cap. 40, p. 271-276, 2000.

NORA, I.; HICKEL, E. Pragas da macieira: dípteros e lepidópteros. In: EPAGRI (Ed.). **A cultura da macieira**. Florianópolis: GMC/Epagri, cap.15, p. 463-486, 2006.

NORA, I.; SUGIURA, T. Pragas da pereira. In: EPAGRI (Ed.). **Nashi, a pêra japonesa**. Florianópolis: Epagri/Jica, p. 261-321, 2001.

NORRBOM, A.L.; KIM, K.C. Revision of the schausi group of *Anastrepha schiner* (DIPTERA: TEPHRITIDAE), with a discussion of the terminology of the female terminalia in the Tephritoidea. **Annals of the Entomological Society of America**, Columbus, v. 81, n. 2, p. 164-173, 1988.

NORRBOM, A.L. **Fruit fly (DIPTERA: TEPHRITIDAE) classification and diversity.** <http://www.sel.barc.usda.gov/DIPTERA/tephriti/Tephclas.htm>.

NUNES, A.M., COSTA, K.Z, FAGGIONI, K.M, COSTA, M.L.Z, GONÇALVES, R.S, WALDER, J.M.M, GARCIA, M.M, NAVA, D.E. Dietas artificiais para a criação de larvas e adultos da mosca-das-frutas sul-americana. **Pesq. agropec. bras.**, Brasília, v.48, n.10, p.1309-1314, 2013

NUNES, G.F., KOVALESKI, A., Competitividade entre população estéril e não estéril de *Anastrepha fraterculus*, **Resumos 14º Encontro de Iniciação Científica e 10º Encontro de Pós-graduandos da Embrapa Uva e Vinho**, p.39, 2016.

ORLANDO, A. & SAMPAIO, A.S. Moscas-das-frutas. Notas sobre o reconhecimento e combate, **O Biológico**, 39:143-50, 1973.

OROZCO-DÁVILA, D.; HERNÁNDEZ, R.; MEZA, S.; DOMÍN-GUEZ, J. Sexual competitiveness and compatibility between mass-reared sterile flies and wild populations of *Anastrepha ludens* (DIPTERA: TEPHRITIDAE) from different regions in Mexico. **Florida Entomologist**, v.90, n.1., p.19-26, 2007.

ORTH, A.; RIBEIRO, L. G.; REIS FILHO, W. Manejo de pragas. In: EMPASC. (Ed.). **Manual da cultura da macieira**. Florianópolis: Empasc, p. 341-379,1986.

PAPADOPOULOS, N.T.; KATSOYANNOS, B.I.; CAREY, J.R. Demographic parameters of the Mediterranean fruit fly (DIPTERA: TEPHRITIDAE) reared in apples. **Annals of the Entomological Society of America**, v.95, p.564-569, 2002

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, 1., 2005, Petrolina. **Resumos**. Petrolina: 12p, 2005.

POGERRE, P. **Efeito de atrativos alimentares para monitoramento, flutuação populacional de adultos e efeito do dano causado por *Anastrepha fraterculus* (Weidemann, 1830) (DIPTERA:TEPHRITIDAE) em videira sobre as características físico-químicas e sensoriais do vinho Moscato Embrapa**. Monografia (Tecnóloga em Viticultura e Enologia) - Curso Superior de Viticultura e Enologia: Centro Federal de Educação Tecnológica de Bento Gonçalves, RS, 38p, 2007.

QUINTERO FONG, J. L., J. S. MEZA HERNÁNDEZ, D. OROZCO DÁVILA, M. S. FIGUEROA Y L. CRUZ-LÓPEZ. Biología y comportamiento sexual del mutante ojos amarillos de *Anastrepha ludens* (DIPTERA: TEPHRITIDAE). **Acta Zool. Mex.** (n. s.) 25(1):9-20, 2009.

RAGA, A.; SATO, M. E. Toxicity of neonicotinoids to *Ceratitis capitata* and *Anastrepha fraterculus* (DIPTERA: TEPHRITIDAE). **Journal of Plant Protection Research**, v.51, p.413-419, 2011.

RAMOS, M. S.; PÉREZ, R. H.; SUBIRACHS, J. M. C.; ORDAZ, F. N.; SANTILLÁN, J. A. T.; RIVERA, A. B.; GARCÍA, D. F. L. An environmentally friendly alternative (MS2®-CeraTrap®) for control of fruit flies in México. **Journal of Food, Agriculture & Environment**, v.9, n.3/4, p.926-927, 2011.

