

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS  
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS  
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS DA NATUREZA, MATEMÁTICA E EDUCAÇÃO

Ana Júlia de Carvalho Prestes

Adaptação de uma dieta artificial para linhagem e sexagem genética de *Anastrepha fraterculus* (Diptera: Tephritidae) e doses para indução para esterilidade sob hipóxia

ARARAS-SP  
Janeiro de 2024

Ana Júlia de Carvalho Prestes

Adaptação de uma dieta artificial para linhagem e sexagem genética de *Anastrepha fraterculus* (Diptera: Tephritidae) e doses para indução para esterilidade sob hipóxia

Monografia apresentada no Curso de Licenciatura em Ciências Biológicas da Universidade Federal de São Carlos para obtenção do título de Licenciado em Ciências Biológicas.

Orientador: Prof. Dr. Ricardo Toshio Fujihara  
Coorientador: Prof. Dr. Thiago de Araújo Mastrangelo

ARARAS-SP  
Janeiro de 2024

Ana Júlia de Carvalho Prestes

Adaptação de uma dieta artificial para linhagem e sexagem genética de *Anastrepha fraterculus* (Diptera: Tephritidae) e doses para indução para esterilidade sob hipóxia

Monografia apresentada no Curso de Licenciatura em Ciências Biológicas da Universidade Federal de São Carlos para obtenção do título de Licenciado em Ciências Biológicas.

Orientador: Prof. Dr. Ricardo Fujihara

Coorientador: Prof. Dr. Thiago de Araújo Mastrangelo

**Data da defesa: 16/02/2024**

**Resultado:**

**BANCA EXAMINADORA**

Prof. Dr. Ricardo Toshio Fujihara  
Universidade Federal de São Carlos

MSc. Paloma Guazzelli Della Giustina  
Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Prof. Dr. Fernando Ribeiro Sujimoto  
Universidade Federal de São Carlos

## **DEDICATÓRIA**

Dedico o presente trabalho à minha família que sempre me apoiou, aos meus queridos amigos de graduação que me acolheram e a todos que de alguma maneira me incentivaram na caminhada.

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço primeiramente a Deus e a todos que de alguma forma me incentivaram em meus sonhos. Em especial, aos meus pais Clelber e Fernanda pelo amor incondicional, conselhos e apoio prestado e ao meu irmão João Fernando por todo companheirismo e compreensão. Sem eles nada disso seria possível.

Agradeço aos amigos que fiz na cidade de Araras pelos momentos inesquecíveis, alegrias compartilhadas e por se tornarem minha família. À minha grande amiga Mariana por toda cumplicidade ao longo desses anos, sem você eu também não conseguiria chegar até aqui.

Agradeço a Universidade Federal de São Carlos do Campus de Araras e a todos os funcionários pelo acolhimento, aprendizado, amadurecimento e tantas vivências que levarei comigo para sempre. Em especial, ao meu Orientador Prof. Dr. Ricardo Toshio Fujihara pela disposição e auxílio prestado.

Agradeço ainda ao CENA USP, ao laboratório de Irradiação de Alimentos e Radioentomologia, ao meu coorientador Prof. Dr. Thiago de Araújo Mastrangelo, aos técnicos Maria de Lourdes Z. Costa e Luís Anselmo Lopes e aos alunos que com paciência, me ensinaram em todos esses anos.

## RESUMO

A mosca *Anastrepha fraterculus*, também conhecida como mosca-das-frutas Sul-americana, é uma das principais pragas da fruticultura brasileira. Portanto, a produção de machos estéreis através da irradiação (Técnica do Inseto Estéril - TIE) para a liberação no campo é de suma importância para o seu controle biológico. Dentro desse contexto, para viabilizar a liberação apenas de machos estéreis, é necessário desenvolver uma linhagem que permita a sexagem genética (*Genetic Sexing Strain* – GSS) ou a eliminação das fêmeas em alguma das etapas do processo de produção e do ciclo biológico, o que geralmente ocorre nas fases de ovo e pupa. Assim, uma GSS baseada no dimorfismo de cor de pupas, isto é, machos adultos que emergem de pupas marrons e fêmeas emergindo apenas de pupas negras, vem sendo desenvolvida e criada de forma semi-massal. Porém, antes da recomendação do uso dessa GSS para programas em área-ampla que integram a TIE, foi necessário testar diferentes dietas artificiais e determinar a dose esterilizante ideal para os machos, garantindo a manutenção da linhagem ao longo das gerações. Assim, observou-se que a dieta a base de farinha de milho com carragenina foi a mais adequada para a criação artificial e que a dose esterilizante necessária para essa linhagem foi de aproximadamente 70Gy.

**Palavras-chave:** Mosca-das-frutas, Macho estéril, *Genetic Sexing Strain*, *Anastrepha fraterculus*.

## **ABSTRACT**

The *Anastrepha fraterculus* fruit fly, also known as the South American fruit fly, is one of the main pests in Brazilian fruit farming. Therefore, the production of sterile males through irradiation (Sterile Insect Technique - SIT) for release in the field is of paramount importance for its biological control. Within this context, to enable the release of only sterile males, it is necessary to develop a strain that allows genetic sexing (Genetic Sexing Strain - GSS) or the elimination of females at some stages of the production process and the biological cycle, which typically occurs in the egg and pupa stages. Thus, a GSS based on the pupal color dimorphism, males emerging from brown pupae and females emerging only from black pupae, has been developed and semi-artificial. However, before recommending the use of this GSS for large-scale programs integrating SIT, it was necessary to test different artificial diets and determine the ideal sterilizing dose for males, ensuring the maintenance of the strain over generations. It was observed that the cornmeal-based diet with carrageenan was the most suitable for artificial rearing, and the required sterilizing dose for this strain was approximately 70Gy.

**Keywords:** Fruit fly, Sterile male, *Genetic Sexing Strain*, *Anastrepha fraterculus*.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Figura 1 - Adultos de macho e fêmea de *Anastrepha fraterculus*.  
.....5
- Figura 2 - *Genetic sexing strain* (GSS) da mosca *Anastrepha fraterculus* que vem sendo estabelecida no LIARE do CENA/USP: placa de Petri contendo pupas marrons (machos) e negras (fêmeas) (à esquerda), e colônia inicial com moscas adultas da GSS (à direita)  
.....8
- Figura 3 - Curvas de dose-resposta seguindo o modelo Weibull para 3 parâmetros de controle de qualidade obtidos dos cruzamentos entre fêmeas férteis e machos de *A. fraterculus* irradiados sob hipóxia de uma linhagem de sexagem genética (GSS) e uma linhagem bissexual (Vacaria)  
.....13



## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Parâmetros de controle de qualidade (média  $\pm$  EP) da GSS de *Anastrepha fraterculus* criada na dieta larval à base de farinha de milho com duas concentrações diferentes de carragenina (4g ou 6g por 1L de dieta)  
.....11

