

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RECÔNCAVO DA BAHIA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS, AMBIENTAIS E BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM DEFESA AGROPECUÁRIA
CURSO DE MESTRADO PROFISSIONAL**

**INFLUÊNCIA DA COMPOSIÇÃO DA DIETA LARVAL E DA
RADIAÇÃO X NA QUALIDADE DE *Ceratitis capitata* WIEDEMANN,
1824 (DIPTERA: TEPHRITIDAE) PRODUZIDA EM CRIAÇÃO
MASSAL**

ITALA CRUZ DAMASCENO

**CRUZ DAS ALMAS - BAHIA
JUNHO - 2013**

**INFLUÊNCIA DA COMPOSIÇÃO DA DIETA LARVAL E DA
RADIAÇÃO X NA QUALIDADE DE *Ceratitis capitata* WIEDEMANN,
1824 (DIPTERA: TEPHRITIDAE) PRODUZIDA EM CRIAÇÃO
MASSAL**

ITALA CRUZ DAMASCENO

Engenheira Agrônoma

Universidade do Estado da Bahia, 2002

Dissertação submetida ao Colegiado de Curso do Programa de Pós-Graduação em Ciências Agrárias da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, como requisito parcial para obtenção do Grau de Mestre em Defesa Agropecuária.

Orientador: Dr. Antônio Souza do Nascimento

Co-orientadora: Dra. Beatriz Jordão Paranhos

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RECÔNCAVO DA BAHIA
MESTRADO PROFISSIONAL EM DEFESA AGROPECUÁRIA
CRUZ DAS ALMAS - BAHIA – 2013

FICHA CATALOGRÁFICA

D155i

Damasceno, Ítala Cruz.

Influência da composição da dieta larval e da radiação x na qualidade de *Ceratitis capitata* Wiedemann, 1824 (Diptera: tephritidae) produzida em criação massal / Ítala Cruz Damasceno._ Cruz das Almas, BA, 2013.

61f.; il.

Orientador: Antônio Souza do Nascimento.

Coorientadora: Beatriz Jordão Paranhos.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas.

1.Moscas-das-frutas - Entomologia. 2.Diptera: tephritidae – Análise. I.Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas.

II.Título.

CDD: 595.774

Ata da Defesa de **Ítala Cruz Damasceno**,
aluna do Programa de Pós-Graduação do
curso de mestrado em Defesa Agropecuária da
Universidade Federal do Recôncavo da Bahia.

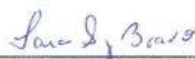
Aos cinco dias do mês de julho de 2013 nas dependências da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, em sessão pública, reuniu-se a comissão examinadora constituída pelos professores: Dr. Antônio Souza do Nascimento (presidente), Dra. Beatriz Aguiar Jordão Paranhos e Dra. Iara Sordi Joachim Bravo, para examinar e julgar a Dissertação intitulada: **"INFLUÊNCIA DA COMPOSIÇÃO DA DIETA LARVAL E DA RADIAÇÃO X NA QUALIDADE DE *Ceratitis capitata* WIEDEMANN, 1824 (DIPTERA: TEPHRITIDAE) PRODUZIDA EM CRIAÇÃO MASSAL"** de autoria da aluna regular, Ítala Cruz Damasceno, do Programa de Pós-Graduação em Defesa Agropecuária, Curso de Mestrado Profissional. Os trabalhos foram iniciados às 10:00h pelo Professor Antônio Souza do Nascimento, presidente da banca, e depois de encerradas a apresentação e arguição às 12h, os examinadores reuniram-se para avaliação do trabalho tendo o mesmo sido APROVADO, de acordo com os pareceres emitidos por cada membro da banca, que serão anexados à presente ata. Proclamados os resultados pelo presidente da banca, foi encerrada a sessão, da qual é lavrado a presente ata, que após lida e aprovada é assinada pelos componentes da banca examinadora, pela mestranda, pelo coordenador do Programa e por todos presentes. Cruz das Almas, 05 de julho de 2013.



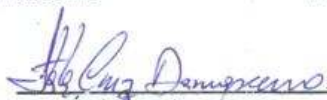
Antônio Souza do Nascimento
Presidente



Beatriz Aguiar Jordão Paranhos
Membro da Banca



Iara Sordi Joachim Bravo
Membro da Banca



Ítala Cruz Damasceno
Mestranda



Robson Bahia Cérqueira
Coordenador

Dedico

A minha saudosa avó, Maria de Lourdes Rodrigues Cruz (*in memorian*), que com certeza estaria muito orgulhosa de me ver superar mais essa etapa de minha vida e a minha querida mãe, Maria Auxiliadora Cruz Damasceno, pelo amor incondicional e por me fazer acreditar no meu potencial.

Ofereço

AGRADECIMENTOS

Aos meus queridos orientadores, Dr. Antônio Souza do Nascimento e Dra. Beatriz Jordão Paranhos, que me apoiaram ao longo da minha vida profissional e agora na dissertação, com paciência e confiança, enquanto eu estava envolvida em muitas outras tarefas. Eu simplesmente não poderia desejar orientadores melhores ou mais amigáveis.

A amiga Maylen Pacheco, pela paciência, atenção, pelos muitos conhecimentos compartilhados e por estar comigo em vários momentos, fazendo as coisas acontecerem. Sem o seu apoio, este Mestrado Profissionalizante não teria sido concluído.

A companheira Rosana Lima, sou extremamente grata pelo apoio e dedicação. E principalmente, por estar lá nos momentos felizes e mais difíceis. Sozinha, teria sido muito mais difícil.

A Biofábrica Moscamec Brasil, especialmente, a pessoa de Dr. Aldo Malavasi pela sabedoria e ensinamentos dispensados e por me conceder o tempo e recurso financeiro necessários para realização desse mestrado.

À equipe do laboratório (Nilton, Aline e Géssica), agradeço por toda dedicação e esforços na realização dos experimentos. Com a ajuda desse maravilhoso grupo de colegas, todo o trabalho pareceu mais fácil.

Agradeço à minha família por tudo, principalmente, meu irmão Italo e minha irmã Ileanne por me apoiarem em meus estudos e na vida. E à minha mãe Maria Auxiliadora, pelos seus exemplos de educação, amizade e pelo amor que sempre me proporcionou.

A Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, pelo apoio e conhecimento oferecido e aos seus professores dedicados e amigáveis que tive o prazer de conhecer e aprender durante os meus estudos.

Enfim, obrigada a todas as pessoas que de alguma forma me incentivaram e inspiraram a concluir mais essa etapa de minha vida.

SUMÁRIO

	Página
RESUMO	
ABSTRACT	
INTRODUÇÃO.....	1
Capítulo 1	
AVALIAÇÃO DE DIFERENTES FORMULAÇÕES DE DIETAS LARVAIS PARA <i>Ceratitis capitata</i> WIEDEMANN, 1824 (DIPTERA: TEPHRITIDAE) LINHAGEM MUTANTE VIENNA 8 – TSL.....	15
Capítulo 2	
USO DE RAIO X NA IRRADIAÇÃO DE PUPAS DE <i>Ceratitis Capitata</i> WIEDEMANN, 1824 (DIPTERA: TEPHRITIDAE) LINHAGEM VIENNA 8 – TSL.....	44

INFLUÊNCIA DA COMPOSIÇÃO DA DIETA LARVAL E DA RADIAÇÃO X NA QUALIDADE DE *Ceratitis capitata* WIEDEMANN, 1824 (DIPTERA: TEPHRITIDAE) PRODUZIDA EM CRIAÇÃO MASSAL

Autora: Itala Cruz Damasceno

Orientador: Dr. Antônio Souza do Nascimento

Co-orientadora: Dra. Beatriz Jordão Paranhos

RESUMO - Para o sucesso da Técnica do Inseto Estéril (TIE) em programas de erradicação e/ou supressão populacional utilizados no controle da mosca-da-fruta *Ceratitis capitata*, Wiedemann (Diptera: Tephritidae), é necessário a utilização de machos estéreis de boa qualidade. As fontes de alimentação dos insetos criados massivamente, assim como o método de esterilização no processo final de criação podem afetar significativamente sua qualidade. O presente estudo teve por objetivo avaliar quatro formulações de dieta larval para utilização na criação massiva de *C. capitata*, linhagem mutante Vienna 8 – *tsl*, assim como, testar diferentes doses de raio X [0 (controle), 80; 95; 115 e 125 Gy] para tratar as pupas a fim obter machos estéreis desta linhagem na Biofábrica Moscamed Brasil (BMB). Os parâmetros avaliados foram o rendimento ovo-pupa, peso da pupa, proporção de pupas brancas e marrons, emergência e voadores, fecundidade e fertilidade de fêmeas, esterilidade e sobrevivência sob estresse. As quantidades e as diferentes fontes protéicas oferecidas nas diferentes dietas, durante a fase larval, não influenciaram nos parâmetros de qualidade avaliados. Exceto o rendimento ovo-pupa e a proporção de pupas brancas foram maiores nas dietas a base de proteína de soja ou apenas com levedura de cerveja (dietas 4 e 3). Os machos irradiados com 115 Gy (raios-X) induziram um alto nível de esterilidade em fêmeas de *C. capitata* e não afetaram a qualidade dos insetos. Os resultados observados mostram que ambas as dietas (4 e 3), bem como a dose de 115 Gy podem ser utilizadas como padrão na criação massal de Vienna 8 - *tsl*, na BMB.

Palavras-chave: mosca-do-mediterrâneo, raio X, criação massal.

INFLUENCE OF COMPOSITION OF LARVAL DIET AND X RADIATION IN QUALITY OF STERILE MALES OF *Ceratitis capitata* WIEDEMANN, 1824 (DIPTERA: TEPHRITIDAE) TSL - VIENNA 8 STRAIN

Author: Itala Cruz Damasceno

Adviser: Dr. Antônio Souza do Nascimento

Co-adviser: Dra. Beatriz Jordão Paranhos

ABSTRACT - In a successfully Sterile Insect Technique (SIT) program for eradication or population suppression of medfly, *Ceratitis capitata*, it is necessary to release sterile males of high quality. All the process evolved to rear insects massively, as well as the method of sterilization can significantly affect their quality. The present study aimed to evaluate larval diets with different protein source on the quality of *C. capitata*, *tsl* Vienna 8 strain, as well doses of X-ray [0 (control), 80, 95, 115 and 125 Gy] to treat pupae, for sterilization of adult males in the Biofábrica Moscamed Brazil (BMB) mass rearing. The parameters evaluated were the yield egg-pupa, pupa weight, proportion of white and brown pupae, emergence and flyers, fecundity and fertility of females, male's sterility and survival under stress. The amounts of different protein sources in diets offered during the larval stage did not affect the quality of parameters evaluated. Except egg-pupa yield and the proportion of white pupae were higher for diets with soybean or only yeast protein sources (diets 4 and 3). Males irradiated with 115 Gy (X-ray) induced a high level of sterility in female's *C. capitata*, and did not affect the quality of the insects. Both, larval diet and a dose of 115 Gy (X-ray) might be used as the standard for mass rearing and male sterilization for *tsl* - Vienna 8 strain.

Key words: Mediterranean fruit fly, X-ray, mass rearing

INTRODUÇÃO

A evolução da produção de frutas no Brasil, dada as boas condições geográficas e climáticas, tem assegurado o abastecimento da crescente demanda doméstica e ao mesmo tempo, logrado uma expressiva participação na pauta de exportações do agronegócio. O Brasil apresenta um grande potencial no agronegócio de frutas principalmente na exportação de frutas frescas. O país é o terceiro maior produtor mundial de frutas frescas, posição que tem como pontos principais as condições favoráveis de clima, solo e disponibilidade de área que precisa ser sustentada pelos investimentos públicos e privados em infra-estrutura, capacitação, logística e inovação tecnológica (CARVALHO & MIRANDA, 2013).

A fruticultura é uma atividade com grande capacidade de geração de emprego e renda, e por isso apresenta significativa importância social, em particular em regiões mais pobres, que não contam com muitas alternativas para dinamizar sua economia (BUAINAIN & BATALHA, 2007). Nos últimos cinco anos, as exportações de frutas cresceram 25%. Em 2010, as frutas frescas exportadas renderam US\$ 609,61 milhões (759,42 mil toneladas) contra US\$ 559,49 milhões do ano anterior, de acordo com relatório anual do Instituto Brasileiro de Frutas - Ibraf (BRAZILIAN FRUIT, 2011). Em 2011, a produção brasileira foi de aproximadamente, 43 milhões de toneladas de frutas em uma área cultivada de 2,2 milhões de hectares. Os últimos dados oficiais do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) mostram que houve aumento de 6,77% na colheita em relação a 2010, atingindo a marca de quase 45 milhões de toneladas. As exportações de frutas frescas aumentaram 1,73% em 2012 e as importações tiveram queda de 6,91% em volume, sobre 2011, indicando o bom desempenho da balança comercial da fruticultura (POLL et al., 2013).

Segundo Carvalho & Miranda (2013), o desempenho da fruticultura brasileira confirma que o país tem potencial para produzir frutas de melhor qualidade, atendendo aos requisitos mais exigentes dos mercados externos e nos últimos anos tem suprido o mercado interno de frutas com eficiência, importando apenas uma pequena quantidade de outros países. Entretanto, ainda tem exportado muito pouco, ocupando a 20ª posição no ranking das exportações mundiais de frutas, com uma participação de apenas 2,3 % no comércio mundial.

Dentre as principais commodities do agronegócio brasileiro de frutas frescas estão a manga e a uva de mesa. Em 2012, a manga foi a segunda fruta brasileira mais exportada do país, cerca 127 mil toneladas, perdendo apenas para o melão com 181 mil toneladas. A uva ficou em sexto lugar com aproximadamente 52 mil toneladas exportadas. O pólo do Vale do São Francisco (VSF), localizado no nordeste brasileiro, em Petrolina (PE) e Juazeiro (BA), é responsável por 85% das exportações de manga. Entre as demais regiões produtoras, destaca-se Livramento de Nossa Senhora e Dom Basílio na Bahia, Monte Alto e Taquaritinga em São Paulo e Jaíba e Janaúba em Minas Gerais que respondem juntas pelos 15% restantes. Nos últimos anos, as exportações de manga obtiveram bons resultados. O Brasil exportou em 2012, 127 mil Ton o equivalente a US\$ 237,6 milhões. Um ano antes, em 2011, os embarques alcançaram 126 mil Ton e US\$ 141 milhões (POLL et al. 2013).

Quanto ao comércio de uvas frescas, a viticultura brasileira destaca-se como um agronegócio de grande importância econômica e social para o VSF, responsável pela maior produção nacional de uvas finas de mesa e pela quase totalidade das exportações brasileiras. O fato dos produtores do VSF poderem planejar sua colheita de uvas durante todo o ano permite a eles ocupar as janelas deixadas pelas regiões produtoras concorrentes e obter melhores preços. No âmbito do comércio internacional de uvas de mesa, estatísticas mostram que a mais de uma década o VSF é responsável por cerca de 95% das exportações brasileiras, atingindo 99% nas safras 2007-2010 (LAZZAROTTO & FIORAVANÇO; MDIC/SECEX, 2013). A região do VSF está se desenvolvendo intensamente nos últimos anos em termos de viticultura, sendo reconhecida hoje como o principal pólo de produção e comercialização de uvas de mesa de todo Brasil (CORREIA & ARAÚJO, 2010).

Mesmo diante deste cenário promissor, fruticultores do VSF e de outras regiões do Brasil, ainda enfrentam muitos desafios quando se trata do comércio exterior. O ingresso no mercado internacional pode ser demorado, caro e exige decisões e ações que implica arcar com custos de adaptação relacionados às exigências fitossanitárias e de segurança alimentar hoje vigentes na maior parte dos países desenvolvidos (BUAINAIN & BATALHA, 2007). As restrições quarentenárias, logística de armazenamento além de eventuais adversidades climáticas, são alguns dos entraves encontrados. Entretanto, dentre os maiores obstáculos para a produção e a livre comercialização de frutas frescas, como manga e uva, está a presença de moscas-das-frutas (Diptera: Tephritidae).

Os indivíduos da família Tephritidae, as verdadeiras moscas-das-frutas, são insetos de reconhecida importância econômica, por terem seu ciclo de vida, em especial, a fase larval, na polpa de seus frutos hospedeiros (CRESONI-PEREIRA & ZUCOLOTO, 2009). Elas estão entre as pragas frutícolas de maior importância econômica do mundo (CARVALHO, 2005). O impacto econômico das moscas-das-frutas é caracterizado pelos danos diretos e indiretos aos mais variados frutos e produtos hortícolas comercializados (NAVA et al., 2006). As perdas são provocadas pela oviposição das fêmeas, eclosão e alimentação das larvas no interior dos frutos, tornando-os impróprios para comercialização e consumo (ALUJA, 1994; FOLLETT & NEVEN, 2006; ALUJA & MANGAN, 2008).

As moscas-das-frutas apresentam uma ampla distribuição geográfica, e seus representantes são constituídos por 4.448 espécies agrupadas em 484 gêneros (NORRBOM, 2004), das quais somente cinco são de importância econômica: *Anastrepha* Schiner (1868), *Ceratitis* MacLeay (1829), *Bactrocera* Macquart (1835), *Rhagoletis* Loew (1862) e *Toxotrypana* Gerstaecker (1860). O gênero *Toxotrypana* é constituído por uma única espécie de importância econômica, a *T. curvicauda* Gerstaecker (mosca-da-papaia), que não ocorre no Brasil. O gênero *Bactrocera*, durante muito tempo considerado como subgênero de *Dacus*, é representado por uma única espécie no continente americano, a *B. carambolae* Drew e Hancock (1994), conhecida como mosca-da-carambola, que está restrita ao estado do Amapá (ZUCCHI, 2000). No Brasil, o gênero *Rhagoletis* é representado por quatro espécies, mas possui pouca importância econômica, já que suas espécies são referidas esporadicamente como pragas na região Sul. Dentro do gênero *Anastrepha*, das 195

espécies conhecidas, 107 ocorrem no Brasil e 50 estão associadas com os frutos de 37 famílias. Já o gênero *Ceratitidis* é composto por aproximadamente 65 espécies, que ocorrem principalmente na África tropical. Entretanto, *Ceratitidis capitata* Wiedemann (1824), é a única representante do gênero no Brasil e está distribuída em quase todas as áreas tropicais e temperadas quentes do mundo (ZUCCHI, 2000).