RIBEIRO, L.G.; KOVALESKI, A.; HUMERES, E. Distribuição de mosca-das-frutas *Anastrepha fraterculus* em pomares de macieira. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENTOMOLOGIA, 15., 1995, Caxambu. **Resumos...** Lavras, 116p, 1995.

RIBEIRO, L. G. Principais pragas da macieira: mosca-das-frutas (*Anastrepha fraterculus*). In: BONETI, J. I. S.; RIBEIRO, L. G.; KATSURAYAMA, Y. **Manual de identificação de doenças e pragas da macieira**. Florianópolis: Epagri, p. 97-102, 1999.

RIDGWAY, R. L.; INSCOE, M. N.; THORPE, K. W. Advances and trends in managing insects pests. In: INTERNATIONAL ATOMIC ENERGY AGENCY. **Management of insect pests: nuclear and related molecular and genetic techniques**. Vienna, Austria: FAO/IAEA, p. 3-15, 1992.

ROSIER, J.P.; NORA, I.; BRANCO, E.S.; NASCIMENTO, A. Diminuição da eficiência de sucos de uva e vinagres na captura de Tephritídeos. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENTOMOLOGIA, 15., Caxambu, **Resumos**. Lavras:SEB/ESAL, p.607, 1995.

RUIZ, L.; FLORES, S.; CANCINO, J.; ARREDONDO, J.; VALLE, J.; DÍAZFLEISCHER, F.; WILLIAMS, T. Lethal and sublethal effects of spinosad-based GF- 120 bait on the tephritid parasitoid *Diachasmimorpha longicaudata*(Hymenoptera: *Braconidae*). **Biological Control**, v.44, p.296-304, 2008.

SALLES, L. A. B.; KOVALESKI, A. Moscas-das-frutas em macieira e pessegueiro no Rio Grande do Sul. **Hortisul**, v.1, n.3, p.5-9, 1990.

SALLES, L.A.B. **Moscas-das-frutas *Anastrepha fraterculus* (Wied., 1830): Bioecologia e controle**. Pelotas, EMBRAPA/CNPFT, 16p, 1991.

SALLES, L.A.B. Efeito da temperatura constante na oviposição e no ciclo de vida de vida de *Anastrepha fraterculus* (Wied., 1830) (DIPTERA: *TEPHRITIDAE*). **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Londrina, v. 22, n. 1, p. 57-62, 1993a.

SALLES, L. A. B. Emergência dos adultos de *Anastrepha fraterculus* (Wied.) (DIPTERA: *TEPHRITIDAE*) durante o outono e inverno em Pelotas-RS. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Londrina, v. 22, n. 1, p. 63-69, 1993b.

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

SALLES, L.A.B. Behaviour of *Anastrepha fraterculus*. In: THE SOUTH American fruit fly, *Anastrepha fraterculus* (Wied.): advances in artificial rearing, taxonomic status and biological

studies. **International Atomic Energy Agency, IAEA Tech-Doc 1064**, Vienna, Austria. p. 133-137, 1999.

SALLES, L. A. B. Ocorrência precoce da mosca das frutas em ameixas. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 29, n. 2, p. 349-350, 1999.

SALLES, L. A. B. Biologia e ciclo de vida de *Anastrepha fraterculus* (Wied.). In: MALAVASI, A.; ZUCCHI, R. A. (Eds.). **Moscas-das-frutas de importância econômica no Brasil: conhecimento básico e aplicado**. Ribeirão Preto: Holos, cap. 8, p. 81-86, 2000.

SANTOS, W. S. **Zoneamento ecológico de *Anastrepha fraterculus* e *Ceratitis capitata* (DIPTERA: TEPHRITIDAE) em dois cenários climáticos no Brasil**. Tese (Doutorado) - Programa de Pós-Graduação em Ciências, Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 96p, 2008.

SANTOS, J.P., GUIMARÃES, J.A., Parasitoides associated with *Anastrepha fraterculus*(Diptera: Tephritidae) in native fruits: first record of *Aganaspis nordlander* (Hymenoptera: Figitidae) in the state of Santa Catarina. **Rev. Bras. Frutic.** vol.40 no.3 Jaboticabal, 2018

SCOZ, P. L.; BOTTON, M.; GARCIA, M. S. Controle químico de *Anastrepha fraterculus* Wied (DIPTERA: TEPHRITIDAE) em laboratório. **Ciência Rural**, v.34, n.6, p.1689-1694, 2004.

SCOZ, P. L.; BOTTON, M.; GARCIA, M. S.; PASTORI, P. L. Avaliação de atrativos alimentares e armadilhas para o monitoramento de *Anastrepha fraterculus* (Wiedemann, 1830) (DIPTERA: TEPHRITIDAE) na cultura do pessegueiro (*Prunus persica* (L.) Batsh). **Idesia**, v.24, n.2, p.7-13, 2006.