Tabela 2 - Parâmetros de controle de qualidade (média  $\pm$  EP) de cruzamentos entre fêmeas férteis e machos irradiados de *A. fraterculus* de uma linhagem bissexual (VAC) e uma linhagem de sexagem genética (GSS) sob hipóxia  
.....12

Tabela 3 - Doses de radiação (Gy) e seu intervalo de confiança 95% (IC) estimados a partir do modelo Weibull de 4 parâmetros para 3 níveis de esterilidade de machos de *A. fraterculus* de uma linhagem bissexual (VAC) e uma linhagem de sexagem genética (GSS) irradiadas sob hipóxia  
.....13

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	1
<b>2. OBJETIVOS</b> .....	3
2.1. OBJETIVO GERAL.....	3
2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	3
<b>3. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA</b> .....	4
3.1 FRUTICULTURA NO BRASIL .....	<b>Erro! Indicador não definido.</b>
3.2 MOSCA-DAS-FRUTAS COM ÊNFASE EM <i>A. fraterculus</i> .....	4
3.3 CRIAÇÃO DE <i>A. fraterculus</i> EM DIETA ARTIFICIAL.....	6
3.4 ESTERILIZAÇÃO E CONTROLE BIOLÓGICO DE <i>A. fraterculus</i> <b>Erro! Indicador não definido.</b>	
<b>4. MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	7
4.1. TESTES PARA DETERMINAÇÃO DA DIETA LARVAL ADEQUADA PARA A LINHAGEM de <i>A. fraterculus</i> .....	8
4.2. DETERMINAÇÃO DA DOSE ESTERILIZANTE PARA MACHOS DE GSS DE <i>A. fraterculus</i> .....	9
<b>5. RESULTADOS</b> .....	10
5.1 TESTES PARA DETERMINAÇÃO DA DIETA LARVAL ADEQUADA PARA A LINHAGEM de <i>A. fraterculus</i> .....	10
5.2 DETERMINAÇÃO DA DOSE ESTERILIZANTE PARA MACHOS DE GSS DE <i>A. fraterculus</i> .....	11
<b>6. DISCUSSÃO</b> .....	14
<b>7. CONCLUSÃO</b> .....	16
<b>8. REFERÊNCIAS</b> .....	16

## 1. INTRODUÇÃO

A incidência de pragas em frutíferas é um dos principais fatores limitantes à produção. No Brasil, a mosca-sul-americana *Anastrepha fraterculus* (Wiedemann, 1830) (Diptera, Tephritidae), é considerada uma das pragas-chave da fruticultura, uma vez que ataca cerca de 116 espécies de frutíferas. Como exemplo, essa espécie representa 98,5% do total de moscas capturadas em pomares comerciais de maçã no estado do Rio Grande do Sul, e 96,4% e 81,9% de citros nos estados de Santa Catarina e São Paulo, respectivamente (RAGA et al., 2011; SANTOS et al., 2017), demonstrando sua incidência recorrente que resulta em danos diretos aos frutos.

Seus danos são ocasionados devido ao ovipositor da fêmea, que ao fazer a punctura dos ovos, causa o rompimento da casca do fruto, possibilitando a entrada e a proliferação de inúmeros microrganismos fitopatogênicos (NAVA; BOTTON, 2010). Ainda, as larvas, ao eclodirem, se alimentam de boa parte da polpa para se desenvolverem e continuarem seu ciclo, causando danos irreversíveis aos pomares e conseqüentemente a toda produção. Assim, a maioria das estratégias de controle deve visar a essa espécie.

A principal estratégia utilizada para o controle de insetos adultos de *A. fraterculus* é a utilização de inseticidas organofosforados em pulverização de cobertura nos pomares. Porém, muitos desses inseticidas efetivos foram retirados do mercado por apresentarem diversas desvantagens e riscos, como a elevada toxicidade para os seres humanos, elevado período de carência, além de baixa seletividade aos inimigos naturais e insetos polinizadores (CASTILHOS et al., 2017), causando redução da biodiversidade e impactos ambientais.

Por causa disso, os países importadores de frutos brasileiros se tornam cada vez mais seletivos e exigentes quanto a qualidade do produto, ausência de pragas e resíduos de agrotóxicos, incentivando os países produtores a combaterem as populações da praga de outras maneiras, com técnicas alternativas de controle de manejo dessa praga, como a Técnica do Inseto Estéril (TIE), que consiste na criação, esterilização e liberação rotineira de grandes quantidades de insetos estéreis com o objetivo de induzir ao longo do tempo a esterilidade na população alvo (MASTRANGELO et al., 2018). Sendo que, na aplicação da técnica, o ideal é que seja feita apenas liberação de machos estéreis produzidos, pois na ausência de fêmeas estéreis no campo, os machos liberados se dedicam exclusivamente na busca por

fêmeas selvagens, o que melhora significativamente a eficiência da TIE, promovendo a redução da população de selvagens em campo (OROZCO et al., 2013).

Outro ponto a ser levado em consideração é que as fêmeas das moscas-das-frutas, mesmo sendo estéreis, continuam fazendo punctura nos frutos, o que diminui a qualidade para a exportação (PARANHOS, 2006). Dessa maneira, a liberação de fêmeas estéreis em campo pode prejudicar ainda mais a produção e comercialização dos frutos, o que caracteriza mais uma vantagem na separação de machos e fêmeas no sistema de produção em massa para a aplicação da TIE.

Assim, para viabilizar a liberação apenas de machos estéreis em campo, é necessário desenvolver uma linhagem que permita a sexagem genética (*Genetic Sexing Strain* – GSS) ou a eliminação das fêmeas produzidas em alguma das etapas do processo de criação, o que geralmente pode ser realizado nas fases de ovo ou pupa (PAPATHANOS et al. 2009). Uma das formas de se separar os machos das fêmeas seria desenvolver uma linhagem GSS cujas cores das pupas dos machos e fêmeas fossem diferentes (FRANZ, 2005). Isso já foi realizado em outras espécies de mosca-das-frutas, como para a mosca-do-mediterrâneo, *Ceratitidis capitata* (Diptera: Tephritidae), chamada *tsl-Vienna 8*, no qual os machos adultos emergem apenas de pupas marrons enquanto as fêmeas, de pupas brancas, sendo esta linhagem a mais utilizada pelas biofábricas produtoras de machos estéreis dessa espécie (FRANZ, 2005; SUAREZ et al., 2019).

Para *A. fraterculus*, uma GSS baseada no dimorfismo de cor de pupas, com machos adultos emergindo de pupas marrons e fêmeas emergindo de pupas negras, vem sendo desenvolvida desde 2016 por meio de uma parceria entre o Centro de Energia Nuclear na Agricultura (CENA/USP), a EMBRAPA Uva & Vinho e o Insect Pest Control Laboratory (IPCL) da FAO/IAEA. Devido à cor negra das pupas fêmeas, essas poderiam ser facilmente identificadas e separadas durante o controle de qualidade das pupas, permitindo a irradiação e subsequente liberação apenas de machos no campo.