Dentre as moscas-das-frutas, a espécie que apresenta maior importância do ponto de vista econômico para o Brasil, é *C. capitata*. Nativa da África equatorial, esta espécie conhecida como moscamed ou mosca-do-mediterrâneo foi introduzida no Brasil em 1901 (IHERING, 1901 *appud* ZUCCHI, 2000). Ocorre em vários estados, e está associada a 58 espécies de frutíferas de 21 famílias (ZUCCHI, 2001). É considerada a mais prejudicial praga agrícola da fruticultura mundial, cosmopolita e invasora dentre os tefritídeos (MALAVASI & MORGANTE, 1980; ZUCCHI, 2000), podendo atacar mais de 250 tipos de frutas, amêndoas e outras partes vegetais (GONG et al., 2005). Segundo Malavasi (2001), o grau de importância dessa espécie refere-se à sua polifagia e à severidade com a qual ataca seus hospedeiros, pois, apresenta grande plasticidade ecológica e evolutiva, adaptando-se rapidamente a novos hospedeiros e ambientes. A flutuação populacional de adultos de *C. capitata* está diretamente relacionada com a disponibilidade de hospedeiros e aos fatores climáticos de determinada região. Em pomares comerciais onde predomina um único hospedeiro, o aumento populacional coincide com a época de maior concentração de frutos maduros. Em pomares com grande diversidade de espécies, onde existem frutos maduros durante a maior parte do ano, a população de adultos se mantém em níveis elevados durante praticamente todo o ano (PARANHOS et al., 2008).

Em geral, para a maioria das fruteiras comerciais, as perdas na produção ocasionadas pelas moscas-das-frutas variam de 10 a 50% (SAMPERIO & VALENZUELA, 1992). Segundo Enkerlin e Mumford (1997), só no Oriente médio, as perdas provocadas pela espécie *C. capitata* já foram de 125,2 milhões de dólares anuais, por danos diretos e de 165,7 milhões de dólares, por danos indiretos. Estima-se que na América do Sul e Central as perdas sejam da ordem de 25%, sendo menores no início da frutificação e cerca de 80% no final deste período (ENKERLIN et al., 1989). Já na América do Norte, de acordo com Canal (1997), os

danos causados pela introdução de moscas-das-frutas na Califórnia podem ter custado US\$ 910 milhões, com US\$ 290 milhões gastos somente na erradicação da *C. capitata*.

No Brasil, as perdas ocasionadas por este grupo de insetos estão principalmente relacionadas com as restrições quarentenárias às exportações de frutas frescas, devido às inúmeras exigências dos países importadores e aos altos custos de controle ou erradicação de pragas, como a *C. capitata* (WHITE & ELSON-HARRIS, 1992). Dependendo das condições climáticas e da presença de plantas hospedeiras em algumas regiões brasileiras, a *C. capitata* pode comprometer até 100% da produção (CARVALHO, 2005). O gasto anual com inseticidas utilizados para o seu combate nos pomares comerciais infestados representa a perda de milhões de dólares.

Nos últimos anos, a expansão das áreas cultivadas com frutíferas no VSF, tem provocado um aumento significativo das populações de *C. capitata* (NASCIMENTO et al., 2001; BMB, 2012). Como região maior produtora de frutas frescas do Brasil, a alta população de *C. capitata* em pomares de mangas voltados à exportação e a presença de resíduos tóxicos nos frutos em níveis acima do permitido podem acarretar o cancelamento do registro do pomar e suspensão das exportações, causando um impacto socioeconômico altamente negativo para a região. Torna-se, portanto, fundamental o monitoramento e o controle populacional de *C. capitata*, para viabilizar as exportações (MALAVASI & NASCIMENTO, 2003).

O monitoramento populacional da praga através da utilização de armadilhas atrativas para obtenção de dados de infestação e a aplicação de diferentes estratégias de controle deve ser empregada dentro de um programa de manejo integrado de pragas (MIP) a fim de obter eficiência na busca por reduzir perdas na produção. O conhecimento da biologia, ecologia e o comportamento das espécies-pragas de moscas-das-frutas associado ao levantamento da biodiversidade de espécies em uma determinada região, suas plantas hospedeiras e os índices de infestação contribuem significativamente nas tomadas de decisões sobre quais práticas de controle utilizar. Além de fornecer informações necessárias para os serviços quarentenários (NASCIMENTO & CARVALHO, 2000; ARAÚJO & ZUCCHI, 2003).

A necessidade de alternativas que substituam os métodos químicos convencionais de controle de pragas, aliada à crescente cobrança da sociedade por métodos não tóxicos ao homem e ao meio ambiente, tem estimulado a busca por novos métodos de controle da mosca-do-mediterrâneo. Com o propósito de minimizar os prejuízos causados, novas técnicas e programas de manejo de pragas associados aos tradicionais métodos de controle foram desenvolvidos em todo o mundo na tentativa de suprimir ou erradicar populações dessas espécies (CARVALHO, 2005). O sucesso no controle da mosca-do-mediterrâneo depende de um conjunto de ações, que inclui, principalmente, a adoção de estratégias de manejo em área ampla, um rigoroso planejamento espacial das áreas que serão tratadas e uma forte conscientização dos produtores e empresários para implantação das medidas necessárias.

Faz algum tempo que este sistema de manejo está tendo uma visão mais abrangente, sendo comumente aplicada a terminologia de manejo integrado em área ampla, definido como o conjunto de medidas que são aplicadas para o controle de toda a população de um inseto-praga dentro de uma área geográfica delimitada. Esta visão de manejo toma em consideração a combinação da geografia e a quantidade de hospedeiros da praga a ser controlada. As medidas de controle não estão limitadas às culturas principais dentro da área (pomares comerciais), mas também são direcionadas a todos os possíveis hospedeiros da praga (comerciais, silvestres, etc.) que possam funcionar como um reservatório para a sua sobrevivência e reprodução. O objetivo do controle em área ampla visa reduzir a população da praga a um nível que não cause danos econômicos (KLASSEN, 2005).

O controle em área ampla é eficiente quando aplicado sobre espaços relativamente grandes e abrange uma quantidade significativa de áreas produtoras que apresentam o mesmo problema, uma vez que ocorre migração constante de moscas oriundas de áreas produtoras abandonadas ou de áreas com controle fitossanitário deficiente para as áreas comerciais exportadoras, resultando em aumento de custo de produção e posterior desestímulo das exportações de frutas frescas. Nesse caso, os métodos tradicionais tornam-se pouco eficazes. Contribui ainda para este cenário, as áreas com produção direcionada para o processamento nas agroindústrias e cuja produção é voltada para o mercado interno de frutas, sem

as exigências de controle para moscas-das-frutas (NASCIMENTO & CARVALHO, 2000).

Nessa abordagem, são utilizados sistemas de alta inovação tecnológica como a Técnica do Inseto Estéril (TIE) e o controle biológico com utilização de parasitóides, que reduzem custos, são ambientalmente seguros e aumenta a eficácia do controle, e ainda podem estar associados às tradicionais técnicas utilizadas dentro do MIP, como os controles: cultural e químico sustentáveis (CARVALHO, 2006).

A TIE foi idealizada e criada pelo entomologista americano, E.F.Knipling, utilizada inicialmente como uma possibilidade de controle ou até mesmo erradicação da mosca-da-bicheira, *Cochliomyia hominivorax* (Coquerel). Na década de 40, meses após liberações semanais e inundativas de moscas estéreis na Ilha de Curaçao, obteve-se a erradicação dessa praga (KNIPLING, 1955). Hoje, vários países possuem programas nacionais que fazem uso da TIE, com a instalação de biofábricas para criação de *C. capitata*, e algumas espécies dos gêneros *Anastrepha* e *Bactrocera* para o controle (supressão) e/ou erradicação (MALAVASI & NASCIMENTO, 2003).

A expansão do uso desta técnica tem comprovado sucesso em proteger áreas de fruticultura contra a infestação de moscas-das-frutas, e prevenir embargo de bilhões de dólares em programas de exportação. O Chile, por exemplo, com a erradicação de *C. capitata* por meio da TIE, consegue exportar cerca de 40% da produção de frutos, enquanto que o Brasil consegue exportar somente 1,3% de frutos frescos. Para que a TIE tenha o efeito desejado deve ser empregada dentro do conceito de área ampla, como mencionado anteriormente, com o intuito de atingir os pomares comerciais, pomares domésticos, matas com hospedeiros nativos, áreas urbanas com plantas hospedeiras, evitando a contaminação do meio ambiente e do homem (MALAVASI & NASCIMENTO, 2003).

A TIE é considerada um tipo de controle autocida ou genético, onde a praga é empregada para seu próprio controle. É a principal ferramenta de muitos programas de controle integrado de *C. capitata* ao redor do mundo (DYCK et al., 2005). Para a utilização dessa técnica, o inseto deve apresentar reprodução sexual e facilidade de criação massal em dieta artificial. Sua utilização em programas de manejo de pragas

implica na produção de insetos em grande número, que são esterilizados e posteriormente liberados nas áreas agrícolas, onde os machos estéreis devem copular com as fêmeas selvagens, interrompendo desta forma a reprodução da espécie (KNIPLING, 1955).

Dentre os programas de erradicação e/ou supressão populacional de moscas-das-frutas que utilizam a TIE, é importante destacar o programa de supressão populacional da mosca-do-mediterrâneo no Brasil, realizado pela Organização Social Biofábrica Moscamed Brasil (BMB) localizada no Município Juazeiro-Bahia. O programa objetiva a supressão da praga *C. capitata* através da utilização da TIE com liberações semanais de machos estéreis no VSF. A BMB importou da IAEA/FAO – Áustria, em dezembro de 2004, a linhagem mutante TSL de *C. capitata*, Vienna 8, que está sendo produzida em larga escala. Desde abril de 2005, após a passagem pela quarentena no Laboratório Costa Lima na Embrapa Meio Ambiente e aumento da criação no laboratório de Radioentomologia do CENA/USP, iniciaram-se as pesquisas no Laboratório de Moscas-das-Frutas da Embrapa Semiarido, para testar a compatibilidade sexual entre machos estéreis e fêmeas selvagens de *C. capitata* e a dispersão dos machos estéreis no campo. Essas pesquisas foram essenciais para a implementação da produção massal de machos estéreis na Moscamed Brasil e a liberação inundativa nos pomares da região (PARANHOS et al., 2008).

O uso de insetos estéreis para controlar ou erradicar uma população de insetos, foi uma iniciativa revolucionária na entomologia moderna (DYCK et al. 2005). A Introdução desta técnica no controle de pragas contribuiu para o desenvolvimento e até mesmo a criação de novas áreas entomológicas, tais como a criação de insetos em meios artificiais (criação massal), ecologia e simulação populacional, qualidade, radioentomologia, dentre outras (CÁCERES et al., 2007). Assim, para um melhor aproveitamento e eficiência de machos estéreis produzidos em larga escala dentro de laboratórios tais estudos são fundamentais.

Outro fator muito importante que deve ser estudado em programas que utilizam insetos estéreis é a qualidade dos indivíduos produzidos em larga escala. Para o sucesso da TIE, é necessário a utilização de machos estéreis de boa qualidade. As fontes de alimentação dos insetos criados massivamente, assim como

o método de esterilização no processo final de criação podem afetar significativamente sua qualidade.

Qualquer alteração dentro do processo de criação massiva para obtenção de melhores resultados deve ser cuidadosamente estudada e planejada. A introdução de uma nova formulação de dieta larval com o propósito de melhorar o rendimento ovo-pupa sem comprometer parâmetros de qualidade dos insetos produzidos deve ser realizada considerando aspectos importantes para o seu desenvolvimento. Como se trata de um ser vivo, estudos referentes à biologia e nutrição, são fundamentais quando se objetiva qualidade *versus* eficiência no processo de criação massiva desses insetos. A influência da composição da dieta é observada no comportamento do inseto que responde direta e indiretamente aos efeitos de qualquer alteração nutricional. Toda mudança deve ser criteriosamente estudada, pois pode resultar em aumento de produtividade ou em morte total de uma colônia, gerando perdas significativas na produção e conseqüente prejuízos para os programas de controle de pragas que envolvem a liberação massal desses insetos.

Ao mesmo tempo, quando se trata de insetos produzidos em larga escala para fins de controle de pragas através da TIE, um aspecto não menos importante deve ser levado em consideração: o tipo de radiação ionizante utilizada no processo de esterilização de machos. A radiação gamma mais comumente utilizada em todo o mundo com propósitos de esterilização de insetos é proveniente dos radioisótopos cobalto 60 (^{60}Co) e Césio (^{137}Cs). Apesar disso, ela representa riscos biológicos por se tratar de fontes radioativas que requer cuidados especiais de segurança. A fabricação destas fontes para este fim está sendo descontinuada, e a alternativa encontrada para esterilização são fontes especiais (raios-X e elétrons acelerados), pouco difundidas no Brasil e no mundo, porém representam menores riscos de operação quando comparada aos radioisótopos (Walder, 2000).

Neste trabalho foram estudados os efeitos na qualidade dos insetos criados em dieta artificial e irradiados com raio X. As pesquisas tiveram como objetivo estudar o comportamento de *C. capitata*, linhagem mutante Vienna 8 - *ts1*, criada em larga escala utilizando diferentes formulações de dietas larvais, assim como avaliar o efeito na qualidade de machos esterilizados com radiação X.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALUJA, M. Bionomics and management of *Anastrepha*. **Annual Review of Entomology**, Palo Alto, v. 39, p. 155-178, 1994.

ALUJA, M.; MANGAN, R. L. Fruit Fly (Diptera: Tephritidae) Host Status Determination: Critical Conceptual, Methodological, and Regulatory Considerations. **Annual Review of Entomology**, Palo Alto, v. 53, p. 473-502, 2008.

ARAÚJO, E. L.; ZUCCHI, R. A. **Moscas-das-frutas (Diptera: Tephritidae) em goiaba (*Psidium guajava* L.), em Mossoró, RN**. Arquivos do Instituto Biológico, São Paulo, v. 70, n. 1, p. 73-77, 2003.

BIOFABRICA MOSCAMED BRASIL (BMB). Disponível em: <http://xxcn8013.hospedagem.ws/apps/moscamed/monitoragro2/selecao_usuario.jsp>. Acesso em: Junho de 2012.

BRAZILIAN FRUIT. **Programa de Promoção das Exportações das Frutas Brasileiras e Derivados**. 2011. Disponível em: <http://www.brazilianfruit.org/Pbr/Sala_imprensa/Clippings/Clippings_detalhe.asp?tb_clipping_codigo=4260>. Acesso em: 17 de Maio de 2013.

BUAINAIN, A. M.; BATALHA, M. O. **Cadeia produtiva de frutas**. Brasília: IICA/MAPA/SPA, 2007, v.7, 102 p.

CÁCERES, C.; RAMÍREZ, E.; WORNOAYPORN, V.; ISLAM, A.; AHMAD, S. A protocol for storage and long-distance shipment of mediterranean fruit fly (Diptera: Tephritidae) eggs. I. Effect of temperature, embryo age, and storage time on survival and quality. **Florida Entomologist**, Gainesville, v. 90, n. 1, p. 103-109, 2007.

CANAL, N. A. **Levantamento, flutuação populacional e análise faunística das espécies de moscas-das-frutas (Diptera, Tephritidae) em quatro municípios do norte do Estado de Minas Gerais**. 1997. 113 f. Tese (Doutorado em Entomologia Agrícola)-Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1997.

CARVALHO, J. M.; MIRANDA, D. L. **As exportações brasileiras de frutas: um panorama atual**. Comércio Internacional, Universidade de Brasília, Brasília, Disponível em: <<http://www.sober.org.br/palestra/13/1300.pdf>>. Acesso em: 16 de Maio de 2013.

CARVALHO, R. S. **Biocontrole de moscas-das-frutas: histórico, conceitos e estratégias**. Cruz das Almas: EMBRAPA/CNPMPF, 2006. 5 p. Circular Técnica, 83.

CARVALHO, R. S. **Metodologia para monitoramento populacional de moscas-das-frutas em pomares comerciais**. Cruz das Almas: EMBRAPA, CNPH, 2005. 17 p. (EMBRAPA, CNPH. Circular Técnica, 75).

CORREIA, R. C.; ARAÚJO, J. L. P. **Cultivo da Videira: Comercialização, custos e rentabilidade**. Artigos Técnicos. EMBRAPA/SEMIARIDO, Petrolina, 2010. Disponível em: http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Uva/CultivodaVideira_2ed/comercializacao. Acesso em: 16 de Maio de 2013.

CRESONI-PEREIRA, C.; ZUCOLOTO, F. S. Moscas-das-frutas (Diptera). In: PANIZZI, A. R.; PARRA, J. R. P.; (Ed.). **Bioecologia e nutrição de insetos: base para o manejo integrado de pragas**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica; Londrina: Embrapa Soja, 2009. p. 733-768.

DYCK, V. A.; FLORES, J. R.; VREYSEN, M. J. B.; FERNÁNDEZ, E. E. R.; TERUYA, T.; BARNES, B.; RIERA, P. G.; LINDQUIST, D.; LOOSJES, M. Management of Area-Wide Integrated Pest Management Programmes that Integrate the Sterile Insect Technique. DYCK, V. A.; HENDRICH, J.; ROBINSON, A. S. (Ed.). **Sterile Insect Technique: Principles and Practice in Area-Wide Integrated Pest Management** 2005, XIV, Hardcover ISBN: 1-4020-4050-4, p. 525-542.

ENKERLIN, D.; GARCIA, L. R.; LOPEZ, F. M. Fruit flies from Mexico, Central and South America. In: ROBINSON, A. S.; HOOPER, G. (Eds.). **World crop pests: fruit flies, their biology, natural enemies and control**. Amsterdam: Elsevier, 1989. p. 83-90.

ENKERLIN, W.; MUMFORD, J. Economic evaluation at three alternative methods for control of the Mediterranean fruit fly (Diptera: Tephritidae) in Israel, Palestinian Territories, Jordan. **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v. 90, p. 1066-1072, 1997.

FOLLETT, P. A.; NEVEN, L. G. Current trends in quarantine entomology. **Annual Review of Entomology**, Palo Alto, v. 51, p. 359–385, 2006.

GONG, P.; EPTON, M. J.; FU, G.; SCAIFE, S.; HISCOX, A.; CONDON, K. C.; CONDON, G. C.; MORRISON, N. I.; KELLY, D. W.; DAFA" ALLA, T.; COLEMAN, P. G.; ALPHEY, L. A dominant lethal genetic system for autocidal control of the

Mediterranean fruit fly. **Nature Biotechnology**, New York, v. 3, n. 4, p. 453- 456, 2005.

KLASSEN, W. Area-wide integrated pest management and the sterile insect technique. In: DYCK, V.A.; HENDRICH, J.; ROBINSON, A.S. (Ed.). **Sterile insect technique. Principles and practice in area-wide integrated pest management**. Springer, Dordrecht, The Netherlands, 2005. pp. 39-68.

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.

LAZZAROTTO, J. J.; FIORAVANÇO, J. C. **Tendências e sazonalidades nas exportações e importações brasileiras de uva de mesa**. Informações Econômicas, São Paulo, v. 43, n. 1, p. 43-58, jan./fev. 2013.

MALAVASI, A. Mosca-da-carambola, *Bactrocera carambolae*, (Diptera: Tephritidae). In: VILELA, E. F.; ZUCCHI, R. A.; CANTORE, F. (Ed.). **Histórico e impacto de pragas introduzidas no Brasil**. Ribeirão Preto: Holos, 2001.p. 39-41.

MALAVASI, A.; MORGANTE, J. S. Biologia de moscas-das-frutas (Diptera: Tephritidae). II: índice de infestação em diferentes hospedeiros e localidades. **Revista Brasileira de Biologia**, Rio de Janeiro, v. 40, n. 1, p. 17-24, 1980.