SELAMI, E. A.; MILOUDI, M.; MARÍN, C.; SIERRAS, N. CeraTrap®, a mass trapping system for the control of the Mediterranean fruit fly *Ceratitis capitata* in citrus fruit crops. **IOBC/WPRS Bulletin**, v.62, p.207-212, 2011.

SELIVON, D. Relações com as plantas hospedeiras. In: MALAVASI, A.; ZUCCHI, R. A. (Eds.). **Moscas-das-frutas de Importância Econômica no Brasil: conhecimento básico e aplicado**. Ribeirão Preto: Holos, 327p. Cap. 9, p.87-91, 2000.

SHELLY, T. E.; EPSKY, N.; JANG, E. B.; REYES-FLORES, J.; VARGAS, R. I. (Eds.) Trapping and the detection, control, and regulation of Tephritid fruit flies: lures, **area-wide programs and trade implications**. Dordrecht, Heidelberg, New York, London: Springer, 643p, 2014.

SORIA, S.J. A mosca-da-fruta e seu controle. Bento Gonçalves: EMBRAPACNPUV, **Comunicado Técnico 3**, 3 p. 1985.

SOUZA, R.B, **Efeito do fruto hospedeiro na biologia de *Anastrepha fraterculus* (wiedemann, 1830) (DIPTERA: TEPHRITIDAE) e no parasitismo de *Diachasmimorpha longicaudata*(ashmead) (hymenoptera: Braconidae)**, Tese (Mestrado em Produção \Vegetal). Universidade do Estado de Santa Catarina, Lages, SC, 93p. 2015.

STARK, J. D.; VARGAS, R.; MILLER, N. Toxicity of spinosad in protein bait to three economically important tephritid fruit fly species (DIPTERA: *TEPHRITIDAE*) and their parasitoids (Hymenoptera: *Braconidae*). **Journal Economic Entomology**, v.97, p.911-915, 2004.

SUGAYAMA, R. L. **Comportamento, demografia e ciclo de vida de *Anastrepha fraterculus* Wied. (DIPTERA: *TEPHRITIDAE*) associada a três cultivares de maçã no sul do Brasil.** 1995. 97 f. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação em Biociências, Universidade de São Paulo, São Paulo, 1995.

SUGAYAMA, R.; R.L.; BRANCO, E.S.; MALAVASI, A.; KOVALESKI, A.; NORA, I. 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.

SUGAYAMA, R. L.; MALAVASI, A. Ecologia comportamental. In: MALAVASI, A; ZUCCHI, R. A. (Ed.). **Moscas-das-frutas de importância econômica no Brasil: conhecimento básico e aplicado.** Ribeirão Preto: Holos, cap. 12, p. 103-108, 2000.

TAUFER, M. et al. Efeito da temperatura na maturação ovariana e longevidade de *Anastrepha fraterculus* (Wied) (DIPTERA: *TEPHRITIDAE*). **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Londrina, v. 29, n. 4, p. 639-648, 2000.

TOLEDO, A. J. Optimum dosage for irradiating *Anastrepha obliqua* pupae to obtain highly competitive sterile adults. In: ALUJA, M.; LIEDO, P. **Fruit flies biology and management.** New York: Springer, p. 301-304, 1993.

VELASCO, H.; ENKERLIN, D. Determinación de la dosis óptima de irradiación relativa a la competitividad del macho estéril de *Anastrepha ludens* (Loew); su atracción a trampas de color y al atrayente sexual. In: INTERNATIONAL ATOMIC ENERGY AGENCY. **Sterile insect technique and radiation in insect control.** Vienna, Austria, p. 323-339, 1982.

VELOSO, V. R. S.; FERNANDES, P. M.; ROCHA, M. R.; QUEIROZ, M. V.; SILVA, R.M.R. Armadilhas para o monitoramento e controle das moscas-das-frutas *Anastrepha* spp. e *Ceratitidis capitata* (Wied.). **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v.23, n.1, p.487-493, 1994.

VELOSO, V.R.S.; FERNANDES, P.M.; ZUCCHI, R.A. Goiás. In: MALAVASI, A.; ZUCCHI, R.A. (Ed.) **Moscas-das-frutas de importância econômica no Brasil: conhecimento básico e aplicado.** Ribeirão Preto: Holos, cap. 36, p.247-252, 2000.