Porém, para isso, foi necessário no presente trabalho a realização de bioensaios para determinar a dose esterilizante correta para machos de GSS, visto que por ser uma linhagem mutante e ter sido adaptada em laboratório, podem ocorrer variações nas doses-respostas quando comparada a doses de radiação já utilizadas em linhagens conhecidas da mesma espécie. Também, visando maior conhecimento e controle da criação artificial para posterior uso no campo.

Outrossim, a criação artificial necessita de estratégias que facilitem o desenvolvimento de cada espécie e linhagens com suas especificidades dentro de ambientes controlados, de maneira a adaptar partes da metodologia se necessário, para alcançar posteriormente maior desempenho em larga escala, levando em consideração também a realidade e a disponibilidade local (WALDER et al., 2013). Um exemplo disso, é a variação de dietas larvais encontradas em diferentes regiões e países, visando todos a mesma finalidade, uma criação bem-sucedida (SOBRINHO et al., 2009).

A partir disso, além do bioensaio citado anteriormente, também foi necessária a realização de testes com diferentes modelos de dietas para essa nova GSS em desenvolvimento, visando maior adaptação, desenvolvimento larval, produtividade em meios artificiais, estabilização da colônia no laboratório, ampliação da população ao longo das gerações e custo-benefício final.

## **2. OBJETIVOS**

### **2.1. OBJETIVO GERAL**

O objetivo geral deste trabalho é testar diferentes dietas artificiais para a fase larval de *A. fraterculus* e determinar a dose esterilizante para machos da nova linhagem de GSS.

### **2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- Testar diferentes dietas com ingredientes locais, a fim de garantir o melhor desenvolvimento larval, custo-benefício e estabilização da população de GSS ao longo das gerações;
- Determinar a dosagem esterilizante ideal para machos da linhagem de GSS e comparar com outras linhagens da mesma espécie criadas em laboratório.

### **3. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA**

#### **3.1 FRUTICULTURA NO BRASIL**

As publicações científicas mais recentes mostram que a excelência e a diversidade na produção de frutas no Brasil conduzem a fruticultura a uma escala de crescimento e visibilidade quanto ao mercado internacional (FONSECA, 2022), porém em fase inicial, visto que o país ainda pode ampliar sua produção, seus acordos, suas tecnologias, seus períodos de ofertas e sua participação no cenário global.

Mais de 40 frutas diferentes fazem parte da cesta de exportações, sendo que sete já fornecem 80% do faturamento do setor no mercado internacional, que são a manga, melão, uva, limão, maçã, melancia e mamão. Com relação às exportações brasileiras, seu principal destino é a União Europeia, que em 2021 foi responsável por 52,6%, seguidos do Reino Unido com 15,7% e Estados Unidos com 12,8% (FERREIRA et al., 2022).

Porém, a expansão da fruticultura brasileira tem sido direcionada a se fundamentar no desenvolvimento técnico e científico, que associados a diversidade das regiões, abundância de água e aptidão agrícola, permitem o uso da terra consciente, sem que haja a necessidade de exploração de novas áreas, desperdícios e grandes impactos ambientais, mas melhor proveito da terra e, conseqüentemente, maior produção. Um exemplo disso é a valorização e popularização de estratégias que visam o controle de pragas sem prejudicar o meio ambiente, como o caso do controle biológico (CASTILHOS et al., 2017), que promete a redução de perdas na fruticultura e maior proveito de todo plantio.

#### **3.2 MOSCA-DAS-FRUTAS COM ÊNFASE EM *A. fraterculus***

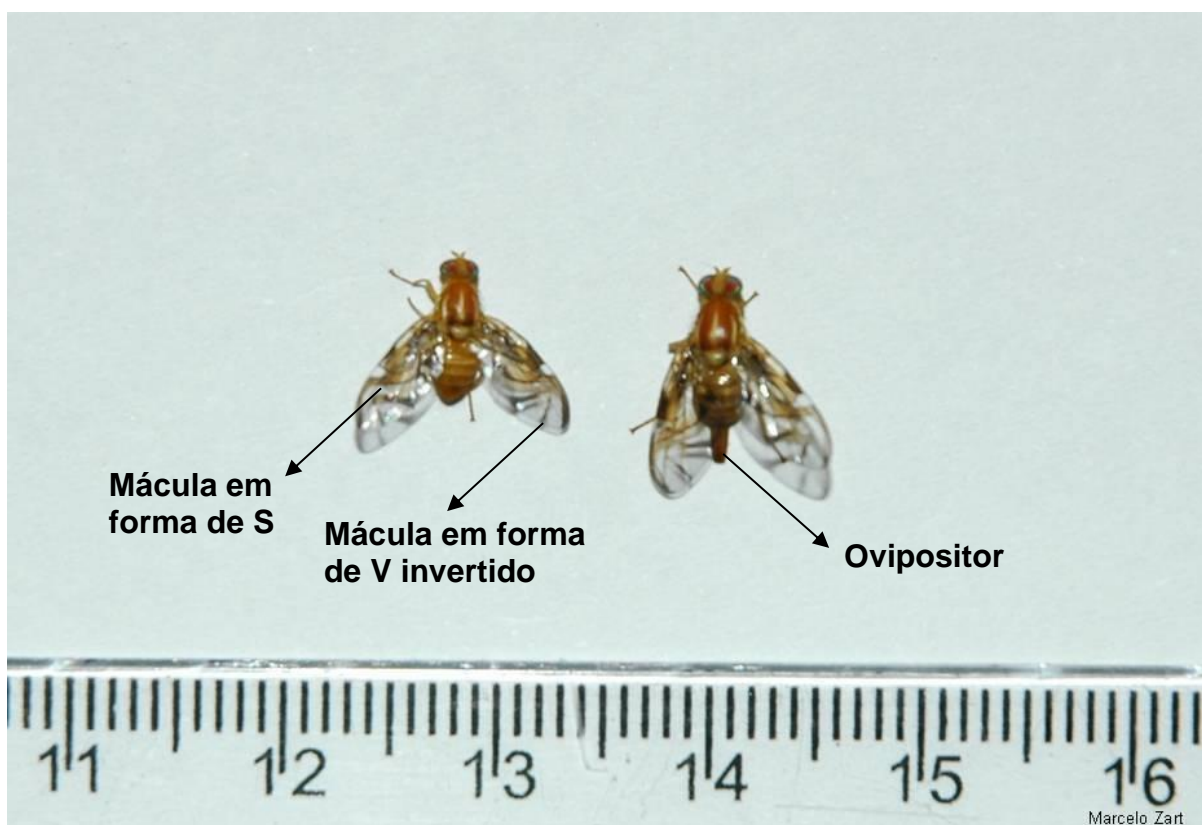
A família Tephritidae da ordem Diptera é representada por mais de 4.000 espécies distribuídas em 500 gêneros, com aproximadamente 250 espécies de importância agrícola e econômica (MASTRANGELO et al., 2018). No Brasil, os gêneros mais predominantes são *Anastrepha*, cujas espécies são provenientes da América Central e do Sul, e *Ceratitís*, cuja principal espécie *C. capitata* foi introduzida no Brasil no início do século 20, tendo grande dispersão em todo território nacional.