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

MALAVASI, A.; ZUCCHI, R. A.; SUGAYAMA, R. L. Biogeografia. In: MALAVASI, A.; ZUCCHI, R. A. (Ed.). **Moscas-das-frutas de importância econômica no Brasil: conhecimento básico e aplicado**. Ribeirão Preto: Holos, 2000. cap. 10, p. 93-98.

MINISTÉRIO DO DESENVOLVIMENTO, INDÚSTRIA E COMÉRCIO EXTERIOR. Secretaria de Comércio Exterior - MDIC/SECEX. **Sistema de análise das informações de comércio exterior (ALICE)**. Brasília: MDIC/SECEX, 2012. Disponível em: <<http://aliceweb2.mdic.gov.br>>. Acesso em: 07 fev. 2012.

NASCIMENTO, A. S.; CARVALHO, R. S. Manejo integrado de moscas-das-frutas. In: MALAVASI, A.; ZUCCHI, R. A. (Ed.). **Moscas-das-frutas de importância econômica no Brasil: conhecimento básico e aplicado**. Ribeirão Preto: Holos, 2000. p. 169-173.

NASCIMENTO, A. S.; CARBALHO, R. S.; ALVERANGA, C. D.; ARAUJO, E. L.; HAJI, F. N. P. 2001. Status of the *Ceratitis capitata* (Tephritidae) as a pest in the irrigated fruit crop project of northeast of Brazil. In: 4 th. Working Group on Fruit Flies of the Western Hemisphere. **Resumos**...Mendoza, Argentina p. 56.

NAVA, D. E.; SILVA, E. S.; GUIMARÃES, J. A.; DIEZ-RODRIGUEZ, G. I.; GARCIA, M. S.; BATISTA FILHO, A.; LEITE, L. G.; RAGA, A.; SATO, M. E. Controle biológico de pragas das frutíferas. In: PINTO, A. S.; NAVA, D. E.; ROSSI, M. M.; MALERBO-SOUZA, D. T. (Ed.). **Controle biológico de pragas na prática**. Barueri: Prol Editora, 2006. p. 113-129.

NORRBOM, A.L. **Fruit fly (Diptera: Tephritidae) classification and diversity**. 2004. Disponível em: <<http://www.sel.barc.usda.gov/diptera/tephriti/Tephclas.htm>>. Acesso em: 04 de junho de 2013.

PARANHOS, B. A. J.; NASCIMENTO, A. S.; BARBOSA, F. R.; VIANA, R.; SAMPAIO, R.; MALAVASI, A.; WALDER, J. M. M. **Técnica do Inseto Estéril: nova tecnologia para combater a mosca-das-frutas, *Ceratitis capitata*, no Submédio do Vale do São Francisco**. (Embrapa Semi-Árido. Comunicado Técnico, 137) Petrolina: Embrapa Semi-Árido, 2008. 6p.

POLL, H.; KIST, B. B.; SANTOS, C. E.; REETZ, E. R.; CARVALHO, C.; SILVEIRA, D. N. **Anuário brasileiro de fruticultura 2013**. Santa Cruz do Sul: Editora Gazeta, Santa Cruz, 2013. 136 p.

SAMPERIO, J. G.; VALENZUELA, G. P. Importância de la família Tephritidae en la fruticultura. In: CURSO INTERNACIONAL SOBRE MOSCA DE LA FRUTA, 6., 1992, Chiapas, México. **Resumo**...Metapa de Dominguez: Programa MOSCAMED, Chiapas, 1992.

WHITE, I. M.; ELSON-HARRIS, M. M. **Fruit flies of economic significance: their identification and bionomics**. Wallingford: CAB International, 1992. 601 p.

ZUCCHI, R. A. Mosca-do-mediterrâneo, *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae). In: VILELA, E. F.; ZUCCHI, R. A.; CANTOR, F. (Ed.). **Histórico e impacto das pragas introduzidas no Brasil**. Ribeirão Preto: Holos, 2001. cap. 1, p. 15-22.

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, 2000. cap. 1, p. 13-24.

CAPÍTULO 1

AVALIAÇÃO DE DIFERENTES FORMULAÇÕES DE DIETAS LARVAIS PARA *Ceratitis capitata* WIEDEMANN, 1824 (DIPTERA: TEPHRITIDAE) LINHAGEM MUTANTE VIENNA 8 - TSL¹

¹ Artigo a ser ajustado para submissão ao comitê editorial do periódico científico *Scientia Agricola*.

Avaliação de diferentes formulações de dietas larvais para *Ceratitis capitata* Wiedemann, 1824 (Diptera: Tephritidae) linhagem mutante Vienna 8 - *tsl*

Autora: Itala Cruz Damasceno

Orientador: Dr. Antônio Souza do Nascimento

Co-orientadora: Dra. Beatriz Jordão Paranhos

RESUMO - O custo da dieta larval e o rendimento ovo-pupa constituem um dos pontos chaves nos programas da Técnica do Inseto Estéril (TIE). Ingredientes locais que possibilitem uma adequada recuperação de pupas são altamente desejáveis. Entre os principais componentes da dieta, encontram-se: agentes texturizantes, carboidratos, conservantes e proteínas. Este último pode fazer a diferença no que se refere à qualidade dos insetos produzidos. Quatro formulações de dietas, com diferentes fontes de proteínas em diferentes quantidades foram testadas: dieta (1) levedura + gérmen de trigo, dieta (2) levedura + farelo de trigo, dieta (3) levedura e dieta (4) levedura + farinha de soja. Para cada tratamento (dieta) foram utilizadas cinco placas do tipo Gerbox contendo 200 g de dieta cada uma, onde foram semeados mil ovos de *Ceratitis capitata* Wiedemann (Diptera: Tephritidae), linhagem mutante Vienna 8 – *tsl*. As placas foram mantidas em salas com temperatura de 23 ± 2 °C, umidade relativa $70 \pm 10\%$, fotofase de 14 h. Larvas do terceiro ínstar foram coletadas entre o 7º - 12º dias após inoculação dos ovos na dieta. Foram avaliados os parâmetros: rendimento ovo-pupa, peso da pupa (mg), proporção de pupas brancas e marrons, emergência (%) e voadores (%). O rendimento ovo-pupa, emergência e voadores (machos e fêmeas) nas dietas 1 e 2, foram similares, embora estes parâmetros tenham sido menores quando comparados com as dietas 3 e 4. A dieta 2 apresentou valores de emergência (machos) e voadores (machos e fêmeas) inferiores ao parâmetro médio estabelecido pela IAEA/FAO para esta linhagem. O peso das pupas (machos e fêmeas) em todas as dietas esteve acima do valor mínimo exigido para esta linhagem, não existindo diferenças significativas entre as dietas testadas. As formulações 3 e 4 apresentaram os melhores resultados quanto ao rendimento ovo-pupa e a proporção de fêmeas. A proporção de fêmeas obtidas nestas dietas é altamente desejada para criação massal da linhagem *tsl*. As

quantidades de fontes protéicas oferecidas nas diferentes dietas não influenciaram na fecundidade e fertilidade de fêmeas adultas. Em países com elevada produção de levedura e soja como é o caso do Brasil, a utilização destes ingredientes como fontes protéicas poderia ser a melhor opção para ser usada na dieta larval de *C. capitata*.

Palavras-chave: mosca-do-mediterrâneo, criação massal, fontes de proteína.

Evaluation of different larval diets for development of *Ceratitidis capitata* Wiedemann, 1824 (Diptera: Tephritidae) Vienna 8 - *ts/* mutant strain

Author: Itala Cruz Damasceno

Adviser: Dr. Antônio Souza do Nascimento

Co-adviser: Dra. Beatriz Jordão Paranhos

ABSTRACT - The larval diet cost and yield pupae are one of the key points in a Sterile Insect Technical (SIT) program. Local ingredients are highly desired that give higher number of recovered pupae. Among the key ingredients in a diet, such as, bulking agent, sugar, preservatives, and protein, the last one can make the difference on the quality of reared insects produced. Four diets with protein sources in different quantities were tested: (1) yeast + wheat germ; (2) yeast + wheat flour; (3) yeast and (4) yeast + soybean flour. It was carried out five repetitions with 1000 eggs of *Ceratitidis capitata* Wiedemann (Diptera: Tephritidae), Vienna 8 – *ts/* strain, in 200 g for each larval diet, held at $23 \pm 2^\circ\text{C}$, $70 \pm 10\%$ RH and 14 h photophase. Third instar larvae were collected from 7th to 12rd days after eggs have been seeded. It was observed the egg-pupae recovery, the emergence and flyers percentage, pupae weight, and the proportion of female and male (white and brown pupae, respectively) in each diet. Egg-pupae recovery, emergence and flyers (males and females) from diets 1 and 2 were similar and lower than diets 3 and 4. Diet 2 yielded lower flyers (males and females) and emergence (males) than the minimal standard to *ts/* strain

according to International Atomic Energy Agency (IAEA). Male and female pupae weight from all diets had a suitable value according to quality control of *ts/* strain, and there was no significant difference among diets. The highest egg-pupae recovery and female proportion were obtained in diets 3 and 4. These diets have showed the best results in rearing *C. capitata*, Vienna 8 - *ts/* strain under Brazilian conditions, because the adults quality, egg-pupae recovery, and females proportion were excellent compared to the other ones. The proportion of females obtained in the collections of diet 3 and 4 is highly desired in *ts/* strains. Beside, in a country with the highest yeast and soybean production in the world, these protein sources can be the best option to be used as larval diet.

Key words: Medfly, mass rearing, protein source.

1 INTRODUÇÃO

Um dos principais requisitos para aplicação da técnica do inseto estéril (TIE) no controle de moscas-das-frutas é a produção em larga escala do inseto-praga que se deseja controlar. O aumento da produção implica necessariamente na utilização de grandes volumes de dietas artificiais para o desenvolvimento larval dos insetos. Entretanto, para que a ampliação da produção aconteça de forma rápida e gradual, dentro dos parâmetros biológicos adequados para o desenvolvimento do inseto, é necessária sua multiplicação em meio artificial que forneça os nutrientes essenciais e condições ambientais favoráveis. É imprescindível o estudo de novas fontes de alimentação alternativa, ricas em nutrientes, que viabilizem a produção de insetos em larga escala, mas que sejam suficientemente eficientes e tenham baixo custo de aquisição.

A criação em larga escala da mosca-do-mediterrâneo, *C. capitata*, com aplicação para TIE requer à curto prazo, elevados investimentos financeiros, principalmente, por exigir uma alta demanda de insumos, mão-de-obra capacitada e qualificada e infra-estrutura adequada. Para utilização desta técnica no Brasil, foi

necessária a instalação de uma biofábrica. Em agosto de 2005, foi implantada na cidade de Juazeiro-BA, a Biofábrica Moscamed Brasil (BMB), com o propósito de criação em larga escala de *C. capitata* para aplicação da TIE no combate à alta infestação desta praga no pólo de fruticultura irrigada do Vale do Submédio do São Francisco (VSF). O VSF foi escolhido por ser considerado o maior pólo de exportação de frutas frescas do país, tendo como principais culturas de exportação, a uva (*Vitis vinifera* L.) fina de mesa e a manga (*Mangifera indica* L.), que são produzidas durante quase todo o ano e são alvos constantes de ataques por *C. capitata* (BMB, 2013).

A TIE é o principal componente de muitos programas de controle integrado de moscas-das-frutas no mundo (DYCK et al., 2005). Entretanto, para sua adequada utilização em programas de ação, os insetos devem ser produzidos em grande número, esterilizados e liberados sistematicamente nas áreas agrícolas, onde os machos estéreis copulam com as fêmeas selvagens, evitando sua reprodução (KNIPLING, 1955).

Diante da necessidade de produção em larga escala para TIE, inicialmente, os insetos selvagens eram coletados no campo e colonizados artificialmente. Entretanto, essa prática era bastante onerosa e despendia uma necessidade maior de mão de obra. Com o avanço dos conhecimentos da genética, das espécies em questão e da biologia molecular, novas estratégias foram desenvolvidas, permitindo manipular certas características biológicas para gerar novas linhagens mais eficientes. Uma destas linhagens possibilitou a produção de somente machos, que são os indivíduos que objetivamente contribuem para a indução da esterilidade no campo. Mais recentemente, foram desenvolvidas linhagens da mosca-do-mediterrâneo que permitem a separação dos sexos na fase embrionária do inseto e também na fase de pupa pela diferença de cor. Estas linhagens são conhecidas como linhagens de sexagem genética, GSS (*Genetic Sexing Strain*), e estão embasadas em uma translocação recíproca entre o cromossomo que determina o sexo masculino e o autossoma que transporta o marcador ou a mutação utilizada para construir o sistema de sexagem (ROSSLER, 1979a; ROBINSON & VAN HEEMERT, 1982; KERREMANS & FRANZ, 1994).

Atualmente, a linhagem de *C. capitata* mais utilizada em programas da TIE a nível mundial é a linhagem de sexagem genética *tsl* (*temperature sensitive lethal*), que foi desenvolvida com a finalidade de permitir a separação dos sexos desde a fase embrionária (ROBINSON et al., 1999). Esta linhagem leva como mutações a sensibilidade letal à temperatura, *tsl* (FRANZ et al., 1996), e a cor branca do pupário, *wp* (*white pupae*) (ROSSLER, 1979b), produzindo embriões de fêmeas sensíveis à temperatura e fêmeas adultas emergindo de pupário de cor branca, e embriões machos, mais resistentes à temperatura, que emergem de pupário de cor marrom. A separação dos sexos é realizada mediante a exposição dos ovos a uma temperatura de 34 °C por 24 h (FISHER & CÁCERES, 2000; CÁCERES et al., 2000). Após o tratamento térmico dos ovos, ocorre a morte dos embriões das fêmeas e a linhagem mantém sua configuração apropriada, dando continuidade somente à produção de machos originados de pupas marrons.

Na BMB a linhagem de *C. capitata* utilizada na produção em larga escala é a linhagem mutante Vienna 8 - *tsl* (GSS), importada da Agência Internacional de Energia Atômica (IAEA), Vienna, Áustria, e vem sendo utilizada atualmente no programa de supressão da mosca-do-mediterrâneo no VSF (PARANHOS et al., 2008).

Para a criação massal desta linhagem de *C. capitata* nas biofábricas, a utilização de uma dieta artificial balanceada oferecida durante a fase larval do inseto constitui um dos requisitos mais importantes. As moscas-das-frutas, como qualquer inseto, apresentam requerimentos nutricionais qualitativos necessários tanto na fase adulta quanto imatura, que são universais. Estes são: proteínas, carboidratos, lipídios, vitaminas do complexo B e sais minerais. Os três primeiros, macronutrientes, que são requeridos em maior quantidade e os dois últimos, micronutrientes, em menores quantidades (DADD, 1985; JOACHIM-BRAVO, 2009).

As necessidades nutricionais dos insetos variam de acordo com a fase da vida (crescimento, reprodução, dispersão) e com fatores abióticos como temperatura, umidade, luminosidade e outros. Se as necessidades nutricionais dos insetos não são satisfeitas pelo alimento utilizado, eles sofrerão danos na sua performance, como o aumento do tempo de desenvolvimento, fecundidade e fertilidades reduzidas, tamanho do adulto reduzido, o que pode interferir na

capacidade de cópula e dispersão, entre outros fatores (CHAPMAN, 1998). Na fase imatura, a quantidade e a qualidade dos nutrientes consumidos afetam parâmetros como: o peso da pupa, o tempo de desenvolvimento larval, a sobrevivência, a composição química do corpo, o tamanho do adulto e a produção de óvulos nas fêmeas, em alguns casos. Na fase adulta, a nutrição é importante para a produção de ovos, habilidade de cópula, sobrevivência, capacidade de dispersão e a renovação cuticular, entre outros fatores (SLANSKY JUNIOR & SCRIBER, 1985; CRESONI-PEREIRA, 2009).

As dietas larvais para moscas-das-frutas são elaboradas com componentes orgânicos não purificados (oligídicas) e baseadas na formulação original sugerida por Tanaka et al (1969). Geralmente essas contêm farelo e sabugo de milho moído ou bagaço de cana e outros componentes com propriedades similares, como agente texturizante, disponíveis regionalmente; levedura, como fonte de proteína; açúcar como fago-estimulante e fonte de carboidratos; ácido cítrico ou ácido clorídrico como reguladores do pH e inibidores de crescimento de bactérias; e ainda benzoato de sódio, como inibidor de crescimento de fungos e leveduras (CHANG et al., 2001). E ainda há o componente que ocupa a maior proporção, a água (ao redor de 60%). A água desempenha um importante papel em minimizar o calor metabólico que é gerado durante o último estágio de desenvolvimento larval (DOMINGUEZ et al., 2010).

O rendimento ovo-pupa ou recuperação de pupas decorrente da utilização de uma dieta larval adequada dentro do processo de produção é ponto chave num programa para TIE. Pequenas variações nos ingredientes da dieta larval podem resultar em grande diferença no rendimento da colônia de criação. O uso de ingredientes que garantam um adequado rendimento de pupas é altamente desejado durante o processo.

Neste sentido, a seguinte pesquisa teve como objetivo avaliar o desenvolvimento larval de *C. capitata* linhagem mutante Vienna 8 – *ts1* a partir do estudo de quatro formulações de dietas larvais com o propósito de determinar qual a dieta com maior rendimento de pupas, sem afetar a qualidade dos adultos e com melhor custo-benefício, para ser introduzida no processo de produção da BMB.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Experimento 1. Avaliação de quatro formulações de dieta para o desenvolvimento larval de *C. capitata*, linhagem mutante Vienna 8 - *tsl*.

O experimento foi conduzido no Laboratório de Cria Massiva, da Biofábrica Moscamed Brasil, Juazeiro, Bahia, em salas climatizadas com temperaturas entre 18-23 °C, umidade relativa (UR) de $70 \pm 10\%$ e fotofase de 14 horas. O material biológico utilizado nesse trabalho foi proveniente da colônia de *C. capitata* linhagem mutante *tsl* - Vienna 8 da BMB. Todo o procedimento utilizado para preparação das dietas, bem como o controle de qualidade, foi realizado com base no Manual de Controle de Qualidade da Agência Internacional de Energia Atômica (FAO/IAEA/USDA, 2003).

Foram testadas quatro formulações de dietas larvais (Tabela 1), com diferentes composições nutricionais. Para cada formulação testada foram feitas cinco repetições, utilizando-se cinco placas do tipo Gerbox (11x11x3cm) que continham 200 g de dieta, cada uma. Para cada réplica, foram semeados sobre as dietas artificiais 1000 ovos de *C. capitata*, linhagem mutante *tsl* - Vienna 8, com 48h de idade (Figuras 1A e 1B).