VERA MC, CÁCERES C, WORNOPYORN V, ISLAM A, ROBINSON AS, DE LA VEGA M HENDRICH, HJ & JP CAYOL. Mating incompatibility among populations of the South American fruit fly *Anastrepha fraterculus* (DIPTERA: *TEPHRITIDAE*). **Society of America** 99: 387-397, 2006.

VERA, T. et al. Demographic and quality control parameters of *Anastrepha fraterculus* (DIPTERA: *TEPHRITIDAE*) maintained under artificial rearing. **Florida Entomologist**, Gainesville, v. 90, n.1, p. 53-57, 2007

VILLAR, L.; CRUZ, M. C. M.; MOREIRA, R. A.; CURI, P. N. Atrativos alimentares na flutuação populacional de moscas-das-frutas e abelha irapuá. **Scientia Agraria Paranaensis**, v.9, n.3, p.67-73, 2010.

WALDER, J. M. M.; CALKINS, C. O. Effects of gamma radiation on the sterility and behavioral quality of the Caribbean fruit fly, *Anastrepha suspensa* (Loew) (DIPTERA: *TEPHRITIDAE*). **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 50, p. 157-165, 1993.

WALDER, J. M. M. Técnica do Inseto Estéril - Controle genético. In: MALAVASI, A.; ZUCCHI, R. A. (Ed.). **Moscas-das-frutas de importância econômica no Brasil. Conhecimento básico e aplicado**. Ribeirão Preto: Holos, p. 151-158, 2000.

WALDER, J.M.M, MORELLI, R., COSTA, K.Z., FAGGIONI, K.M.F., SANCHES, P.A., PARANHOS, B.A.J., BENTO, J.M.S., COSTA, M.L.Z. Large scale artificial rearing of *Anastrepha* sp.1 aff. *fraterculus* (DIPTERA: *TEPHRITIDAE*), **Sci. Agric.** v.71, n.4, p.281-286, 2014

YAMADA, S.M.; SELIVON, D. Rose, an Eye Color Mutation in a Species of the *Anastrepha fraterculus* Complex (DIPTERA: *TEPHRITIDAE*), **Annals of the Entomological Society of America** Jul - 2001: Vol. 94, Issue 4, pg(s) 592 - 595. [https://doi.org/10.1603/0013-8746\(2001\)094\[0592:RAECMI\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1603/0013-8746(2001)094[0592:RAECMI]2.0.CO;2)

ZANARDI, ODIMAR ZANUZO et al. Desenvolvimento e reprodução da mosca-do-mediterrâneo em caqui, macieira, pessegueiro e videira. **Pesq. agropec. bras.**[online]. vol.46, n.7 [cited 2018-12-06], pp.682-688, 2011.

Available from: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-204X2011000700002&lng=en&nrm=iso>. ISSN 0100-204X. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-204X2011000700002>.

ZART, M.; FERNANDES, O. A.; BOTTON, M. Bioecologia e controle da mosca-das-frutas sul-americana *Anastrepha fraterculus* (DIPTERA: *TEPHRITIDAE*) na cultura da videira. Bento Gonçalves: Embrapa Uva e Vinho, **Circular Técnica 81**, 8p., 2009.

ZART, M.; FERNANDES, O. A.; BOTTON, M. Biology and fertility life table of the South American fruit fly *Anastrepha fraterculus* on grape. **Bulletin of Insectology**, v.63, n.2, p.237-242, 2010.

ZART, M.; BOTTON, M.; FERNANDES, O. A. **Injúrias causadas por mosca-das-frutas-sul-americana em cultivares de videira**. Bragantia, Campinas, v. 70, n. 1, p. 64-71, 2011.

ZUANAZZI, J. V. Mosca-das-frutas, em curto prazo um panorama sombrio. **Jornal da Fruta**, Lages, n.256, p.20, 2012.

ZUCCHI, R. A. Espécies de *Anastrepha*, Sinonímias, Plantas Hospedeiras e Parasitoides. In: MALAVASI, A.; ZUCCHI, R. A. (Ed.). **Moscas-das-frutas de importância econômica no Brasil: conhecimento básico e aplicado**. São Paulo: Holos, Cap. 4, p. 41-48, 2000.

ZUCCHI, R. A. Taxonomia. In: MALAVASI, A; ZUCCHI, R.A. (Ed.). **Moscas-das-frutas de importância econômica no Brasil: conhecimento básico e aplicado**. Ribeirão Preto: Holos, cap. 1, p. 13-24, 2000a.

ZUCCHI, R. A. **Fruit flies in Brazil: *Anastrepha* species and their hosts plants, and parasitoids**. Disponível em: <www.lea.esalq.usp.br/Anastrepha>, 2008.