Ainda, quanto aos levantamentos populacionais, ambos os gêneros estão em praticamente todas as regiões do Brasil, sendo que para *Anastrepha*, a distribuição das espécies varia de região para região, pois depende dos frutos hospedeiros e do clima (PARANHOS, 2008). Também, os dois gêneros são responsáveis por afetar

diversos tipos de pomares, a maioria relevantes para a fruticultura nacional, como citros, uva, cacau, pêssego, goiaba, ameixa, mamão, maçã, maracujá, nectarina, nêspera, pera, acerola e outros (NAVA et al., 2019).

Dando maior ênfase para *A. fraterculus*, espécie do presente trabalho, os adultos são moscas de coloração predominantemente amarelas que medem cerca de 8mm de comprimento, sendo que as fêmeas diferem dos machos devido a presença do ovipositor. De asas maculadas, apresentam duas manchas amarelas sombreadas nas asas como característica do gênero, sendo uma em forma de S na parte central e outra em forma de V invertido na borda posterior (Figura 1). Seu ciclo de vida passa por quatro estágios de desenvolvimento, sendo ovo, larva, pupa e inseto adulto (ANSILIERO, 2023).

**Figura 1.** Adultos de macho e fêmea de *Anastrepha fraterculus*.



Fonte: Marcelo Zart, EMBRAPA.

Por fim, cabe destacar ainda a linhagem mutante da espécie de *A. fraterculus*, também do presente trabalho, denominada como GSS-89, que apesar de possuir as mesmas características morfológicas de sua espécie, também apresenta uma mutação natural de coloração diferente. Assim, através da radioindução de uma

translocação na banda 88 do cromossomo VI, foi possível obter um dimorfismo na coloração de pupas, sendo que os machos emergem da pupa marrom enquanto as fêmeas da pupa preta, obtendo assim a sexagem do material produzido antes da emergência dos adultos. Ainda, devido a essa translocação específica, essa linhagem passou a ser semi-estéril, ou seja, apenas parte de seus descendentes são viáveis e se desenvolvem.

### **3.3 CRIAÇÃO DE *A. fraterculus* EM DIETA ARTIFICIAL**

As necessidades nutricionais das moscas-das-frutas dependem de fatores abióticos, como temperatura, umidade e pH e fatores bióticos, como fase de crescimento, tempo de reprodução e dispersão. Sendo assim, quando o inseto não consegue suprir suas necessidades mínimas, sofre consequências na performance e longevidade (COHEN, 2004). Se isso já acontece na natureza, quanto mais em uma produção artificial em grande escala, tornando imprescindível a avaliação do desempenho das fases que consomem dietas artificiais, que são nas fases larval e adulta.

Assim, em uma criação massal, as dietas artificiais são de suma importância para que haja o desenvolvimento completo do inseto em todas as suas fases, como acontece na natureza, suprimindo suas necessidades nutricionais, garantindo sua sobrevivência, longevidade, fertilidade e performance no momento da cópula, visando a manutenção da população. Ainda, o correto para dietas na fase larval, analisadas no presente trabalho, é que sejam mais líquidas ou com texturas gelatinosas, visando a dispersão das larvas e seus movimentos para se alimentar e crescer em todo o meio oferecido. Por isso, componentes que contribuam para essa textura, como emulsificantes, estabilizantes ou gelificantes, como a carragenina, podem ser úteis (OVIEDO, 2014).

Para a dieta líquida, utilizada na fase larval de *A. fraterculus*, o maior problema é encontrar um substrato ideal em que a larva se desenvolva em todos os seus instares, que são três. Além disso, também é necessário levar em consideração o melhor custo-benefício e a mais simples manutenção e retirada das larvas maduras da dieta, visto a produção em larga escala (WALDER; KAMIYA, 2010). A dieta convencional padrão utiliza 0,11% de benzoato de sódio, 0,11% de Nipagin, 7,35% de açúcar, 3,5% de levedura, 31,19% de farelo de trigo e 57,70% de água, porém também



pode ser modificada e ajustada de acordo com a necessidade apresentada por cada espécie e região.

### **3.4 ESTERILIZAÇÃO E CONTROLE BIOLÓGICO DE *A. fraterculus***

A técnica do inseto estéril (TIE) vem sendo utilizada para o controle biológico de pragas agrícolas desde 1952, porém obstáculos com relação à irradiação precisaram ser superados. A determinação da dose esterilizante para cada espécie e linhagem é essencial para que não haja perda total do material irradiado, bem como para não gerar um elevado custo biológico aos machos estéreis, interferindo na competitividade para copular com fêmeas selvagens e até mesmo na longevidade e viabilidade dos adultos na natureza (CHANG, 2020). Para moscas de *Anastrepha*, as doses de irradiação são inferiores às utilizadas para atingir 99% de esterilidade em moscas de *C. capitata*, além disso, também existem diferentes doses para diferentes espécies de mesmo gênero, seguindo as especificações internacionais pré estabelecidas (FAO, 2003).

necessários, e isso se deve ao fato de que possuem diferenças fisiológicas, comportamentais e genéticas envolvidas em processos adaptativos (CHANG, 2020).

A TIE aplicada para mosca-das-frutas já foi utilizada em vários países, como EUA, México, Guatemala, Argentina, Chile, Peru, Portugal, Tunísia, Tailândia, África do Sul e Japão, para erradicação ou supressão das pragas, demonstrando sucesso em proteger áreas de fruticultura (PARANHOS, 2007). No Brasil, a técnica foi adotada pela primeira vez em 2005 pela biofábrica MOSCAMED Brasil, uma organização social reconhecida pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) e pelo governo da Bahia, onde está sediada. Hoje, também está presente em outros estados em parcerias com Agências Estaduais de Defesa Agropecuária. A biofábrica realiza a produção de insetos para o manejo integrado de mosca-das-frutas, o monitoramento de espécies, principalmente de *C. capitata* e a capacitação e informação científica (MOSCAMED BRASIL, 2019).

## **4. MATERIAL E MÉTODOS**

O trabalho foi executado no Laboratório de Irradiação de Alimentos e Radioentomologia (LIARE) do CENA/USP em Piracicaba, São Paulo. O LIARE estabeleceu recentemente uma colônia de GSS para *A. fraterculus*, na qual os machos emergem de pupas marrons e as fêmeas, de pupas negras.