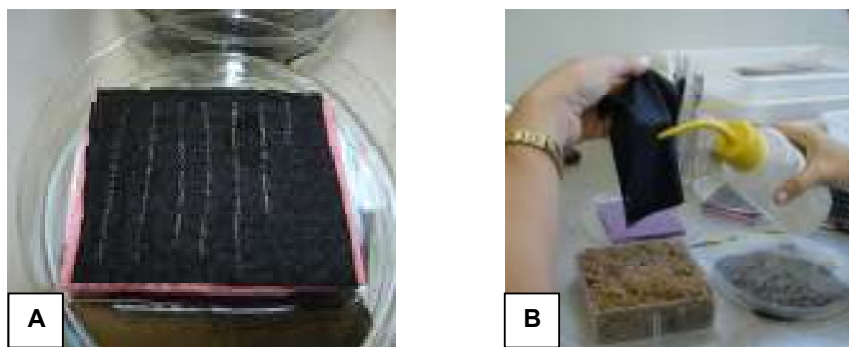


Figura 1. Placa contendo 1000 ovos (A). Ovos sendo inoculados em dieta artificial (B).

Tabela 1. Composição das dietas artificiais utilizadas para o desenvolvimento larvário de *C. capitata*, linhagem mutante Vienna 8 - *tsl*. Juazeiro (BA), 2013.

Ingredientes (%)	Dieta larval*			
	Dieta 1	Dieta 2	Dieta 3	Dieta 4
Bagaço de cana	13,38	14,80	19,00	13,40
Farinha de Trigo	3,79	0,00	0,00	0,00
Farinha de Soja	0,00	0,00	0,00	8,24
Germe de Trigo	3,79	4,00	0,00	0,00
Açúcar Cristal	11,38	11,90	12,00	8,24
Levedura de cerveja	8,53	8,90	9,00	8,24
Methylparaben (Nipagin)	0,00	0,00	0,40	0,24
Benzoato de Sódio	0,28	0,27	0,30	0,20
Acido cítrico	1,70	1,70	1,30	1,50
Tetraciclina	0,02	0,00	0,00	0,00
Água Filtrada	57,13	58,40	58,00	59,94
Total	100	100	100	100

*As colunas representam a porcentagem (%) de cada nutriente por cada 100 gramas de dieta.

Para testar a viabilidade dos ovos semeados, antes da inoculação dos mesmos na dieta, uma amostra foi escolhida ao acaso para avaliar a taxa de eclosão das larvas (fertilidade). Placas de Petri (90x15mm) contendo uma esponja coberta com tecido preto foram usadas para a melhor visualização da eclosão das larvas e com ajuda de um pincel macio foram enfileirados e colocados sob o tecido. Transcorridas 96 horas após a montagem das placas, a eclosão foi avaliada com auxílio de um microscópio estereoscópico binocular com aumento de 40x. A taxa de eclosão foi determinada mediante a fórmula: taxa de eclosão= (No. de larvas eclodidas/total de ovos) X 100 (FAO/IAEA/USDA, 2003).

Após cinco dias, cada placa com dieta foi colocada dentro de uma bandeja plástica (38x27x10cm) contendo água, e em seguida, cobertas com tecido voal (Figuras 2A e 2B). Transcorridos sete dias, após a inoculação dos ovos, as larvas começaram a saltar das dietas nas placas para a bandeja com água, à medida que atingiam o final do 3º estágio de desenvolvimento larvário; e durante seis dias consecutivos, efetuou-se a coleta das larvas. O desenvolvimento larval foi conduzido

em salas com temperatura e umidade relativa, controladas ($T= 19-23\text{ }^{\circ}\text{C}$ e $UR=70 \pm 10\%$).

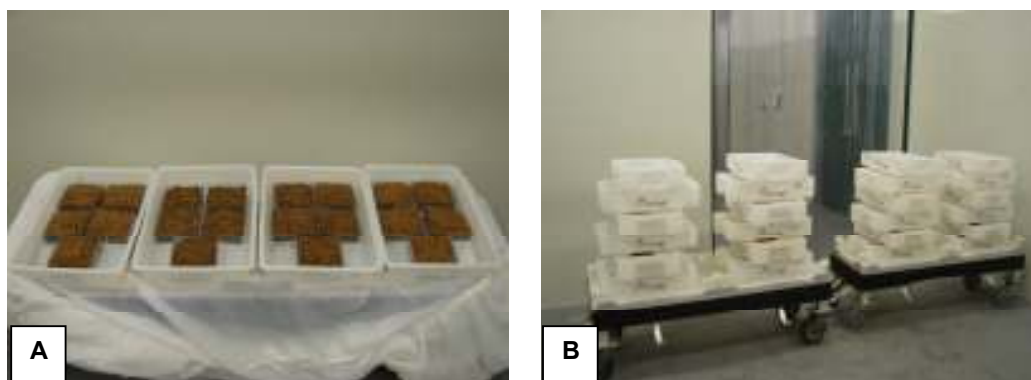


Figura 2. Bandejas contendo as placas com dietas larvais (A). Bandejas prontas para as coletas larvais (B).

As larvas coletadas, diariamente, de cada bandeja foram retiradas da água e acondicionadas separadamente em placas de Petri (150x20mm) que continham uma camada de vermiculita no fundo como substrato de pupação. As placas com pupas foram mantidas durante oito dias em ambiente escuro climatizado à uma temperatura de $18 \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ e umidade relativa de $80 \pm 10\%$.

Dois dias antes da emergência dos adultos, a vermiculita foi peneirada para recuperação das pupas. Em seguida, as pupas marrons foram separadas das pupas brancas, contadas e colocadas em placas de petri.

Os parâmetros avaliados foram: rendimento ovo-pupa; n^o. de pupas/mL; peso da pupa; emergência (%) e adultos voadores (%); proporção de machos (♂) e fêmeas (♀); para cada dieta testada.

O rendimento ovo-pupa (recuperação de pupas) foi determinado através da relação N^o de pupas recuperadas/N^o de ovos inoculados. Finalizada esta avaliação, de cada repetição foi retirada uma amostra de pupas, sendo avaliado o número de pupas/mL. O peso das pupas foi verificado em balança analítica de precisão, modelo AR3130 e desvio de 0,001g (FAO/IAEA/USDA, 2003).

Para determinar a emergência de adultos (%) e voadores (%), nos diferentes tratamentos testados, outra amostra/tratamento/repetição de pupas foi retirada ao acaso. Esta amostra foi subdividida em três grupos de 100 pupas cada. As pupas foram colocadas no centro de um círculo de papel sulfite (1 cm de altura e raio de 3 cm), e acondicionadas dentro de placas de Petri (90x15mm). Foram colocados dentro de cada placa de Petri, tubos negros de PVC com altura de 10 cm e 9 cm de diâmetro interno, polvilhado com talco inodoro nas paredes internas para impedir que as moscas saíssem caminhando. Posteriormente, os tubos referentes a cada tratamento foram transferidos para uma gaiola de acrílico (30x30x30cm) que continha pendurados no teto armadilhas adesivas de cor amarela (5 cm x 5 cm) para captura dos adultos voadores (Figura 3) (FAO/IAEA/USDA, 2003).



Figura 3. Gaiola contendo tubos de PVC com pupas para o teste de adultos voadores.

Após cinco dias da emergência dos adultos, o material foi avaliado e o número de adultos semi-emergidos (SE), normal não voador (NN), não voador defeituosos (DF) e pupários fechados (PF) foi contado. O percentual de emergência foi calculado através da fórmula: $(N^{\circ} \text{ adultos emergidos} / \text{total de pupas}) \times 100$. Para o percentual de voadores utilizou-se a fórmula: $100 - (PF - SE - NN - DF) \times 100$ (FAO/IAEA/USDA, 2003).

As quatro formulações de dietas testadas tiveram como agente texturizante o bagaço de cana-de-açúcar. Na dieta 1 foi utilizada como fontes de proteína a farinha de trigo, germe de trigo e levedura de cerveja. Na dieta 2, foi usado o germe de trigo

e levedura de cerveja. A dieta 3, foi colocada somente levedura e na dieta 4, utilizou-se farinha de soja e levedura de cerveja como fontes de proteína. A análise nutricional de cada ingrediente utilizado como fonte de proteína foi realizado com base na tabela 2.

Tabela 2. Tabela nutricional dos ingredientes utilizados como fontes de proteínas nas dietas testadas. Juazeiro (BA), 2013.

Tabela nutricional dos ingredientes* (Porção de 100g)		Gémen de trigo NDB Nº 20078	Farinha de soja NDB Nº 16416	Farinha de trigo NDB Nº 20081	Levedura de cerveja NDB Nº 18375
Água	g	11,12	3,81	11,92	5,08
Calorias	kcal	360,00	439,00	364,00	325,00
Proteína	g	23,15	38,09	10,33	40,44
Carboidratos, por diferença	g	51,80	30,38	76,31	41,22
Lípides totais (gordura)	g	9,72	21,86	0,98	7,61
Fibra total dietética	g	13,20	0,00	2,70	26,90
Açúcares totais	g	0,00	0,00	0,27	0,00
Minerais					
Cálcio, Ca	mg	39,00	188,00	15,00	30,00
Ferro, Fe	mg	6,26	5,82	4,64	2,17
Magnésio, Mg	mg	239,00	369,00	22,00	54,00
Fósforo, P	mg	842,00	476,00	108,00	637,00
Potássio, K	mg	892,00	2041,00	107,00	955,00
Sódio, Na	mg	12,00	12,00	2,00	51,00
Zinco, Zn	mg	12,29	3,58	0,70	7,94
Total	mg	2042,55	3095,40	259,34	1737,11
Total	g	2,04	3,10	0,26	1,74
Vitaminas					
Vitamina C, ácido ascórbico	mg	0,00	0,00	0,00	0,30
Tiamina	mg	1,88	0,41	0,79	10,99
Riboflavina	mg	0,50	0,94	0,49	4,00
Niacina	mg	6,81	3,29	5,90	40,20
Vitamina B-6	mg	1,30	0,35	0,04	1,50
Folato total	mg	0,28	0,23	0,29	2,34
Vitamina A, RAE	mg	0,00	0,01	0,00	0,00
Vitamina A, IU	IU	0,00	110,00	0,00	0,00
Vitamina E (alpha-tocophero	mg	0,00	0,00	0,06	0,00
Vitamina K (phyloquinone)	µg	0,00	0,00	0,30	0,40
Total	mg	10,78	5,22	7,58	59,33
Total	g	0,01	0,01	0,01	0,06
Lipídios					
Ácidos graxos, total saturad	g	1,67	3,16	0,16	1,00
Ácidos graxos, total mono-in	g	1,37	4,83	0,09	4,31
Ácidos graxos, total poli-insa	g	6,01	12,34	0,41	0,02
Total	g	9,04	20,33	0,66	5,33

* Tabela nutricional elaborada com base nos ingredientes utilizados como fontes de proteínas. Fonte: USDA Nutrient Database for Standard Reference, Release 25 (Maio 2013).

2.2 Experimento 2. Fecundidade e fertilidade de fêmeas de *Ceratitis capitata*, linhagem mutante Vienna 8 – *ts/*, desenvolvidas em diferentes formulações de dieta larval. Juazeiro (BA), 2013.

Para estudar a possível influência do substrato larval nos parâmetros reprodutivos das fêmeas: fecundidade (número de ovos produzidos) e fertilidade (número de larvas eclodidas) foi realizado um segundo experimento.

Este experimento foi conduzido no mesmo local e sob condições ambientais semelhantes a do experimento 1. Os parâmetros avaliados foram: número de ovos produzidos pelas fêmeas e a taxa de eclosão de larvas das fêmeas procedentes das quatro formulações de dietas larvais testadas (Tabela 1).

Para cada formulação testada foi utilizada uma bandeja plástica (50x40x3cm) que continham 3 kg de dieta, cada uma. Em cada dieta, foram semeados 1,5 mL de ovos de *C. capitata*, linhagem mutante Vienna 8 - *ts/*, com 48 h de idade. As coletas larvais e de pupas foram realizadas seguindo a metodologia aplicada no experimento anterior.

Das pupas coletadas, foram retiradas amostras ao acaso para cada dieta, aproximadamente, 3000 pupas marrons (machos) de 1ª coleta e 3000 pupas brancas (fêmeas) de 4ª coleta, pois são os melhores machos e fêmeas da colônia de criação da linhagem mutante *ts/* (BMB, 2013). Essas pupas foram confinadas separadamente em gaiolas (baleiros plásticos de 3,5 litros de capacidade), para aguardar a emergência dos adultos. No segundo dia após a emergência, os adultos foram retirados dos baleiros. Destes, 15 machos e 15 fêmeas, foram transferidos para baleiro plástico (3,5 litros) adaptado para oviposição (tela voal de 6 x 10 cm, na lateral) (Figura 4), contendo água filtrada e dieta de adulto na proporção de 1 parte de proteína hidrolizada Biones® para 3 partes de açúcar (SILVA NETO et al., 2012). Foram montadas cinco repetições para cada tratamento (dieta larval testada).



Figura 4. Gaiolas (“baleiros”) para postura das fêmeas.

No terceiro dia após a emergência, as fêmeas começaram a copular com os machos e já no quinto dia teve início a postura dos ovos. Os ovos foram coletados durante dez dias consecutivos e com ajuda de um pincel macio foram colocados em placas de Petri (90x15mm) com uma esponja coberta com tecido preto para posterior contagem e visualização da eclosão das larvas. As placas de Petri contendo os ovos foram transferidas para B.O.D. a uma temperatura de 25 °C durante 96 horas. Após esse período, o material foi avaliado com auxílio de um microscópio estereoscópico binocular com aumento de 40x. O número total de ovos foi contado e a taxa de eclosão foi determinada mediante a fórmula: taxa de eclosão= (No. de larvas eclodidas/total de ovos) X 100 (FAO/IAEA/USDA, 2003).

2.3 Análise estatística

Para os dois experimentos, o delineamento experimental utilizado foi o Desenho Inteiramente Casualizado (DIC) com 4 tratamentos (formulações de dietas) e 5 repetições. Os dados foram analisados estatisticamente mediante a utilização do programa SAS versão 9.0. Os resultados obtidos foram submetidos a análises de variância. Para comparação das médias entre os tratamentos foi realizado o teste de Tukey (5 % de significância).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Experimento 1

As dietas ou formulações que apresentaram o maior rendimento ovo-pupa foram a 3 (0,38) e 4 (0,41), não existindo diferenças estatisticamente significativas entre elas. A “recuperação de pupas” foi menor para as formulações 1 e 2. Estas formulações não apresentaram diferenças entre elas, mas apresentaram diferenças estatisticamente significativas com as dietas 3 e 4 (Figura 5). Quando se trata de linhagens GSS *ts/* no processo de criação massal, as dietas larvais devem permitir uma “recuperação de pupas” igual ou superior a 30%, em especial, a quantidade de pupas brancas (fêmeas) deve ser representativa, quando se objetiva a ampliação das colônias e consequente aumento da produção de ovos na geração subsequente.

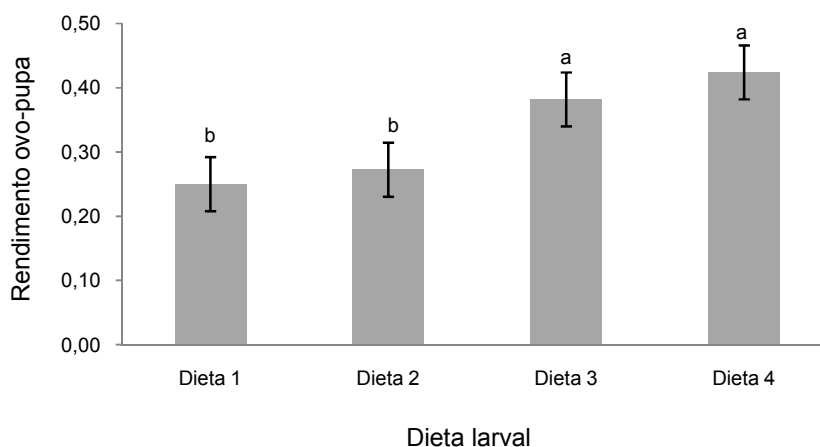


Figura 5. Rendimento ovo-pupa de *Ceratitits capitata* linhagem mutante Vienna 8 - *ts/* em diferentes dietas larvais. Juazeiro (BA), 2013. As colunas representam as médias \pm erro padrão dos tratamentos. Colunas com letras diferentes apresentam diferenças estatisticamente significativas entre elas (Teste de Tukey, $p < 0.0001$, $F_{5,29} = 17,52$).

Analisando a composição nutricional das dietas testadas (Figura 6), pôde-se observar que a formulação 4 possui quantidades de proteínas e lipídios superior às outras formulações, e as quantidades de carboidratos foram fornecidas em nível mais próximo aos níveis de proteínas. Esta dieta possui uma maior proporção de

proteína no fornecimento de levedura mais farinha de soja (6,44 g/100g dieta) em comparação ao fornecido nas dietas 1, 2 e 3 (4,7, 4,5 e 3,6 g/100g de dieta, respectivamente). As altas concentrações de carboidratos (açúcares) na dieta parecem influenciar negativamente quanto a este parâmetro, já que este aspecto pode estar relacionado com a alta recuperação de pupas observada. O tipo e o percentual de proteína, assim como a menor quantidade de carboidrato utilizado foram preponderantes para o desenvolvimento das larvas e a viabilidade dos adultos. Segundo Fay (1989), as proteínas têm papel importante na construção e regeneração de órgãos e tecidos do corpo do inseto. Na dieta 3, embora tenha sido oferecida uma quantidade de proteínas menor do que nas outras dietas (3,6g/100g de dieta), ela possui, assim como na dieta 4, uma quantidade de carboidratos menor quando comparado as dietas 1 e 2, aspecto que permitiu também um bom rendimento ovo-pupa e uma quantidade de pupas brancas satisfatória. Este aspecto parece demonstrar que quanto menor o fornecimento de carboidratos ou mais equilibrado a relação de carboidratos e proteínas nesta fase de desenvolvimento do inseto melhor será o rendimento da dieta.

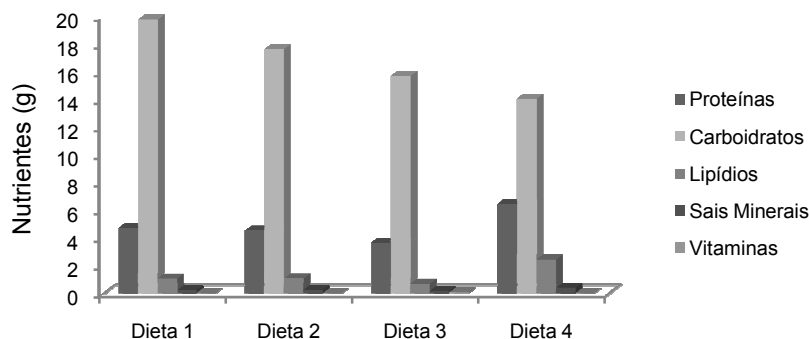


Figura 6. Composição nutricional das quatro formulações larvais testadas. Juazeiro (BA), 2013. As colunas apresentam a porcentagem de cada nutriente por cada 100g de dieta.