Todos os lotes de pupas produzidos passaram por um exame visual de coloração em lupa com luz branca para seleção e remoção de mutantes indesejáveis e todos os indivíduos que não apresentaram a referência de coloração pura (totalmente marrom ou totalmente preta) de forma a se manter o padrão de qualidade transmitido pela linhagem.

**Figura 2.** *Genetic sexing strain* (GSS) da mosca *Anastrepha fraterculus* que vem sendo estabelecida no LIARE do CENA/USP: placa de Petri contendo pupas marrons (machos) e negras (fêmeas) (à esquerda), e colônia inicial com moscas adultas da GSS (à direita).



#### **4.1. TESTES PARA DETERMINAÇÃO DA DIETA LARVAL ADEQUADA PARA A LINHAGEM de *A. fraterculus***

Visando a futura produção massal de machos estéreis da linhagem GSS, foram testados três diferentes tipos de dietas artificiais para a criação das larvas com ingredientes locais. O desenvolvimento larval da GSS foi avaliado nas dietas à base de farinha de milho (1 e 2), com duas concentrações diferentes de carragenina (4 ou 6 g por 1 L de dieta) somente para a dieta 2:

1) dieta à base de farinha de milho: para preparo de 1 kg de dieta, foram utilizados 300 g de farinha de milho amarela Yoki® (General Mills Brasil Alimentos Ltda., Cambará, PR), 50 g de levedura de cerveja liofilizada Brewcell® (Biorigin, Lençóis Paulista, SP), 30 g de açúcar cristal Caravelas® (Usina Colombo S/A, Ariranha, SP), 1.120 mL de água filtrada, 2 g de benzoato de sódio, 2 mL de solução alcoólica de nipagin e 6 g de ácido cítrico, ficando o pH inicial entre 4,20 e 4,50;

2) dieta à base de farinha de milho com carragenina: para preparo de 1 L de dieta, foram utilizados 60 g de farinha de milho amarela Yoki® (General Mills Brasil Alimentos Ltda., Cambará, PR), 60 g de levedura de cerveja liofilizada Brewcell® (Biorigin, Lençóis Paulista, SP), 60 g de açúcar cristal Caravelas® (Usina Colombo S/A, Ariranha, SP), 800 mL de água filtrada, 6 g de carragenina, 1 g de benzoato de sódio, 8 mL de solução alcoólica de nipagin e 4 mL de ácido clorídrico comercial, ficando o pH inicial entre 3,40 e 3,70;

3) dieta à base de pó de cenoura liofilizada e cenoura cozida: para preparo de 1 kg de dieta, foram utilizados 85 g de pó de cenoura liofilizada (Aloe Química Fina, Palhoça, SC), 275 g de cenoura cozida (Cut & Peeled Baby Carrots da Grimmway Farms®, Califórnia, USA), 96 g de levedura de cerveja Brewcell® (Biorigin, Lençóis Paulista, SP), 22 g de germe de trigo, 43 g de açúcar cristal Caravelas® (Usina Colombo S/A, Ariranha, SP), 475 mL de água filtrada, 2,5 g de benzoato de sódio, 2 g de nipagin e 2,5 mL de ácido clorídrico comercial ficando o pH inicial entre 3,40 e 3,60.

As dietas foram acondicionadas em bandejas de 500 mL, sendo semeados 0,5 mL de ovos aerados por 48 h a 25 °C. Foram aplicadas quatro repetições (bandejas) para cada tipo de dieta.

Posteriormente ao desenvolvimento das fases do inseto, foram avaliados parâmetros comuns e relevantes para dípteras, que geralmente são: Volume total de larvas (mL), obtidos a partir da coleta manual de larvas das dietas, volume total de pupas (mL), obtidos após o pupário, tempo de desenvolvimento em dias até a emergência do inseto adulto e habilidade de voo (%), onde 50 pupas são selecionadas por repetição e condicionadas em potes com talco para evitar que, após a emergência, moscas defeituosas ou rastejantes consigam sair. Avaliando assim, quantas obtiveram habilidade de voo. Ainda, os resultados desses parâmetros foram analisados aplicando-se o teste F à análise de variância ( $p < 0,01$ ) e, quando detectada diferença significativa, o teste-t de Student ( $\alpha = 0,05$ ) foi utilizado para comparar as médias. Essas análises foram efetuadas por meio do programa estatístico SAS 9.1 (SAS Institute, 2003).

#### **4.2. DETERMINAÇÃO DA DOSE ESTERILIZANTE PARA MACHOS DE GSS DE *A. fraterculus***

Os bioensaios foram realizados no LIARE sob condições ambientais controladas,  $25 \pm 1$  °C; 65% UR; 14 h de fotofase. Pupas marrons foram irradiadas

48h antes da emergência dos adultos com diferentes doses sob hipóxia: 0 (testemunha), 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 e 100 Gy. Como controle, pupas da linhagem bissexual de *Vacaria* da mesma espécie também foram irradiadas em todos os tratamentos. A fonte de radiação gama é um irradiador com fontes de  $^{60}\text{Co}$  modelo Gammacell-220<sup>®</sup> (MDS Nordion International Inc., Canadá).

Dois dias após a emergência, os adultos foram selecionados. A esterilidade para cada tratamento (dose) foi avaliada expondo 50 machos irradiados a 50 fêmeas não-irradiadas durante uma semana em gaiolas cilíndricas de acrílico (7.121,5 cm<sup>3</sup>). Água e alimento foram fornecidos *ad libitum*, sendo a dieta dos adultos constituída por uma mistura de proteína hidrolisada (Bionis YE MF<sup>®</sup>), açúcar e gérmen de trigo (1:3:1).

As fêmeas ovipositaram em um dispositivo artificial feito com uma placa de Petri plástica perfurada com tecido *voil* vermelho recoberto por uma fina camada de silicone. Assim, os ovos foram coletados diariamente para avaliação da fertilidade e fecundidade das moscas. Também foi avaliado a porcentagem de ovos eclodidos após cinco dias. Foram adotadas cinco repetições por tratamento e um mínimo de cinco coletas de ovos.

Para a análise dos dados, foram avaliadas as proporções de viabilidade de ovos, recuperação ovo-pupa e de adultos por meio das funções `drm()` e `mselect()` do pacote 'DRC' do R (R Core Team, 2021) (RITZ, 2015). A fim de encontrar os modelos mais bem ajustados, foram comparados os valores em log, critérios de Informação de Akaike (AIC), e falta de ajuste e variância de todos os modelos. O conjunto de dados se mostrou mais bem ajustado ao modelo não-linear de Weibull com 4 parâmetros. As doses estimadas que causam 50, 90 e 99% de esterilidade foram determinadas com seus respectivos intervalos de confiança (95%) e, em seguida, as doses estimadas de ambas as linhagens foram comparadas usando o teste 't' de Student ( $P < 0,05$ ). Todos os gráficos foram construídos utilizando o pacote `ggplot2` (WICKHAM, 2016) no ambiente estatístico R (R Core Team, 2021).

## 5. RESULTADOS

### 5.1 TESTES PARA DETERMINAÇÃO DA DIETA LARVAL MAIS ADEQUADA PARA A LINHAGEM de *A. fraterculus*

Com relação ao bioensaio com três dietas larvais diferentes, o desenvolvimento larval foi verificado apenas na dieta (2) à base de farinha de milho com carragenina. Nas dietas à base de farinha de milho (1) e pó de cenoura liofilizada (3), as larvas não

conseguiram se desenvolver além do 2º instar e nenhuma pupa foi obtida. Dessa forma, os testes foram continuados apenas com a dieta à base de farinha de milho com carragenina, avaliando-se duas concentrações diferentes do agente gelificante (4 ou 6 g de carragenina por litro de dieta), descritos na Tabela 1.

**Tabela 1.** Parâmetros de controle de qualidade (média ± EP) da GSS de *Anastrepha fraterculus* criada na dieta larval à base de farinha de milho com duas concentrações diferentes de carragenina (4g ou 6g por 1L de dieta).

PARÂMETROS DE CONTROLE DE QUALIDADE	Dieta Larval com Carragenina		ANOVA	
	4 g/L	6 g/L		
<b>Volume total de larvas (mL)</b>	62,52 ± 6,2 a	37,87 ± 3,9 b	F=11,5; P=0,015	
<b>Volume de pupas (mL)</b>	<b>Pupa Marrom (♂)</b>	42,5 ± 2,2 a	26,38 ± 3,4 b	F=15,6; P=0,008
	<b>Pupa Negra (♀)</b>	20,5 ± 1,9	15,63 ± 3,3	F=1,6; P=0,25
<b>Volume total de pupas (mL)</b>	63 ± 4,04 a	42 ± 3,4 b	F=15,8; P=0,01	
<b>Tempo de desenvolvimento (dias)</b>	25,5 ± 0,3	25,25 ± 0,3	F=0,43; P=0,54	
<b>Habilidade de vôo (%)</b>	<b>Pupa Marrom (♂)</b>	93 ± 1,9	97 ± 0,9	F=4,4; P=0,08
	<b>Pupa Negra (♀)</b>	92 ± 4,1	96 ± 2,3	F=0,6; P=0,46

Médias na mesma linha seguidas da mesma letra não diferiram significativamente pelo teste-t de Student (P>0,05).

É possível observar a discrepância nos volumes de larvas produzidos, onde na dieta menos concentrada, com 4g/L de carragenina, houve maior desenvolvimento, com recuperação de 62,52mL de larvas. Já na dieta com 6g/L de carragenina, ocorreu menor desenvolvimento, com recuperação de 37,87mL, o que corresponde a apenas 60% da produtividade atingida com a concentração de 4g/L. Também é possível notar diferenças significativas nos volumes totais de pupas, com quase o dobro de pupas marrons obtidas nas dietas com 4g/L de carragenina, demonstrando que o desenvolvimento de larvas de GSS é maior na dieta com menor quantidade de carragenina.

## 5.2 DETERMINAÇÃO DA DOSE ESTERILIZANTE PARA MACHOS DE GSS DE *A. fraterculus*

As médias dos parâmetros de controle de qualidade obtidos a partir de cruzamentos entre fêmeas férteis e machos da linhagem bissexual de *Vacaria* (VAC)

e GSS irradiados sob hipóxia são apresentados na tabela 2. As relações entre as proporções de eclosão de larvas, recuperação ovo-pupa e de adultos, e as doses de irradiação podem ser observadas na tabela 2 e figura 3.

**Tabela 2.** Parâmetros de controle de qualidade (média ± EP) de cruzamentos entre fêmeas férteis e machos irradiados de *A. fraterculus* de uma linhagem bissexual (VAC) e uma linhagem de sexagem genética (GSS) sob hipóxia.

DOSE (Gy)	PARÂMETRO DE CONTROLE DE QUALIDADE					
	Eclosão (%)		Recuperação ovo-pupa (%)		Recuperação de adultos (%)	
	VAC	GSS	VAC	GSS	VAC	GSS
0	80.3±2.8	51.5±1.2	76.6±4.1	35.5±1.9	73.5±3.8	32.1±1.5
30	18.03±2.1	13.9±1.6	12.1±1.5	9.7±1.8	10.9±1.3	9.2±1.7
40	9.3±0.8	7.9±1.2	5.2±0.9	4.4±0.8	4.8±0.8	4.0±0.7
50	5.2±0.7	5.2±0.7	2.6±0.5	2.4±0.5	2.3±0.4	2.0±0.4
60	3.9±0.7	3.9±0.6	2.03±0.5	2.4±0.7	1.7±0.6	1.9±0.6
70	1.7±0.4	1.1±0.3	0.73±0.3	0.4±0.2	0.6±0.2	0.2±0.15
80	0.13±0.1	0.17±0.06	0.07±0.05	0	0.03±0.03	0
90	0	0	0	0	0	0
100	0	0	0	0	0	0
MODELO DE WEIBULL	$y = 0 + (0.78) \exp(\exp(0.92(\log(x) - \log(20.6))))$	$y = 0 + (0.55) \exp(\exp(0.96(\log(x) - \log(23.1))))$	$y = 0 + (0.77) \exp(\exp(0.77(\log(x) - \log(13.9))))$	$y = 0 + (0.35) \exp(\exp(0.82(\log(x) - \log(19.1))))$	$y = 0 + (0.74) \exp(\exp(1.18(\log(x) - \log(17.1))))$	$y = 0 + (0.32) \exp(\exp(1.26(\log(x) - \log(24.7))))$

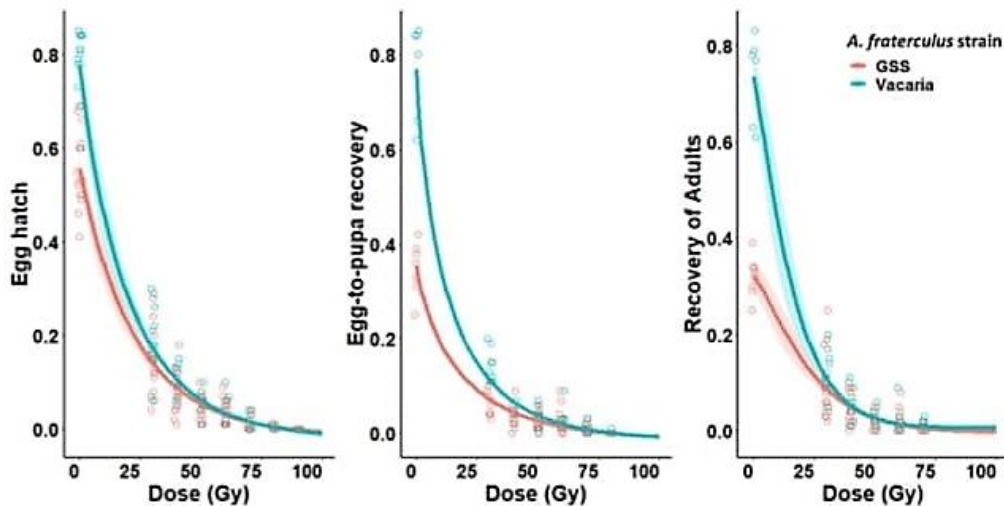
Em todos os parâmetros, é possível observar que a linhagem de GSS apresentou maior sensibilidade às doses de radiação quando comparado com outra linhagem comum de *A. fraterculus*, no caso representado pela Vacaria.