O peso das pupas (brancas e marrons) obtidas em todas as dietas testadas, manteve-se acima do parâmetro aceitável para a linhagem mutante *ts/* (7,0 mg) (Figura 7) (FAO/IAEA/USDA, 2003). Embora a menor recuperação de pupas tenha ocorrido na dieta 1, as pupas brancas (fêmeas) foram as mais pesadas (9,7 mg) e conseqüentemente obtiveram o menor número de pupas/mL (50), visto que este

parâmetro é inversamente proporcional ao peso (Figuras 7 e 8). Nas dietas 3 e 4 onde se obteve o maior número de pupas, o peso das pupas brancas foi menor do que o observado nas dietas 1 e 2. Isto era esperado, como o total de pupas recuperadas foi maior nessas dietas, mais larvas se alimentavam. Como uma estratégia de sobrevivência natural da espécie, as larvas passaram menos tempo na dieta para evitar competição por alimento e ficaram um pouco mais leves. Neste parâmetro, a dieta 1 não diferiu estatisticamente da dieta 2, porém houve diferença estatística entre as dietas 3 e 4 (Figura 9). É importante ressaltar que foi observado durante o experimento que as larvas oriundas das dietas 1 e 2 levaram mais tempo para saltar da dieta, ficando tempo superior ao esperado, o que em processos de cria massiva em biofábricas, não é desejável. Esse aspecto também pode ser explicado devido à alta concentração de carboidratos na dieta, pois a torna mais pegajosa dificultando a mobilidade das larvas. Isso também explica o maior peso das pupas nessas dietas. Quanto ao peso das pupas marrons não houve diferenças estatísticas significativas entre os tratamentos. Entretanto, as pupas de machos foram menos pesadas do que as pupas de fêmeas. Isso ocorre devido ao comportamento da linhagem GSS *tsl*, os machos tendem a saltar primeiro da dieta e as fêmeas, provavelmente, para absorver maiores quantidades de proteínas para maturação de ovos, saltam mais tardiamente, ficando mais pesadas do que os machos.

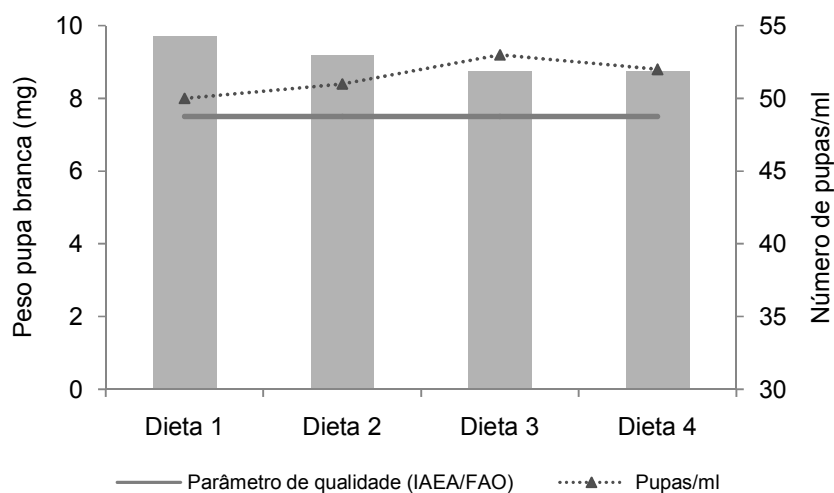


Figura 7. Peso da pupa branca (mg) e a quantidade de pupas obtidas/mL. Juazeiro (BA), 2013. As colunas representam as médias \pm erro padrão dos tratamentos.

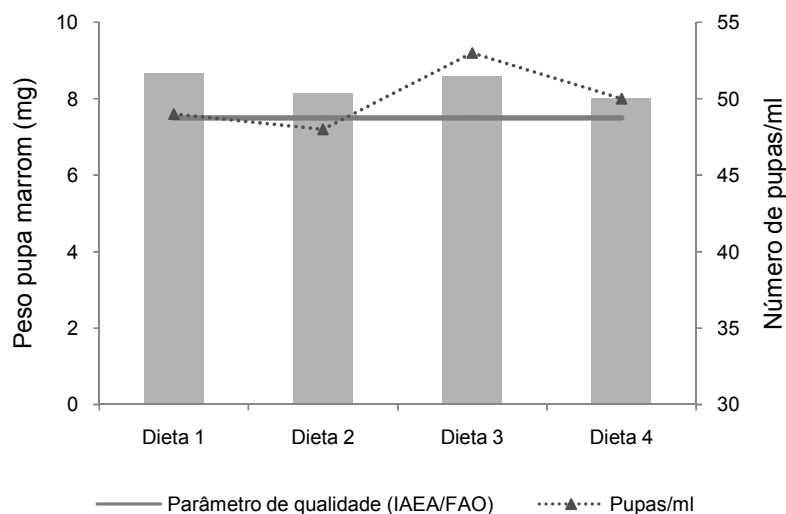


Figura 8. Peso da pupa marrom (mg) e a quantidade de pupas obtidas/mL. Juazeiro (BA), 2013. As colunas representam as médias \pm erro padrão dos tratamentos.

O peso corporal é um dos fatores fundamentais no processo de metamorfose dos insetos. Um armazenamento adequado de reservas nutritivas é extremamente importante, pois garante um desenvolvimento pupal satisfatório (CRUZ et al., 2000). Em geral, as dietas com maior rendimento ovo-pupa, desenvolveram pupas mais leves, porém este parâmetro foi superior ao estabelecido pela IAEA/FAO (2003) para todas as dietas testadas, não interferindo na emergência dos adultos.

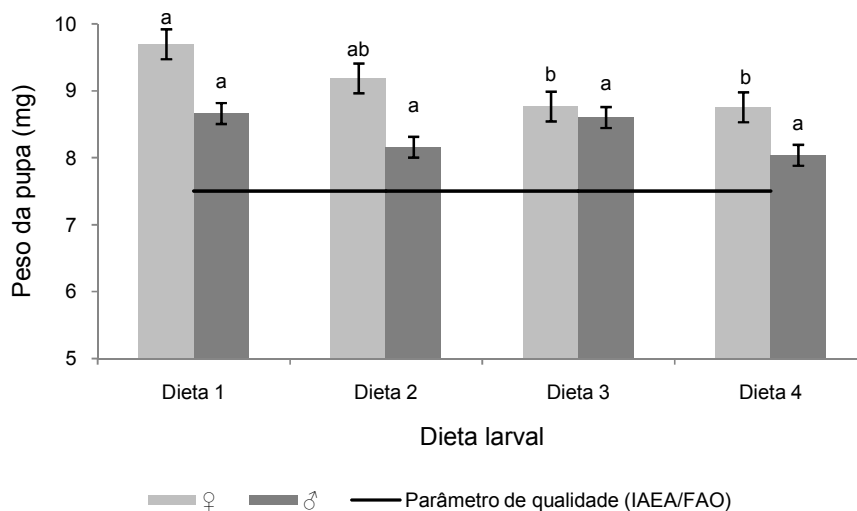


Figura 9. Peso das pupas brancas (fêmeas) e marrons (machos) desenvolvidas nas diferentes formulações testadas. Juazeiro (BA), 2013. As colunas representam as

médias \pm erro padrão dos tratamentos (fêmeas: $p < 0.01$, $F_{5,29} = 7,48$; machos: $p = 0.1264$, $F_{3,24} = 2,21$).

A proporção de pupas (brancas e marrons), nas dietas 3 e 4 mostraram os melhores resultados. Na dieta 3, a proporção de fêmeas foi de 43,5% em relação aos machos, 56,5%. Já a dieta 4, para fêmeas e machos, foi obtida 42,1% e 57,9%, respectivamente. Uma relação de machos e fêmeas mais equilibrada é altamente desejado no processo de cria massiva de *C. capitata*, Vienna 8 - *ts/* (Figura 10). A quantidade de pupas brancas deve ser cuidadosamente analisada, visto que para as colônias matrizes de reprodução o número de fêmeas pode fazer muita diferença. A proporção de fêmeas utilizada é de cinco para cada macho, pois o objetivo principal é a produção de ovos. As dietas 3 e 4 não apresentaram diferença estatística entre elas quanto a proporção de pupas brancas, porém diferiram significativamente das dietas 1 e 2. A dieta 1, apresentou a menor proporção de pupas brancas (18,8%), o que representa uma diferença de quase 25% a menos de pupas brancas quando comparada com as dietas 3 e 4.

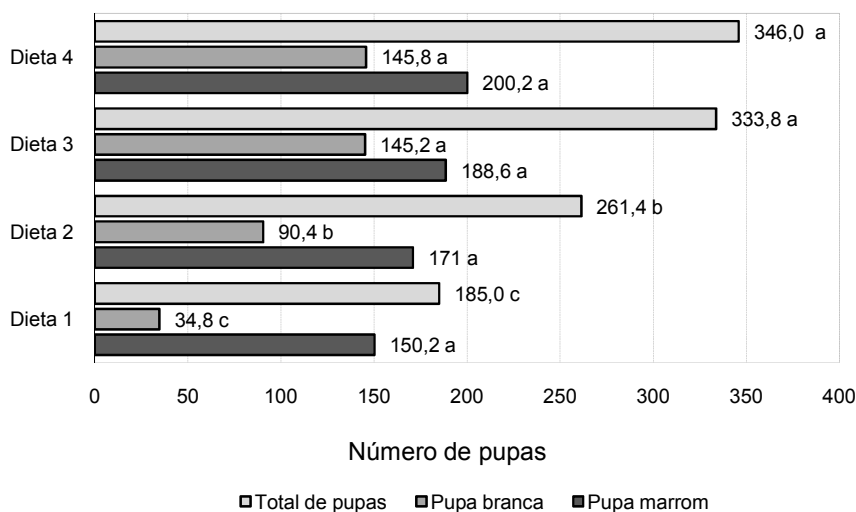


Figura 10. Número total de pupas e razão sexual da progênie de *Ceratitís capitata* linhagem mutante Vienna 8 - *ts/* obtida nas diferentes formulações de dietas testadas. Juazeiro (BA), 2013. As barras representam as médias. Colunas com letras diferentes apresentam diferenças estatisticamente significativas entre elas (Teste de Tukey, total de pupas: $p < 0.0001$, $F_{5,29} = 32,58$; pupa branca: $p < 0.001$, $F_{5,29} = 43,54$; pupa marrom: $p < 0.0564$, $F_{5,29} = 3,10$).

Os resultados obtidos dos parâmetros de emergência e de voadores (machos e fêmeas) estão apresentados nas figuras 11 e 12. O comportamento do inseto nos dois parâmetros, para os tratamentos 1 e 2 foram similares, porém com resultados inferiores ao parâmetro requerido pela IAEA/FAO quando comparados aos tratamentos 3 e 4. Entretanto, só houve diferença significativa entre os machos. A emergência nas dietas 1 e 2, ficou muito próximo ou abaixo do parâmetro requerido pela IAEA/FAO e a porcentagem de voadores, foi similar, não apresentando diferença estatística. Os parâmetros de emergência e voadores para fêmeas, em todas as dietas, não apresentaram diferenças estatísticas significativa, entretanto, as dietas 3 e 4 tiveram resultados superiores aos parâmetros da IAEA/FAO. A dieta 2 foi a única que apresentou valor de emergência (machos) inferior ao parâmetro mínimo estabelecido pela IAEA/FAO e voadores (machos e fêmeas) muito próximo ao parâmetro mínimo estabelecido para a linhagem mutante *ts/* (FAO/IAEA/USDA, 2003). As reservas nutritivas para os dois parâmetros geram resultados muito importantes quando se objetiva machos e fêmeas saudáveis, emergidos sem defeitos e voadores aptos para acasalar.

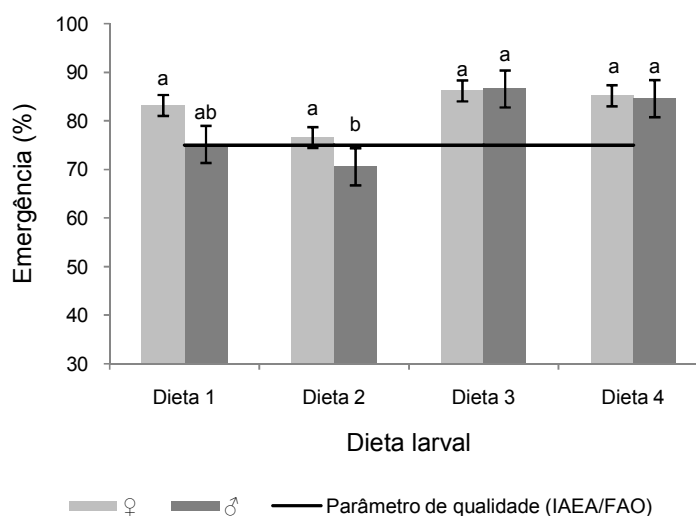


Figura 11. Emergência de adultos fêmeas e machos de *Ceratitits capitata* linhagem mutante *ts/* - Vienna 8 desenvolvidos em diferentes dietas larvais. Juazeiro (BA), 2013. As colunas representam as médias \pm erro padrão dos tratamentos. Médias

com letras iguais não apresentam diferenças estatisticamente significativas entre elas (fêmeas: $p=0,1482$, $F_{3,24}=2,04$; $p<0,05$, $F_{3,24}=5,20$).

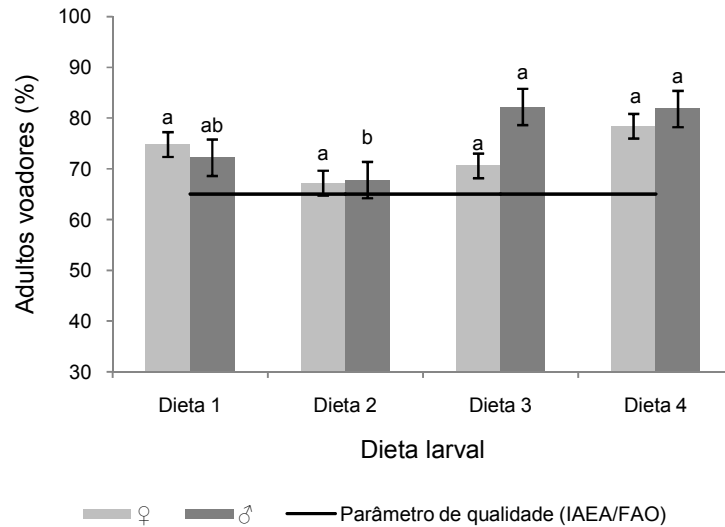


Figura 12. Adultos voadores de *Ceratitis capitata* linhagem mutante *tsl* - Vienna 8 desenvolvidos em diferentes dietas larvais. Juazeiro (BA), 2013. As colunas representam as médias \pm erro padrão dos tratamentos. (fêmeas: $p=0,1690$, $F_{3,24}=1,91$; machos: $p<0,05$, $F_{3,24}=4,84$).

3.2 Experimento 2

Os resultados da fecundidade e fertilidade média das fêmeas adultas oriundas das dietas testadas são apresentados nas figuras 13 e 14. Os valores desses dois parâmetros reprodutivos foram semelhantes para as quatro formulações avaliadas. Não houve diferenças estatísticas significativas entre os tratamentos, o que indica que as diferenças no balanço nutricional entre as dietas larvais não influenciaram nesses dois parâmetros de adultos.

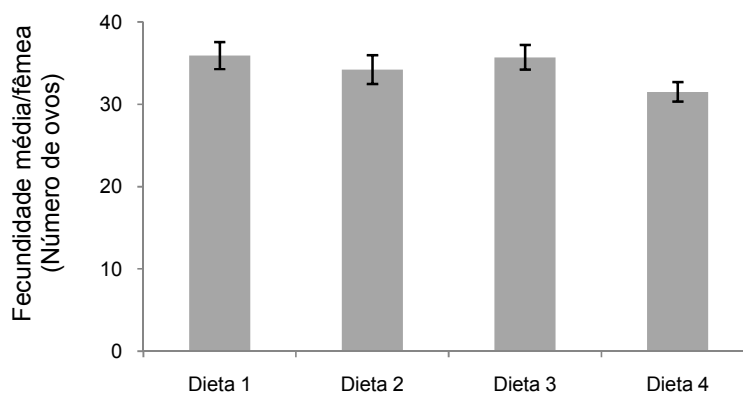


Figura 13. Fecundidade média diária de fêmeas de *Ceratitis capitata*, linhagem mutante Vienna 8 – *ts/* recuperadas das dietas testadas. Juazeiro (BA), 2013. As colunas representam as médias dos tratamentos \pm erro padrão das médias. Não houve diferenças estatísticas entre os tratamentos. $F_{1,47} = 3,29$, $p = 0,2618$.

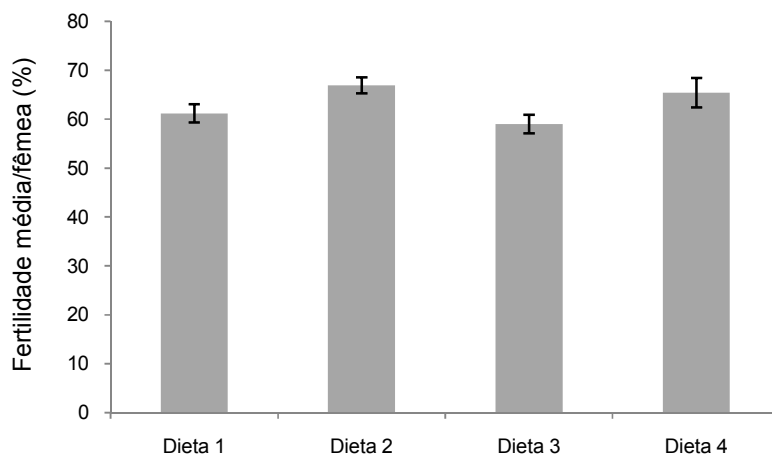


Figura 14. Fertilidade média diária de fêmeas de *Ceratitis capitata*, linhagem mutante Vienna 8 – *ts/* recuperadas das dietas testadas. Juazeiro (BA), 2013. As colunas representam as médias dos tratamentos \pm erro padrão das médias. Não houve diferenças estatísticas entre os tratamentos. $F_{3,23} = 3,29$, $p = 0,0526$.

As figuras 15, 16, 17 e 18, mostram as médias da fecundidade e fertilidade das fêmeas durante 10 dias consecutivos nas quatro formulações testadas. A partir

do 2º dia a produção de ovos aumentou gradativamente. As fêmeas desenvolvidas nas dietas 1 e 2 atingiram o pico de produção de ovos ao 6º dia com média de 45,7 e 47,1 ovos/fêmea, respectivamente. Para as fêmeas oriundas da dieta 3 a maior produção de ovos foi observada entre o 6º e o 9º dia. As fêmeas procedentes da dieta 4, apresentaram uma produção de ovos mais estável desde os primeiros dias, não manifestando um pico de produção característico. A fertilidade manteve-se superior a 55% o que é satisfatório para esta linhagem segundo o manual da IAEA/FAO (2003). A fertilidade média obtida na dieta 1 foi 61,2%, dieta 2, 66,8% e dietas 3 e 4 (59,0 e 65,4%), respectivamente. Não houve diferenças estatisticamente significativas quanto a este parâmetro nas quatro formulações testadas (Figura 14).

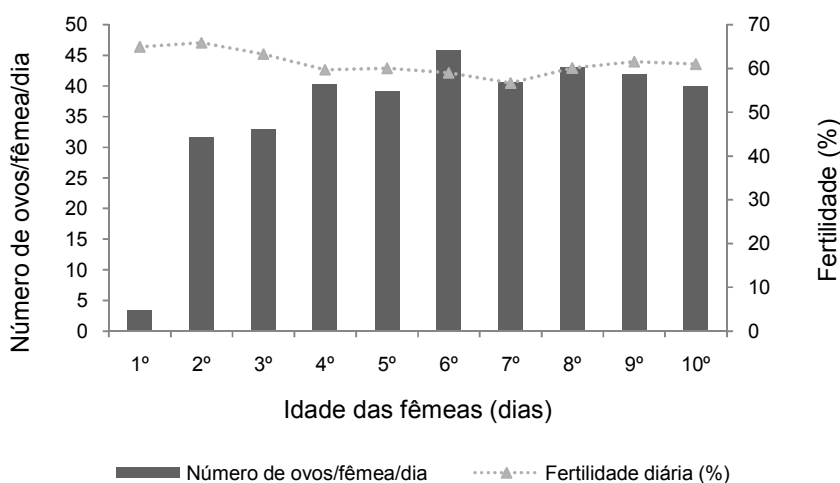


Figura 15. Fecundidade e fertilidade diária de fêmeas de *Ceratitis capitata*, linhagem mutante Vienna 8 – *tsl*, oriundas da dieta 1 durante 10 dias consecutivos. Juazeiro (BA), 2013.

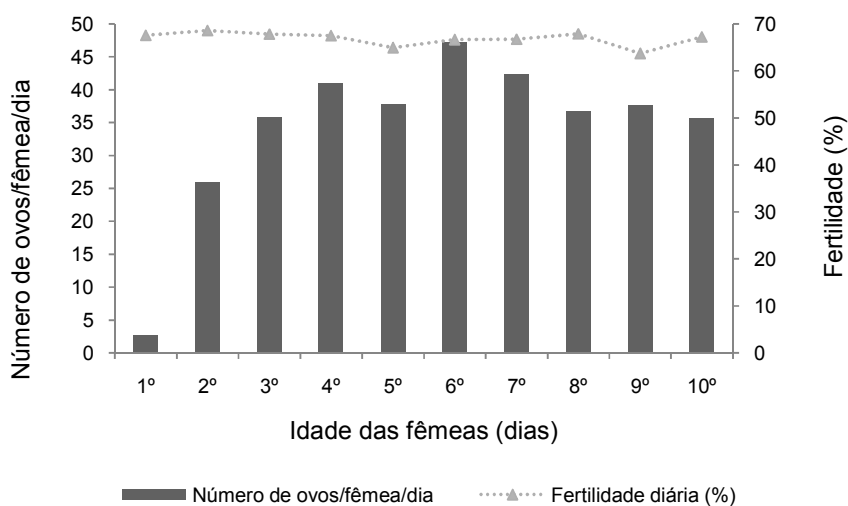


Figura 16. Fecundidade e fertilidade diária de fêmeas de *Ceratitits capitata*, linhagem mutante Vienna 8 – *tsl*, oriundas da dieta 2 durante 10 dias consecutivos. Juazeiro (BA), 2013.

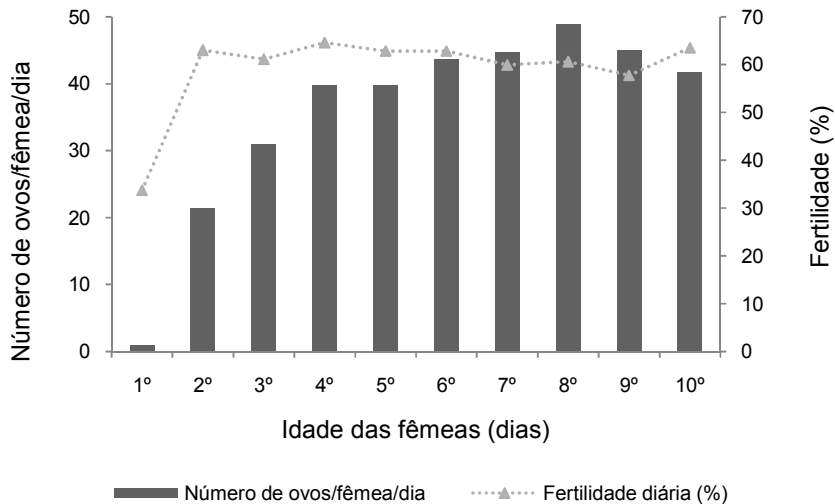


Figura 17. Fecundidade e fertilidade diária de fêmeas de *Ceratitits capitata*, linhagem mutante Vienna 8 – *tsl*, oriundas da dieta 3 durante 10 dias consecutivos. Juazeiro (BA), 2013.

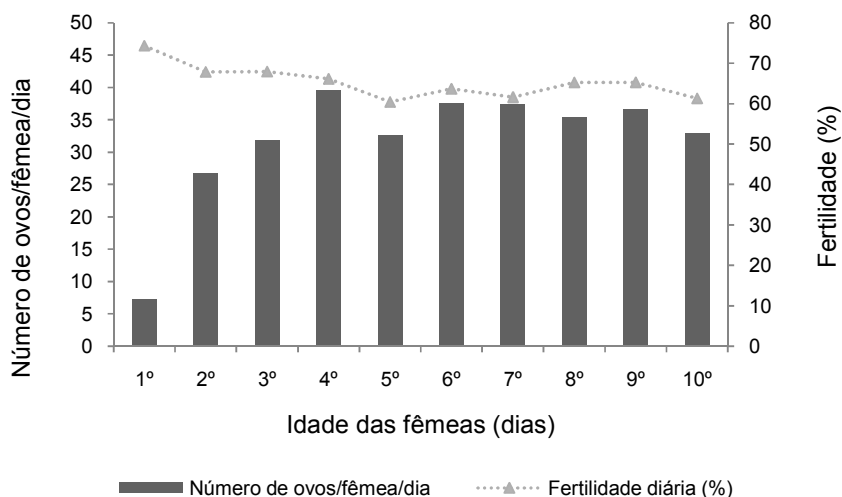


Figura 18. Fecundidade e fertilidade diária de fêmeas de *Ceratitis capitata*, linhagem mutante Vienna 8 – *tsl*, oriundas da dieta 4 durante 10 dias consecutivos. Juazeiro (BA), 2013.

A tabela 3 mostra a relação custo - benefício para produzir um milhão de pupas desta linhagem de *C. capitata* nas quatro formulações de dietas testadas. Pôde-se observar que os menores custos de produção no que se refere à dieta larval, correspondem as dietas 3 e 4. A dieta 4 possui um custo/Kg maior que dieta 3, porém foi a que apresentou o maior rendimento ovo-pupa. As dietas 1 e 2 são aquelas com relação custo-benefício inferior, pois a recuperação de pupas foi baixa, assim como a proporção de pupas brancas. Essa relação demonstra que quanto menor o rendimento ovo-pupa maior será a quantidade de dieta necessária para produzir a mesma quantidade de pupas das dietas 3 e 4. O custo com dieta larval pode aumentar cerca de 60%, dependendo da dieta utilizada, em comparação a dieta mais barata (dieta 3).

Tabela 3. Relação custo-benefício para produção de 1 milhão de pupas de colônia de *Ceratitis capitata* linhagem Vienna 8 *tsl* nas diferentes formulações testadas. Juazeiro (BA), 2013.

Dietas	Rendimento Ovo-pupas	Volume de Ovos (ml)*	Consumo de dieta (kg)**	Custo de 1Kg de dieta (R\$)***	Custo de 1 milhão de pupas (R\$)****
Dieta 1	0,25	160,0	320,0	1,31	419,2
Dieta 2	0,27	148,1	296,3	1,27	376,3
Dieta 3	0,38	105,3	210,5	1,24	261,1
Dieta 4	0,41	97,6	195,1	1,47	286,8

* o volume de ovos foi calculado com base no rendimento ovo-pupa por dieta e estimativa do número de ovos/mL (25000 ovos).

** refere-se ao consumo de dieta para produzir 1 milhão de pupas da colônia. O cálculo foi baseado na utilização de 1,5 mL de ovos para cada 3 kg de dieta.

*** custo levantado a partir do setor de compras da BMB (atualizado em maio 2012).

**** custo da dieta para produção 1 milhão de pupas da colônia.

4 CONCLUSÕES

O balanço nutricional das formulações 3 e 4, mostrou os melhores resultados na multiplicação de *C. capitata* Vienna 8 – *tsl*.

A recuperação de pupas, a qualidade dos adultos (machos e fêmeas) e a proporção de fêmeas, foram superiores nas formulações 3 e 4, quando comparadas com as outras formulações testadas.

As quantidades de fontes protéicas oferecidas nas diferentes dietas durante a fase larval não influenciaram na fecundidade e fertilidade de fêmeas adultas.

Em países com elevada produção de levedura e soja como é o caso do Brasil, a utilização destes ingredientes como fonte protéica poderia ser a melhor opção para ser usada na dieta larval de *C. capitata* Vienna 8 – *tsl*. A melhor relação custo-

benefício para produção de 1 milhão de pupas foi obtida nas formulações 3 e 4, embora a formulação 4 tenha um maior teor de proteínas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BMB, Biofábrica Moscamed Brasil. Juazeiro, BA, 2013. Disponível em: <<http://www.moscamed.org.br/2012/moscamed.php>>. Acesso em: maio 2013.

CÁCERES, C.; FISHER, K.; RENDON, P. Mass rearing of medfly temperature sensitive lethal genetic sexing strain in Guatemala. In: TAN, K. H. (Ed.). **Area-wide management of fruit flies and other major insect pests**. Penang, Malaysia: University Sains Malaysia Press, 2000. p. 543-550.

CHANG, C. L.; KURASHIMA, R.; ALBRECHT, C. Larva development of *Ceratitidis capitata* (Diptera: Tephritidae) on a meridic diet. **Annals of the Entomological Society of America**. 2001. v. 94, p. 433-437.

CHAPMAN, R.F. **The insects**: structure and function. New York: Elisier, 1998. 819 p.

CRESONI-PEREIRA, C.; ZUCOLOTO, F. S. Moscas-das-frutas (Diptera). In: PANIZZI, A. R.; PARRA, J. R. P. (Ed.). **Bioecologia e nutrição de insetos: base para o manejo integrado de pragas**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica; Londrina: Embrapa Soja, 2009. p. 733-768.

CRUZ, I. B. M.; NASCIMENTO, J. C.; TAUFER, M.; OLIVEIRA, A. K. Morfologia do aparelho reprodutor e biologia do desenvolvimento. In: MALAVASI, A.; ZUCCHI, R. A. (Ed.). **Moscas-das-frutas de importância econômica no Brasil: conhecimento básico e aplicado**. Ribeirão Preto: Holos, 2000. cap. 6, p. 55-66.

DADD, R. H. Nutrition: organisms. In: KERKUT, G. A.; GILBERT, L. I. (Ed.). **Comprehensive insect physiology, biochemistry and pharmacology**. London: Pergamon, 1985. v. 4, p. 313-389.

DOMIGUEZ, J.; ARTIAGA-LOPEZ, T.; SOLIS, E.; HERNANDEZ, E. Métodos de colonización y cría masiva. In: MONTOYA, P., TOLEDO, J., HERNÁNDEZ, E. (Ed.). **Moscas de la Fruta: Fundamentos y procedimientos para su manejo**. México, D.F. p. 259-274. 2010.

DYCK, V. A.; FLORES, J. R.; VREYSEN, M. J. B.; FERNÁNDEZ, E. E. R.; TERUYA, T.; BARNES, B.; RIERA, P. G.; LINDQUIST, D.; LOOSJES, M. Management of Area-Wide Integrated Pest Management Programmes that Integrate the Sterile Insect Technique. DYCK, V. A.; HENDRICH, J.; ROBINSON, A. S. (Ed.). **Sterile Insect Technique: Principles and Practice in Area-Wide Integrated Pest Management** 2005, XIV, Hardcover ISBN: 1-4020-4050-4, p. 525-542.

FAO/IAEA/USDA. **Manual for product quality control and shipping procedures for sterile mass-reared tephritid fruit flies**. Version 5.0. Vienna: IAEA, 2003. 85 p.

FAY, H. A. C. Multi-host species of fruit fly. In: ROBINSON, A. S.; HOOPER, G. (Ed.). **World Crop Pests. Fruit flies, their biology, natural enemies and control**. v. 3b. Elsevier, Amsterdam. p. 129-138. 1989.

FISHER, K.; CÁCERES, C. A filter rearing system for mass reared genetic sexing strains of Mediterranean fruit fly (Diptera: Tephritidae). In: TAN, K. H. (Ed.). **Area-wide management of fruit flies and other major insect pests**. Penang, Malaysia: Universiti Sains Malaysia Press, 2000. p. 543-550.

FRANZ, G.; KERREMANS, P.; RENDON, P.; HENDRICH, J. Development and application of genetic sexing systems of the Mediterranean fruit fly based on a temperature sensitive lethal. In: MCPHERON, B. A.; STECK, G. J. (Ed.). **Fruit fly pests: A world assessment of their biology and management**. Delray Beach, FL: St. Lucie Press, 1996. 185 p.

JOACHIM-BRAVO, I. S. Aspectos básicos de nutrição e dietas artificiais para criação de moscas-das-frutas. In: MALAVASI, A.; VIRGINIO, J. F. (Ed.). **Biologia, Monitoramento e Controle: V Curso Internacional de Capacitação em Moscas-das-frutas**, Juazeiro, 2009, p. 21-23.

JOACHIM-BRAVO, I. S.; ZUCOLOTO, F. S. Oviposition preference and larval performance in *Ceratitis capitata* (Diptera, Tephritidae). **Revista Brasileira de Zoologia**, Curitiba, v. 14, p. 795-802, 1997.

KERREMANS, P.; FRANZ, G. Cytogenetic analysis of chromosome 5 from Mediterranean fruit fly, *Ceratitis capitata*. **Chromosoma**, Berlin, v. 103, p.142-146, 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.

PARANHOS, B. A. J.; NASCIMENTO, A. S.; BARBOSA, F. R.; VIANA, R.; SAMPAIO, R.; MALAVASI, A.; WALDER, J. M. M. **Técnica do inseto estéril: nova tecnologia para combater a mosca-das-frutas, *Ceratitis capitata*, no Submédio do Vale do São Francisco**. Petrolina: Embrapa Semiárido, 2008. 6 p. (Embrapa Semiárido. Comunicado Técnico, 137).

ROBINSON, A. S.; FRANZ, G.; FISHER, K. Genetic sexing strains in the medfly, *Ceratitis capitata*: development, mass rearing and field application. **Trends in Entomology**, Amsterdam, v. 2, p. 81-104, 1999.

ROBINSON, A. S.; VAN HEEMERT, C. *Ceratitis capitata*: a suitable case for genetic sexing. **Genetica**, Gravenhage, v. 58, p. 229-237, 1982.

ROSSLER, Y. Automated sexing of *Ceratitis capitata* (Dip. Tephritidae): The development of strain with inherited sex-limited pupae color dimorphism. **Entomophaga**, Paris, v. 24, p. 411-416, 1979a.

ROSSLER, Y. The genetics of the Mediterranean fruit fly: a "white-pupa" mutant. **Annals of the Entomological Society of America**, Lanham, v. 72, p. 583-590, 1979b.

SILVA NETO, A. M.; SANTOS, T. R. O.; DIAS, V. S.; JOAQUIM-BRAVO, I. S.; BENEVIDES, L. J.; BENEVIDES, C. M. J.; SILVA, M. V. L.; SANTOS, D. C. C.; VIRGINIO, J.; OLIVEIRA, G. B.; WALDER, J. M. M.; PARANHOS, B. A. J.; NASCIMENTO, A. S. Mass-rearing of Mediterranean fruit fly using low-cost yeast products produced in Brazil. **Scientia Agricola**, v. 69, n. 6, p. 364-369. 2012.

SLANSKY JUNIOR, F.; SCRIBER, J. M. Food consumption and utilization. In: KERKUT, G. A.; GILBERT, L. I. (Ed.). **Comprehensive insect physiology, biochemistry and pharmacology**. Oxford: Pergamon, 1985. v. 9, p. 87-163.

TANAKA, N.; L. F. STEINER; OHINATA, K.; OKAMOTO, R. Low-cost larval rearing medium for mass production of oriental and Mediterranean fruit flies. **Journal of Economic Entomology**. 1969. v. 62, p. 967-968.

CAPÍTULO 2

**USO DE RAIOS X NA IRRADIAÇÃO DE PUPAS DE *Ceratitis Capitata*
WIEDEMANN, 1824 (DIPTERA: TEPHRITIDAE) LINHAGEM VIENNA 8 – TSL¹**

¹ Artigo a ser ajustado para submissão ao comitê editorial do periódico científico *Scientia Agricola*.

Uso de raio X na irradiação de pupas de *Ceratitis capitata* Wiedemann, 1824 (Diptera: Tephritidae) linhagem Vienna 8 – *tsl*

Autora: Itala Cruz Damasceno

Orientador: Dr. Antônio Souza do Nascimento

Co-orientador: Dra. Beatriz Jordão Paranhos

RESUMO - As fontes de Cobalto-60 (raio gamma) têm sido usadas durante um longo tempo para esterilizar machos de *Ceratitis capitata* (Wiedemann) (Diptera: Tephritidae) em programas da técnica do inseto estéril (TIE) ao redor do mundo. A produção de fontes deste tipo foi descontinuada e a Agência Internacional de Energia Atômica (IAEA) propôs o desenvolvimento de uma nova máquina com uma fonte de raio X, a qual está sendo usada pela Biofábrica Mosamed Brasil desde dezembro de 2010. Foram desenvolvidos testes com o propósito de determinar a melhor dose de radiação X para atingir o nível de esterilidade desejada em machos de *C. capitata*, linhagem mutante Vienna 8 – *tsl*. Foram irradiadas pupas da primeira coleta larval, 48 a 24 horas antes da emergência dos adultos, com as seguintes doses (tratamentos): 0 (testemunha), 80; 95; 115 e 125 Gy. Após a emergência dos adultos, para cada tratamento foram montadas cinco gaiolas “baleiros” com 25 casais/cada. A partir do terceiro dia após a formação dos casais, diariamente e durante três dias consecutivos foram feitas coletas de ovos para avaliar a fertilidade das fêmeas. A esterilidade, os parâmetros de emergência, adultos voadores e longevidade sob condições de estresse após 48 horas resultantes das diferentes doses aplicadas foram comparadas com a testemunha (material não irradiado). Os machos irradiados com as diferentes doses de raio X induziram um alto nível de esterilidade em fêmeas de *C. capitata*. A fertilidade das fêmeas não mostrou diferença significativa entre as doses testadas [80 Gy (3,0%), 95 Gy (1,2%), 115 Gy (0,6%) e 125 Gy (0,3%)], porém houve diferença estatística com a testemunha (71,4 %) nas quatro doses avaliadas. Não houve diferença estatística entre as doses para os parâmetros: emergência de adultos, adultos voadores e longevidade sob estresse. A porcentagem de emergência de adultos e adultos voadores foi de: 75; 77; 78; 83; 76% e 73; 76; 76; 80 e 74%, para as doses 0; 80; 95; 115 e 125 Gy,

respectivamente. A longevidade dos adultos sob estresse foi: 67; 71; 68; 65 e 68% para as doses 0; 80; 95; 115 e 125 Gy, respectivamente. Os resultados indicam que as diferentes doses de raio X, não afetaram a qualidade dos insetos. Além do mais, mostram a sustentabilidade e praticidade do uso desta tecnologia na indução de esterilidade em machos de *C. capitata*. Segundo o manual da IAEA/FAO, a esterilidade recomendada para programas de supressão através da TIE é, aproximadamente, 99% de ovos inviáveis. De acordo com os resultados observados, a dose de 115 Gy pode ser utilizada como dose padrão para esterilização de machos utilizando radiação X.