Para a eclosão de larvas, logo em 30Gy houve diferença nos resultados encontrados, onde Vacaria obteve 18,03% de eclosão, enquanto GSS somente 13,9%. Apesar de certa estabilidade entre as linhagens em algumas doses, como em 50Gy e 60Gy, GSS continuou a decair mais rápido que Vacaria, se mostrando mais sensível ao longo das dosagens. Isso também é observado na recuperação ovo-pupa, onde em nenhum momento houve estabilidade das duas linhagens. Além disso, em 80Gy, apenas Vacaria demonstrou desempenho e resultado na recuperação ovo-pupa e, posteriormente, nos adultos.

O modelo Weibull com quatro parâmetros foi o de melhor ajuste para descrever as curvas de resposta à dose para a eclosão das larvas, recuperação ovo-pupa e recuperação de adultos (Figura 3). A fertilidade mais baixa dos machos de GSS (eclosão de larvas em torno de 50% e recuperação de pupas e adultos abaixo de 40%)

resultou em diferenças entre as curvas das linhagens em doses menores que 30 Gy, mas todos seguiram tendências decrescentes semelhantes e se sobrepuseram nas doses mais altas.

**Figura 3.** Curvas de dose-resposta seguindo o modelo Weibull para três parâmetros de controle de qualidade obtidos dos cruzamentos entre fêmeas férteis e machos de *A. fraterculus* irradiados sob hipóxia de uma linhagem de sexagem genética (GSS) e uma linhagem bissexual (Vacaria).



Dose (Gy). Egg hatch = Eclosão de ovos. Egg-to-pupa recovery = Recuperação ovo-pupa. Recovery of adults = Recuperação de adultos.

Alguns dos intervalos de confiança se sobrepuseram, resultando em nenhuma diferença para algumas doses estimadas das duas linhagens. Por exemplo, a D99 para ovos viáveis de ambas as linhagens foi de 74 Gy. No geral, a GSS mostrou-se mais sensível à radiação do que a linhagem bissexual de Vacaria, sendo necessárias doses menores para produzir os mesmos níveis de esterilidade na GSS (Tabela 3).



**Tabela 3.** Doses de radiação (Gy) e seu intervalo de confiança 95% (IC) estimados a partir do modelo Weibull de quatro parâmetros para três níveis de esterilidade de machos de *A. fraterculus* de uma linhagem bissexual (VAC) e uma linhagem de sexagem genética (GSS) irradiadas sob hipóxia.

PARÂMETRO		D <sub>50</sub> (95% CI) <sup>†</sup>		D <sub>90</sub> (95% CI)		D <sub>99</sub> (95% CI)	
Viabilidade de Ovos	VAC	8.1 (5.7; 10.6)	$t = 8.45$	41.1 (37.02; 45.1)	$t = 1.4^{ns}$ §	74.05 (57.9; 90.2)	$t = 0.0043$
	GSS	2.2 (0.9; 3.4)	$P < 10^{-3}$	37.4 (33.9; 40.8)	$P = 0.15$	74.1 (58.9; 89.3)	$P = 0.99$
Recuperação ovo-pupa	VAC	4.5 (4.3; 4.8)	---	32.3 (32.2; 32.5)	$t = 57.8$	68.5 (66.8; 70.2)	$t = 3.7$
	GSS	NE <sup>‡</sup>	---	23.1 (22.8; 23.4)	$P < 10^{-3}$	64.6 (63.2; 65.9)	$P = 0.0002$
Recuperação de adultos	VAC	7.7 (4.3; 11.1)	---	31.3 (29.3; 33.3)	$t = 2.1$	68.6 (51.1; 86.1)	$t = 0.46^{ns}$
	GSS	NE	---	27.6 (24.5; 30.7)	$P = 0.04$	62.9 (45.4; 80.5)	$P = 0.64$

† D = dose (Gy) que induz 50, 90 ou 99% de esterilidade e seu intervalo de confiança (95%).

‡ NE: Não estimado.

§ ns = não significativo pelo teste t de Student ( $P > 0,05$ ).

## 6. DISCUSSÃO

Para o bioensaio a base de pó de cenoura liofilizado, a dieta não foi adequada para uso, porque os componentes presentes nos ingredientes apresentaram variações de acordo com o lote, fazendo com que as dietas não suprissem os nutrientes essenciais necessários para que as larvas se desenvolvessem por completo. Ainda, os mesmos componentes dos ingredientes apresentaram resíduos tóxicos, que acabaram por matar as larvas antes mesmo de chegarem ao terceiro instar.

A dieta à base de farinha de milho sem carragenina também não foi adequada para uso, uma vez que faltaram componentes que contribuíssem para uma textura mais firme, como emulsificantes, estabilizantes ou agentes gelificantes, como a carragenina (COHEN, 2004). Além disso, os espiráculos respiratórios de larvas de *A. fraterculus* se localizam lateralmente, nas regiões anterior e posterior (ZUCCHI et al., 2023), fazendo com que as larvas em dietas mais líquidas não consigam permanecer por muito tempo, gerando estresse na população e conseqüente morte.

Assim, vale ressaltar que apenas a dieta a base de farinha de milho com carragenina foi adequada para uso, já que apresentou ingredientes de fácil acesso local e componentes com poucas variações e nenhuma toxicidade para as larvas em desenvolvimento (TERESA, 2014). Ademais, a dieta apresentou componentes que contribuíram para uma textura mais firme, fazendo com que as larvas sobrevivessem



e atingissem o terceiro instar, alcançando a maturidade larval. Os resultados obtidos após os testes com carragenina revelaram que as larvas conseguiram se desenvolver em ambas as concentrações, porém, quando comparadas, é nítida a maior produtividade da GSS na concentração de 4g/L, que possibilitou maior volume de larvas e pupas (OVIEDO, 2014).

Os testes realizados para verificar as melhores dosagens de irradiação para esterilização da linhagem mutante GSS foram feitos sob hipóxia, ou seja, com baixa concentração de oxigênio, permitindo maior qualidade dos insetos sem prejuízos à esterilização. Também as pupas foram irradiadas 48h antes da emergência, o que permitiu uma metamorfose quase completa do inseto, garantindo que os efeitos da radiação nos órgãos com baixa taxa metabólica fossem minimizados e maiores níveis de esterilidade alcançados (WALDER; KAMIYA, 2010).