Palavras-chave: Técnica do Inseto Estéril, raio X, mosca-do-mediterrâneo.

Using X-ray for males sterilization of *Ceratitis capitata* Wiedemann, 1824 (Diptera: Tephritidae) Vienna 8 *tsl* mutant strain

Author: Itala Cruz Damasceno

Adviser: Dr. Antônio Souza do Nascimento

Co-adviser: Dra. Beatriz Jordão Paranhos

ABSTRACT - Gamma rays from Co-60 source have been used for a long time to sterilize fruit flies males in SIT programs worldwide. The production of Gammacell Co-60 was discontinued and the IAEA/FAO joint division has supported the development of a new irradiator with a X-ray source, which has been used by Moscamed Brazil since December 2010. Studies were carried out to achieve a desirable sterility by using X-ray machine in males of *Ceratitis capitata* (Wiedemann) (Diptera: Tephritidae), *tsl*-Vienna 8 strain. Pupae from the same lot were irradiated with X-ray in the doses of 0, 80, 95, 115 e 125 Gy, at 48 to 24 h before emergence. Sterility, emergence, flyers, and mortality under stress after 48h were compared to control not irradiated. Irradiated males induced high sterility on medfly females. The females fertility did not show statistic difference among all X-ray doses [80 Gy (3,0%),

95 Gy (1,2%), 115 Gy (0,6%) and 125 Gy (0,3%)], but they were significantly different from control (73,1%). There were not statistical differences on emergence, flyers and mortality under stress among doses and control. The percentage of emergence and flyers were 75, 77, 78, 83, 76% and 73, 76, 76, 80, 74%, for control and the doses 80, 95, 115 e 125 Gy, respectively. Longevity under stress were 67, 71, 68, 65 and 68% for the doses of 0, 80, 95, 115 e 125 Gy, respectively. Results indicate that X-ray doses used did not affected the quality of medfly males, and 115 Gy could be a recommended doses as standard sterilization since the sterility is higher than 99%. The result also shows the feasibility by using X-ray machine in SIT programs.

Key words: Sterile Insect Technique, X ray, mediterranean fruit fly

1 INTRODUÇÃO

O uso de radiação ionizante é bastante empregado para a esterilização de inseto em muitos países. A irradiação causa rupturas nos cromossomos das células germinativas, levando a mutações letais dominantes nos espermatozóides e nos óvulos (LACHANCE et al., 1967; CURTIS, 1971). Este tipo de radiação é oriundo de radioisótopos como Cobalto-60 (^{60}Co) ou Césio-137 (^{137}Cs), de elétrons gerados por aceleradores ou de raio X gerados por feixe de elétrons (WALDER, 2000).

Um dos principais propósitos da aplicação da radiação ionizante em insetos é o controle de pragas através da técnica do inseto estéril (TIE) (BAKRI et al. 2005a). A TIE é um método de controle de uma população de insetos em que um grande número de indivíduos esterilizados, e da mesma espécie, são liberados sobre uma área para reduzir a população nativa da praga através do acasalamento com os insetos selvagens (KNIPLING, 1955; MORRISON et al., 2009). Esta técnica é utilizada em vários países para o controle, supressão e até mesmo erradicação de espécies de moscas-das-frutas e outras pragas da agricultura, pecuária e saúde pública. O emprego da TIE minimiza a utilização contínua de inseticidas, não é agressiva ao ambiente e se adequa aos mais rígidos padrões de segurança alimentar. Segundo Benedict e Robinson (2003) as principais vantagens da TIE

consistem em ser ambientalmente amigável, específica (atinge uma espécie em particular), compatível com outros métodos de controle, tal como o controle biológico, e sua eficácia aumenta à medida que ocorre o declínio da população alvo.

Os programas de Manejo Integrado de Pragas (MIP) têm incentivado o uso da TIE no controle de moscas-das-frutas. Tanto a espécie *C. capitata* quanto outras espécies de moscas-das-frutas são alvos constantes de controle, através da supressão em larga escala, erradicação ou prevenção, baseados na TIE (KOYAMA et al., 2004). No princípio, esta técnica era utilizada para controlar *C. capitata*, com a liberação de machos e fêmeas estéreis, o que acarretava em danos nos frutos pelo ato de oviposição da fêmea liberada e na diminuição da probabilidade de cópula entre machos estéreis e fêmeas selvagens (PARANHOS, 2005). Entretanto, para aumentar a eficiência da técnica, geneticistas e entomologistas da Agência Internacional de Energia Atômica (IAEA), da Áustria, desenvolveram a linhagem Vienna 8 - *tsI*, a qual possui duas mutações genéticas: a pupa pode ser diferenciada pela cor (pupa marrom = macho, pupa branca = fêmea), e a outra é a sensibilidade letal à temperatura, possibilitando a eliminação de embriões fêmeas com choque térmico de 34 °C por 24h. Essas mutações permitiram a criação e a liberação de apenas machos estéreis no campo com significativa redução de custos do processo de produção (FRANZ & KERREMANS, 1993). Programas da TIE utilizando esta linhagem vêm apresentando sucesso em várias partes do mundo (KOYAMA, 1994; DYCK et al., 2005; IAEA, 2008). Entretanto, a escolha do método de esterilização que será aplicado aos insetos é um dos pré-requisitos importantes para o sucesso dessa técnica.

Segundo Bakri et al (2005a), o método de esterilização mais empregado mundialmente é a radiação ionizante, sendo a radiação gama proveniente de fontes de radioisótopos, como ^{60}Co e ^{137}Cs as mais comuns. Também podem ser empregados os elétrons de alta energia (5 - 10 MeV, gerados em aceleradores de elétrons) e a radiação X. Esses três tipos de radiação têm efeitos similares sobre a matéria e, em particular, sobre os insetos, já que possuem valores de Eficiência Biológica Relativa semelhantes (Relative Biological Effectiveness ou RBE).

Os raios gama, os feixes de elétrons e os raios X são radiações ionizantes. A diferença entre essas três tecnologias de processamento está na forma como a

radiação primária é transferida. Os raios gama e X são radiações eletromagnéticas, com propriedades básicas de absorção representadas pela diminuição exponencial nas intensidades das radiações que, ao passar pela matéria, propiciam maiores poderes de penetração, quando comparados aos feixes de elétrons. A partir da década de 1950, verificou-se um grande avanço nessa área de pesquisa, com a irradiação da mosca-da-bicheira, *Cochliomya hominivorax* (Coquerel, 1858) (Diptera: Calliphoridae) em Curaçao. Atualmente, a esterilização de *C. capitata*, independente da fonte utilizada, pode ser realizada na pupa 24 a 48 horas antes da emergência. O tratamento confere a aplicação de doses específicas de irradiação que visem à desestruturação do aparelho reprodutor do macho de *C. capitata* e com isso não seja possível a geração de uma nova descendência (MASTRANGELO et al., 2010).

Entretanto, vários estudos são necessários antes da adoção desta tecnologia, no intuito de determinar seus efeitos sobre a esterilização e qualidade dos insetos irradiados. Quando se trata de questões relativas à biossegurança, em especial o receio de atos terroristas, o risco de utilização de irradiadores de pequeno porte serem usados como “bombas sujas” é grande, portanto esses tipos de equipamentos estão sendo descontinuados e novas propostas estão surgindo, entre elas o uso da radiação X. Os trabalhos com este tipo de radiação ionizante na entomologia aplicada são raros e a maioria data da década de 1950, com pesquisas iniciais de TIE para *C. hominivorax* (BUSHLAND & HOPKINS, 1951; BUSHLAND & HOPKINS, 1953; LINDQUIST, 1955; HOOPER, 1971b). Recentemente, foram iniciados testes com a utilização dessas máquinas que produzem radiação ionizante gerada a partir de eletricidade, pois confere menores riscos à saúde. A fonte de raio X pode ser melhor controlada assegurando menos riscos ao ambiente e ao homem quando comparadas às fontes de ^{60}Co e ^{137}Cs . A tendência é haver uma substituição gradativa desses equipamentos tradicionalmente utilizados por máquinas de raio X.

No Brasil, a aplicação desta tecnologia (raio X) para irradiação de insetos, iniciou-se em dezembro de 2010, na Biofábrica Moscamed Brasil (BMB). O país foi pioneiro na utilização desta fonte para esterilização de insetos em cria massiva. A BMB implantada na cidade Juazeiro-BA, região nordeste do Brasil, faz uso de radiação X com a finalidade de aplicar a TIE dentro de um programa de manejo integrado de moscas-das-frutas. A linhagem produzida em larga escala, é a

linhagem mutante Vienna 8 - *tsl* de *C. capitata* e o equipamento utilizado para esterilização de machos é a máquina de raio X modelo RS400.

Apesar do sucesso da TIE depender de uma boa metodologia de criação massal, a fonte radioativa utilizada é outro critério muito importante. De nada valerá todo o trabalho empregado, se ao final do processo, a radiação utilizada para esterilizar os machos não for adequada, resultando em perdas de qualidade biológica dos insetos liberados em campo.

Estudos realizados para avaliar a qualidade de machos irradiados com fontes de raios gama (^{60}Co) são bastantes comuns e podem ser encontrados em muitos trabalhos referentes a TIE. Entretanto, existe carência desses estudos em relação ao uso da radiação X para esterilização de machos em escala massal (CÁCERES et al., 2007).

Neste trabalho foram desenvolvidos testes com o propósito de determinar a dose de raio X necessária para atingir o nível de esterilidade desejada em machos de *C. capitata*, linhagem mutante Vienna 8 - *tsl*, a partir da irradiação com máquina de raio X modelo RS400.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram conduzidos no Laboratório de Entomologia, da Biofábrica Moscamed Brasil - BMB, Juazeiro, Bahia, em salas climatizadas com temperatura de 23 ± 2 °C, umidade relativa (UR) de $70 \pm 10\%$ e fotofase de 14 horas. O material biológico utilizado nesse trabalho foi proveniente da colônia de *C. capitata* linhagem mutante Vienna 8 - *tsl* da BMB. Todo o procedimento utilizado para irradiação de pupas, bem como o controle de qualidade, foi realizado com base no Manual de Controle de Qualidade da Agência Internacional de Energia Atômica (FAO/IAEA/USDA, 2003).

Os insetos utilizados foram irradiados na fase de pupa, apenas pupas marrons (machos) da primeira coleta larval, com 24 a 48 horas antes da emergência dos adultos. Para irradiação, as pupas foram acondicionadas em hipóxia (ausência

de oxigênio) dentro de bolsas plásticas com capacidades de 1kg. Uma etiqueta de irradiação foi colocada em cada uma das bolsas para verificar a irradiação do material, visto que após receber a dose de irradiação a marca na etiqueta passou de vermelho para preto. Posteriormente, estas bolsas contendo pupas, foram transferidas para o centro de um *canister* (recipiente utilizado para colocar as amostras a serem irradiadas), sendo o restante do espaço (5L) preenchido com arroz, material mais próximo a densidade das pupas, para garantir que as mesmas permanecessem no local desejado e recebessem a mesma dose central. Foram utilizadas as seguintes doses (tratamentos): 0 (controle), 80; 95; 115 e 125 Gy, sendo 5 tratamentos, cada um com cinco repetições. O material foi irradiado em uma fonte de raio X, modelo Rad Source RS 2400, equipamento produzido nos EUA para ser utilizado especificamente na esterilização de insetos. A taxa de dose utilizada foi de aproximadamente 2,754 Gy/min. O irradiador foi operado com uma voltagem de 120 Kv e corrente de 18 mA (Figura 1A, 1B e 1C).

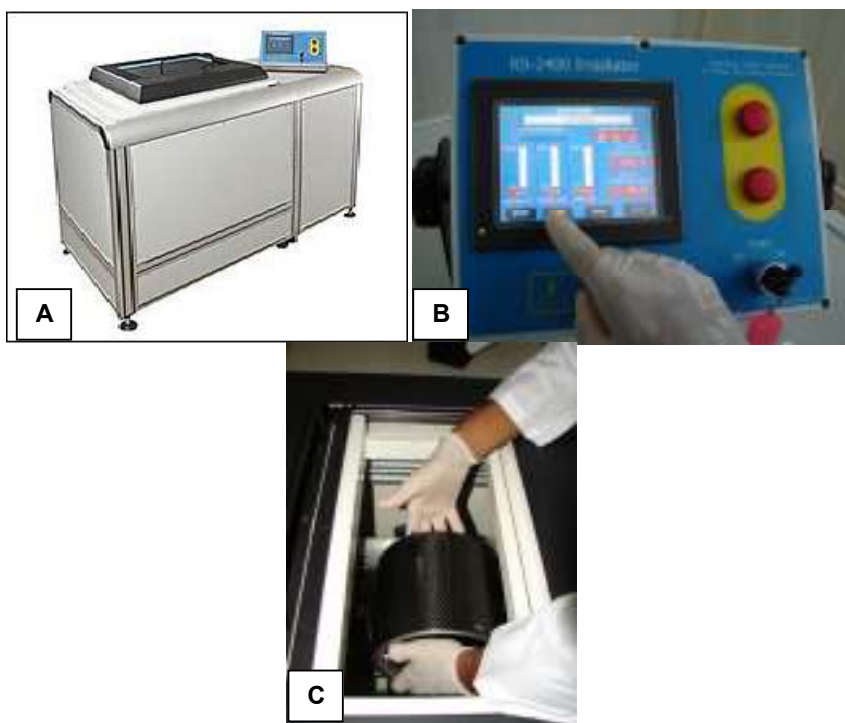


Figura 1. Máquina de raio X, modelo Rad Source RS 2400 (A) e painel de controle (B). Detalhe do *canister* utilizado para esterilização de pupas de *Ceratitits capitata*, linhagem mutante Vienna 8 – *tsI* (C). Juazeiro (BA), 2013.

Após a irradiação, o material foi transferido e mantido em sala climatizada a uma temperatura de 18 °C e Umidade Relativa de 60 ±10% por 3 horas para atingir a temperatura corpórea adequada à emergência dos insetos. Em seguida as pupas foram retiradas dos sacos e colocadas em bandejas plásticas dentro de gaiolas.

Foram avaliados os parâmetros de qualidade, tais como: emergência de adultos (%), adultos voadores (%), mortalidade sob estresse após 48 horas e fertilidade de fêmeas após cópula com machos irradiados com as diferentes doses de raio X.

2.1 Efeito da radiação sobre a fertilidade

No experimento de avaliação da fertilidade das fêmeas, para cada tratamento (dose), foram montadas gaiolas de acrílico (30x30x30cm) com pupas de machos irradiados e pupas de fêmeas férteis (não irradiadas) da linhagem Vienna 8 - *ts/* contendo dieta de adulto na proporção de uma parte de proteína hidrolizada Biones® para três partes de açúcar refinado e água filtrada a parte (KRAINACKER et al., 1987; SILVA NETO et al., 2012). As gaiolas foram montadas separadamente de acordo com o sexo, no intuito de aguardar a emergência dos adultos. No segundo dia após a emergência, 25 machos estéreis e 25 fêmeas férteis, foram transferidos com ajuda de uma mangueira de borracha adaptada, para baleiros plásticos (3,5 litros) preparados para oviposição (tela voal de 6 x 10 cm, na lateral) contendo dieta de adulto na mesma proporção descrita anteriormente. Foram montadas cinco repetições por tratamento.

No terceiro dia após a emergência, os casais iniciaram a cópula e após dois dias, as fêmeas começaram a postura. Durante três dias consecutivos foram retiradas amostras aleatórias de ovos para avaliar a fertilidade das fêmeas copuladas com machos irradiados, resultante das diferentes doses aplicadas. Foram montadas placas de Petri (90x15mm) contendo uma esponja coberta com tecido preto usado para a melhor visualização dos ovos e da eclosão das larvas e com ajuda de um pincel macio os ovos foram enfileirados sobre o tecido. As placas de Petri contendo os ovos foram transferidas para B.O.D. a uma temperatura de 25 °C

durante 96 horas. Após esse período, o material foi avaliado com auxílio de um microscópio estereoscópico binocular com aumento de 40x. O número total de ovos foi contado e a taxa de eclosão foi determinada mediante a fórmula: taxa de eclosão (fertilidade) = (nº de larvas eclodidas/total de ovos) X 100 (FAO/IAEA/USDA, 2003).

2.2 Longevidade sob estresse

Para avaliação da mortalidade sob condições de estresse após 48 horas, amostras de pupas irradiadas foram retiradas para cada tratamento. Previamente, foram montadas cinco gaiolas (30x30x30cm) sem água e alimento, onde colocou-se 1000 pupas cada, para aguardar a emergência dos adultos. Após a emergência, para cada tratamento, 500 machos provenientes de cada dose de radiação, recém-emergidos foram escolhidos ao acaso, sugados, com ajuda de uma mangueira de borracha adaptada, e transferidos para recipiente (placas Gerbox) apropriado ao teste. Cinco placas do tipo Gerbox/tratamento, contendo um orifício lateral de 1 cm de diâmetro foram montadas, com 100 machos confinados em cada placa. As placas com os adultos, não continham alimento nem água e foram transferidas para uma sala escura. Os insetos ficaram mantidos durante 48 horas em completa escuridão. Após este período, foi contabilizado o número de adultos mortos. A mortalidade sob estresse após 48 horas foi calculada através da fórmula: (Nº adultos mortos/Nº total adultos) x 100 (FAO/IAEA/USDA, 2003).

2.3 Emergência e Habilidade de vôo de adultos de *C. capitata*

Para determinar a emergência de adultos (%) e voadores (%), nos diferentes tratamentos, uma amostra/tratamento de pupas foi retirada ao acaso. Esta amostra foi subdividida em cinco grupos de 100 pupas cada um. As pupas foram colocadas no centro de um anel de papel (1 cm de altura e raio de 3 cm), e acondicionadas dentro de placas de Petri (90x15mm). Sobre estas, foram colocados tubos negros de PVC com altura de 10 cm e 9 cm de diâmetro interno, polvilhado com talco inodoro

nas paredes internas para impedir que as moscas saíssem caminhando. Posteriormente, os cinco tubos de cada tratamento foram transferidos para uma gaiola de acrílico (30x30x30cm) com pisos adesivos de cor amarela (5 cm x 5 cm) pendurados no teto, para a captura dos adultos voadores (FAO/IAEA/USDA, 2003).

Após cinco dias da emergência dos adultos o número de adultos semi-emergidos (SE), normal não voador (NN), não voador defeituosos (DF) e pupários fechados (PF) foram contabilizados. A emergência foi calculada através da fórmula: $(N^{\circ} \text{ adultos emergidos} / \text{total de pupas}) \times 100$. Para o percentual de voadores utilizou-se a fórmula: $100 - (\text{PF} - \text{SE} - \text{NN} - \text{DF}) \times 100$ (FAO/IAEA/USDA, 2003).

2.4 Análise estatística

O delineamento utilizado foi o Desenho Inteiramente Casualizado (DIC) com cinco tratamentos e cinco repetições. Para a análise estatística dos dados foi utilizado o programa SAS versão 9.0. Os resultados obtidos foram submetidos a análises de variância de classificação simples. Foi realizado teste de comparação de médias entre os tratamentos (Teste Tukey, 5 % de significância).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Esterilidade induzida em fêmeas de *C. capitata* copuladas com machos irradiados com raio X.

Os machos irradiados com as diferentes doses de raio X mostraram um alto nível de esterilidade após copular com fêmeas férteis de *C. capitata* linhagem Vienna 8 - *tsl*. Diferenças significativas não foram observadas entre as doses testadas [80 Gy (97%), 95 Gy (98,8%), 115 Gy (99,4%), 125 Gy (99,7%)]. Porém, houve diferenças estatísticas quando comparadas ao controle (0 Gy), que foi de

28,6%. Na tabela 1 pôde-se observar que houve uma diminuição na fertilidade das fêmeas com o aumento da dose de radiação. Conseqüentemente, a esterilidade foi maior à medida que aumentou a dose de radiação nas pupas. Resultados semelhantes foram observados por Mastrangelo (2009) e Rocha (2011) em estudos realizados com machos da mesma linhagem de *C. capitata*. Os autores constaram uma relação direta entre o aumento da dose de radiação grau de esterilidade dos machos. Mastrangelo (2009) verificou que as doses de raios X que induziam 50, 90 e 99% de esterilidade foram de 11,9; 34,71 e 82,7 Gy, respectivamente.

Tabela 1. Esterilidade induzida em fêmeas de *Ceratitis capitata* linhagem Vienna 8 - *ts/* copuladas com machos irradiados com diferentes doses de raio X. Juazeiro (BA), 2013.

Doses	Esterilidade (%) ± EPM*	Fertilidade (%) ± EPM*
0 Gy	28,6 ± 1,76 b	71,4 ± 1,76 a
80 Gy	97,0 ± 0,52 a	3,0 ± 0,52 b
95 Gy	98,8 ± 0,23 a	1,2 ± 0,23 b
115 Gy	99,4 ± 0,10 a	0,6 ± 0,10 b
125 Gy	99,7 ± 0,04 a	0,3 ± 0,04 b

*Médias seguidas por letras iguais não diferem significativamente entre si pelo Teste de Tukey, $F_{2,87} = 1432,21$ $p < 0,0001$.

Quando as fêmeas foram copuladas com machos irradiados nas doses de 115 e 125 Gy apenas 0,6 e 0,3% de fertilidade foi observado, respectivamente. Enquanto que o controle (0 Gy) apresentou uma viabilidade de 71,4%. Estas doses (115 e 125 Gy) não causaram 100% de esterilidade, o que é aceitável, tendo em vista que Fisher (1997) afirmou que as doses de radiação, utilizadas para obter acima de 99% de esterilidade, reduzem significativamente a competitividade dos machos.

De acordo com o Manual da FAO/IAEA/USDA (2003), o grau de esterilidade exigido depende das necessidades do programa de ação (supressão, erradicação ou prevenção) utilizado por cada país. No Brasil, a TIE é utilizada com a finalidade

de suprimir a população de *C. capitata*, já que é difícil obter a erradicação em áreas que não sejam geograficamente isoladas e que não possuam barreiras fitossanitárias intermunicipais e interestaduais eficientes, pois o risco de novas infestações é eminente. Em programas de supressão populacional, a média aceitável de esterilidade de machos desta linhagem é de 99%. As doses de raio X que induziram valores acima de 99% foram 115 e 125 Gy. Resultados que diferem dos observados por Mastrangelo (2009), que atingiu 99% de esterilidade com uma dose estimada para raio X de 82,7 Gy, segundo equação de probit. Por outro lado, Mastrangelo (2011), em testes realizados com *C. hominivorax*, obteve 99% de esterilidade com uma dose bem menor de raio X (43,7 Gy). Segundo Bakri et al. (2005a), as doses esterilizantes podem variar entre ordens, famílias, gêneros e mesma espécie, e isto pode ocorrer devido a fatores genéticos, físicos, alimentares que as pupas são acondicionadas durante a irradiação, bem como com a qualidade do material irradiado e interferência humana (manuseio e outros fatores).

3.2 Longevidade de *C. capitata* sob estresse

Não houve evidência estatística significativa do efeito das diferentes doses de radiação X sobre a longevidade dos machos de *C. capitata* sob condições de estresse nutricional (Figura 2).

O Manual da FAO/IAEA/USDA (2003) relata que, para linhagem mutante *ts/* de *C. capitata*, a porcentagem mínima de sobrevivência é 50% de indivíduos vivos, após um período de 48 h no escuro, sem água e alimento. No presente trabalho foram observados valores superiores ao recomendado.

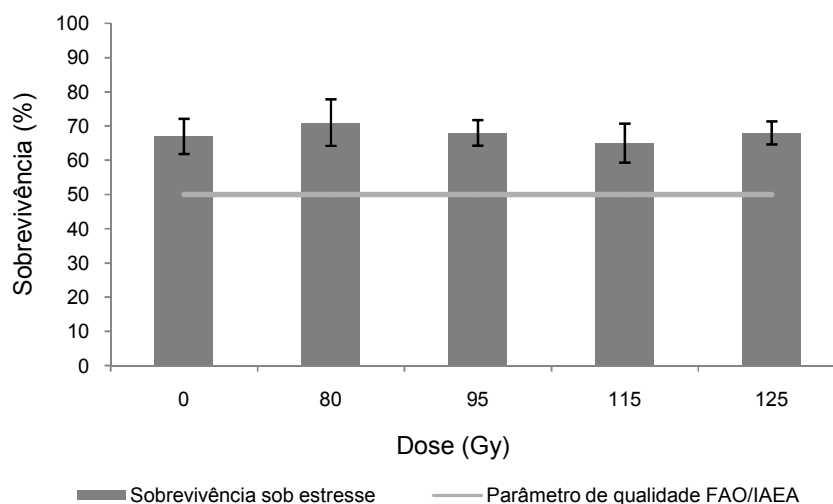


Figura 2. Porcentagem média da sobrevivência sob estresse de machos de *Ceratitits capitata* (linhagem Vienna 8 - *ts/*), irradiados com diferentes doses de raio X. Juazeiro (BA), 2013. As colunas representam as médias \pm erro padrão. NS*= não houve diferença estatística entre os tratamentos, $F_{2,87} = 0,18$ $p = 0,9460$.

Os resultados do teste de longevidade sob estresse expressam uma medida relativa das reservas nutricionais disponíveis para o macho adulto no momento da emergência, e proporciona informação sobre a qualidade dos insetos a serem liberados. Portanto, torna-se um indicador dos elementos gerais associados ao processo de criação de larvas, conteúdo nutricional da dieta larval, densidade de larvas por quilograma de dieta, condições ambientais, entre outros fatores que podem afetar a capacidade da mosca em armazenar nutrientes durante o estágio larval, e assim prolongar a longevidade da mosca adulta. Dessa forma, os dados obtidos nesse trabalho demonstram que os machos avaliados apresentavam boa reserva nutritiva, esperando-se assim bom desempenho, se liberados em campo. (FAO/IAEA/USDA, 2003).

3.3 Emergência de adultos e habilidade de voo de *C. capitata*

As doses de radiação utilizadas não afetaram significativamente a emergência dos adultos, assim como a habilidade de voo dos mesmos (Figuras 3 e 4).

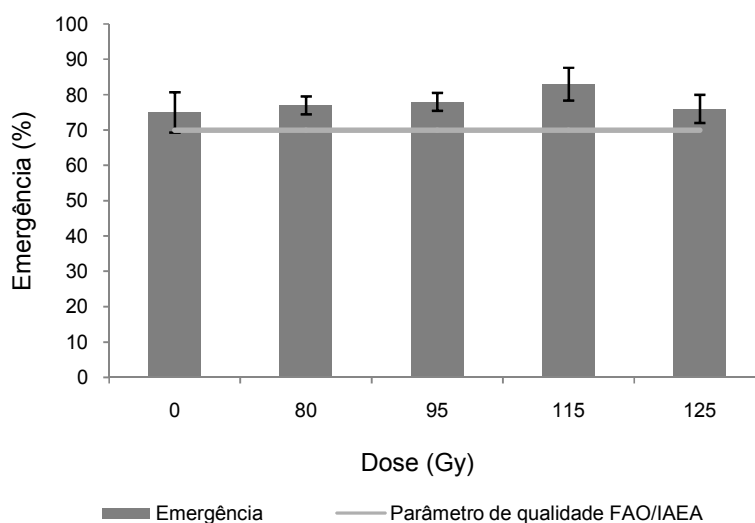


Figura 3. Porcentagem média de emergência de machos de *Ceratitits capitata* (linhagem Vienna 8 - *ts*), provenientes de pupas irradiadas com diferentes doses de radiação. Juazeiro (BA), 2013. As colunas representam as médias \pm erro padrão. NS* = não houve diferença estatística entre os tratamentos, $F_{2,87} = 0,58$; $p = 0,6776$.

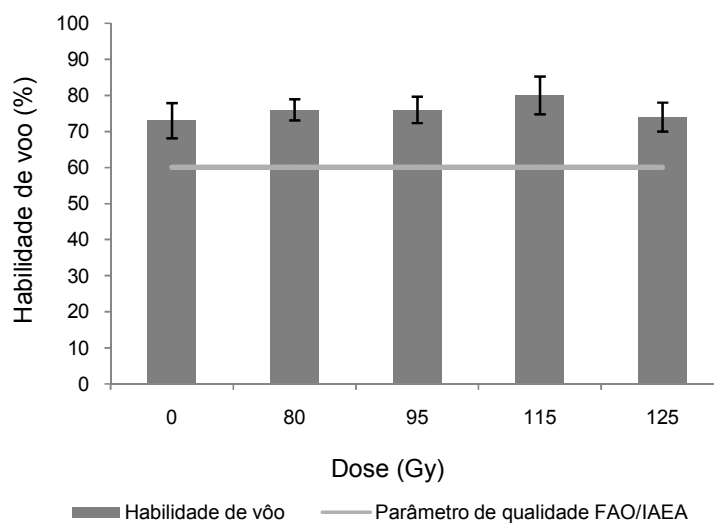


Figura 4. Porcentagem média da habilidade de voo de machos de *Ceratitits capitata* (linhagem Vienna 8 - *ts*), provenientes de pupas irradiadas com diferentes doses de radiação. Juazeiro (BA), 2013. As colunas representam as médias \pm erro padrão. NS* = não houve diferença estatística entre os tratamentos, $F_{2,87} = 0,40$ $p=0,8047$.

Com base no Manual da FAO/IAEA/USDA (2003), a média mínima aceitável pós-irradiação para emergência de adultos (%) e adultos voadores (%) desta linhagem de *C. capitata* é de 70 e 60%, respectivamente. Os resultados obtidos no presente trabalho revelam que a menor média de emergência de adultos (76%) e habilidade de vôo do adulto (73 %) foi alcançada na dose de 125 Gy, mas todos os tratamentos apresentaram valores acima do recomendado pelo Manual da FAO/IAEA/USDA. Mastrangelo (2009), estudando pupas irradiadas da mesma linhagem, relatou uma porcentagem média de emergência, variando de 90,4 a 92,8%, valores superiores aos observados no presente estudo.

Estimativas precisas da porcentagem de pupas que originarão machos adultos com capacidade mínima de voar servem como um indicativo do desempenho destes machos estéreis em condições de campo, permitindo assim avaliar a competitividade destes frente aos machos selvagens. Sob esta ótica, os machos avaliados apresentam capacidade para competir de forma eficiente com os machos selvagens pelas cópulas de fêmeas selvagens na natureza.

4 CONCLUSÕES

As doses de raio X utilizadas não afetaram a qualidade dos insetos, uma vez que todos os parâmetros de qualidade (longevidade sob estresse, emergência do adulto e habilidade de voo) avaliados, mantiveram-se acima da média aceitável para a linhagem mutante Vienna 8 – *ts/* da mosca-do-mediterrâneo, *Ceratitis capitata*.

Das doses aplicadas, nenhuma provocou 100% de esterilidade nos machos. Entretanto, a dose de 115 Gy pode ser recomendada para esterilização de machos da linhagem *ts/* com raio X, considerando que foi obtido um percentual de esterilidade de 99,4%. O resultado é satisfatório de acordo com as recomendações do Manual da FAO/IAEA/USDA (2003), para programas de supressão populacional, respondendo também pelos melhores valores quanto à maioria dos parâmetros de qualidade de insetos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BAKRI, A.; HEATHER, N.; HENDRICH, J.; FERRIS, I. Fifty Years of Radiation Biology in Entomology: Lessons Learned from IDIDAS. **Annals of the Entomological Society of America**, Lanham, v. 98, n. 1, p. 1-12, 2005a.

BENEDICT, M. Q.; ROBINSON, A. S. The first releases of transgenic mosquitoes: an argument for the sterile insect technique. **Trends in Parasitology**, Oxford, v. 19, n. 8, p. 349-355, 2003.

BUSHLAND, R.C.; HOPKINS, D.E. Experience with screwworm flies sterilized by X-rays. **Journal of Economic Entomology**, College Park, v. 44, p. 725-731, 1951.

BUSHLAND, R.C.; HOPKINS, D.E. Sterilization of screwworm flies with X-rays and gamma rays. **Journal of Economic Entomology**, College Park, v. 46, p. 648-656, 1953.

CÁCERES, C.; RAMÍREZ, E.; WORNOAYPORN, V.; ISLAM, A.; AHMAD, S. A protocol for storage and long-distance shipment of mediterranean fruit fly (Diptera: Tephritidae) eggs. I. Effect of temperature, embryo age, and storage time on survival and quality. **Florida Entomologist**, Gainesville, v. 90, n. 1, p. 103-109, 2007.

CURTIS, C. F. Induced sterility in insects. **Advances in Reproductive Physiology**, New York, v. 5, p. 119-165, 1971.

DYCK, V. A.; FLORES, J. R.; VREYSEN, M. J. B.; FERNÁNDEZ, E. E. R.; TERUYA, T.; BARNES, B.; RIERA, P. G.; LINDQUIST, D.; LOOSJES, M. Management of Area-Wide Integrated Pest Management Programmes that Integrate the Sterile Insect Technique. DYCK, V. A.; HENDRICH, J.; ROBINSON, A. S. (Ed.). **Sterile Insect Technique: Principles and Practice in Area-Wide Integrated Pest Management** 2005, XIV, Hardcover ISBN: 1-4020-4050-4, p. 525-542.

FAO/IAEA/USDA. **Manual for product quality control and shipping procedures for sterile mass-reared tephritid fruit flies**. Version 5.0. Vienna: IAEA, 2003. 85 p.

FRANZ, G.; KERREMANS, P. Radiation induced chromosome aberrations for the genetic analysis and manipulation of the Mediterranean fruit fly, *Ceratitidis capitata*. In: INTERNATIONAL ATOMIC ENERGY AGENCY. **Management of insect pests: Nuclear and related molecular and genetic techniques**. Vienna: IAEA, 1993. p. 187-190.

HOOPER, G.H.S. Sterilization and competitiveness of the Mediterranean fruit fly after irradiation of pupae with fast neutrons. **Journal of Economic Entomology**, College Park, v. 64, p. 1369-1372, 1971b.

IAEA. **Model business plan for a sterile insect production facility**. Vienna, 2008. 396 p. (Project INT/5/145 Insect Pest Control Using the Sterile Insect Technique).

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.

KOYAMA, J. Eradication of melon flies by SIT. **Farming Japan**, Tokyo, v. 28, p. 38-43, 1994.

KOYAMA, J.; KAKINOHANA, H.; MIYATAKE, T. Eradication of the melon fly, *Bactrocera cucurbitae*, in Japan: importance of behavior, ecology, genetics, and evolution. **Annual Review of Entomology**, Palo Alto, v. 49, p. 331-349, 2004.

LACHANCE, L. E.; SCHMIDT, C. H.; BUSHLAND, R. C. Radiation-induced sterilization. In: KILGORE, W. W.; DOUTT, R. L. (Ed.). **Pest control: Biological, physical and selected chemical methods**. New York: Academic Press, 1967. p. 147-196.

LINDQUIST, A.W. The use of gamma radiation for the control or eradication of the screwworm. **Journal of Economic Entomology**, College Park, v. 48, p. 467-469, 1955.

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

MASTRANGELO, T.; PARKER, A. G.; JESSUP, A.; PEREIRA, R.; OROZCO-DÁVILLA, D.; ISLAM, A.; DAMMALAGE, T.; WALDER, J. M. A new generation of X ray irradiators for insect sterilization. **Journal of Economic Entomology**, v. 103, p. 85-94, 2010.

MORRISON, N. I.; SEGURA, D. F.; STANTON, K. C.; FU, G.; DONNELLY, C. A.; ALPHEY, L. S. Sexual competitiveness of a transgenic sexing strain of the

Mediterranean fruit fly, *Ceratitis capitata*. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, Amsterdam, v. 133, p. 146–153, 2009.

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, Juazeiro, BA. **Palestras...** Petrolina: Embrapa Semi-Árido, 2005. (Documentos, 189). Disponível em: <<http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/recursos/OPB63ID-gwWrmJdPY.pdf>>. Acesso em: 25 de maio de 2013.

ROCHA, A. C. P. da. **Determinação da dose de radiação gama esterilizante pela avaliação dos parâmetros biológicos de machos de *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae), linhagem *ts/* – Vienna 8**. 2011. 55 f. Dissertação (Mestrado) – Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2011.

SILVA NETO, A. M.; SANTOS, T. R. O.; DIAS, V. S.; JOAQUIM-BRAVO, I. S.; BENEVIDES, L. J.; BENEVIDES, C. M. J.; SILVA, M. V. L.; SANTOS, D. C. C.; VIRGINIO, J.; OLIVEIRA, G. B.; WALDER, J. M. M.; PARANHOS, B. A. J.; NASCIMENTO, A. S. Mass-rearing of Mediterranean fruit fly using low-cost yeast products produced in Brazil. **Scientia Agricola**, v. 69, n. 6, p. 364-369. 2012.

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, 2000. cap. 19, p. 151-158.