Com relação às dosagens testadas, observa-se inicialmente que dosagens próximas de 70Gy levaram a linhagem de GSS a uma ótima esterilidade, já que a recuperação ovo-pupa foi muito baixa e a emergência de adultos quase insignificante, demonstrando parâmetros relevantes a serem adotados. Já com relação a linhagem de Vacaria, dosagens próximas a 80Gy possibilitaram melhores resultados de esterilização, comprovando que GSS é mais sensível a radiação e, por isso, necessita de dosagens menores para que atinja sua ótima performance na posterior aplicação da TIE.

Resultados similares foram obtidos em outro trabalho com *Anastrepha ludens*, espécie comumente encontrada no México (RULL, 2007), que buscou revisar as doses de irradiação utilizadas para esterilização dos machos adultos e revelou que doses entre 40Gy e 80Gy conseguiram induzir 95% de esterilidade nos machos irradiados, o que indica certo padrão para o gênero. Ainda, a esterilidade plena das espécies e linhagens não é necessária para a aplicação da TIE, pois doses elevadas de radiação podem acarretar efeitos negativos no comportamento, competitividade e longevidade dos insetos adultos em campo (WALDER, 2000).

Além disso, para a dose que induz a 99% de esterilidade, observou-se a sobreposição das duas linhagens apenas no parâmetro de recuperação de ovos, ainda demonstrando diferenças entre elas no quesito recuperação ovo-pupa e adultos, comprovando os fatos mencionados anteriormente.

## 7. CONCLUSÃO

Com base nos bioensaios realizados e resultados obtidos no presente trabalho, pode-se concluir que:

Somente a dieta de farinha de milho com carragenina foi adequada para criação artificial do estágio larval, permitindo o desenvolvimento larval completo, produção de pupas e insetos adultos.

As larvas da linhagem mutante GSS se desenvolveram mais na concentração de 4g/L, produzindo posteriormente maior quantidade de larvas, pupas e adultos para a criação artificial.

A dose esterilizante ideal para machos de GSS está próxima dos 70Gy, com a recuperação de pupas e insetos adultos quase nula, não prejudicando a fisiologia da mosca e nem a liberação em campo na TIE.

Por fim, é possível observar que a GSS acabou sendo mais sensível à radiação do que a linhagem de Vacaria.

## 8. REFERÊNCIAS

ANSILIERO, A. **Repelência da mosca-das-frutas Sul-Americana, *Anastrepha fraterculus* (Wiedemann, 1830) com extratos vegetais**. 2023. Dissertação, UFSC - Universidade Federal de Santa Catarina. Disponível em:

<<https://repositorio.ufsc.br/bitstream/handle/123456789/252076/PEAN0051-D.pdf?sequence=-1&isAllowed=y>>. Acesso em: 9 jan. 2024.

CASTILHOS, R.V.; et al. Selectivity of insecticides used in peach farming to larvae of *Chrysoperla externa* (Neuroptera: Chrysopidae) in semi-field conditions. **Revista Caatinga**, v. 30, n.1, p. 1-7, 2017. Acesso em: 9 jan. 2024.

CHANG, E. **Padrões morfológicos das asas em espécies de *Anastrepha* (Diptera: Tephritidae) associadas a diferentes estratégias de utilização de recursos alimentares**. 2020. Dissertação, USP - Universidade de São Paulo. Disponível em: <<https://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/41/41131/tde-30112020-104438/publico/EsterSilvaChangCorrigidaSimplificada.pdf>>. Acesso em: 9 jan. 2024.

COHEN, A. C. **Insect Diets: Science and Technology**. Boca Raton: CRC Press. v. 2, n. 1, p. 1-473, 2004. Acesso em: 10 jan. 2024.

FERREIRA, I.; et al. A contribuição e relevância do agronegócio para o Brasil. **Revista do CEDS**, v. 2, n. 10, p. 1-21, 2022. Disponível em: <<https://periodicos.undb.edu.br/index.php/ceds/article/view/16> >. Acesso em: 9 jan. 2024.

FONSECA, L. (org.). **Fruticultura Brasileira: Diversidade e sustentabilidade para alimentar o Brasil e o Mundo**. 2022. Confederação da Agricultura e Pecuária do Brasil, CNA. Disponível em: <https://cnabrasil.org.br/noticias/fruticultura-brasileira-diversidade-e-sustentabilidade-para-alimentar-o-brasil-e-o-mundo>. Acesso em: 3 fev. 2024.

FRANZ, G. (2005). Genetic Sexing Strains in Mediterranean Fruit Fly, an Example for Other Species Amenable to Large-Scale Rearing for the **Sterile Insect Technique**, v. 1, p. 427-451. *In*: Dyck, V.A., Hendrichs, J., Robinson, A. (eds) Sterile Insect Technique. Springer, Dordrecht. [https://doi.org/10.1007/1-4020-4051-2\\_16](https://doi.org/10.1007/1-4020-4051-2_16)

FAO, International Standards for Phytosanitary Measures. Food and Agriculture Organization - **FAO**, 1995-2009. Traduzido por MAPA, Brasil, 2003. Acesso em: 20 fev. 2024.

MASTRANGELO.; et al. Optimization of the sterilizing doses and overflooding ratios for the South American fruit fly. **PLoS ONE**, v.13, n.7, p. 1-17, 2018. Acesso em: 9 jan. 2024.

MOSCAMED Brasil. (org.). **Liderança número um na técnica do inseto estéril: Biofábrica MOSCAMED**, 2019. Disponível em: <<http://moscamed.org.br/moscamed-2/>>. Acesso em: 9 jan. 2024.

NAVA, D; et al. Avaliação preliminar da seletividade de inseticidas e do parasitismo de *Doryctobracon areolatus* (Hymenoptera: Braconidae) em moscas-das-frutas. **Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento**. Embrapa Clima Temperado, 2019. Acesso em: 8 jan. 2024.

NAVA, D.; BOTTON, M. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. **Infoteca EMBRAPA** - Clima Temperado - Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. 2010. Disponível em: <<https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/bitstream/doc/888672/1/documento315.pdf>>. Acesso em: 9 jan. 2024.

OROZCO, D.; HERNANDEZ, M.R.; MEZA, J.S.; QUINTERO, J.L. Do sterile females affect the sexual performance of sterile males of *Anastrepha ludens* (Diptera: Tephritidae). **Journal of Applied Entomology**, v.137, 2013. Acesso em: 8 jan. 2024.

PAPATHANOS, P.A.; BOSSIN, H.C.; BENEDICT, M.Q. Sex separation strategies: past experience and new approaches. **Malaria Journal**. v.8, n. 5, p. 1-8, 2009. Acesso em: 9 jan. 2024.

PARANHOS, B. Mosca-das-frutas que oferecem riscos à fruticultura brasileira, **EMBRAPA Semi-árido**, 2008. Disponível em: <<https://core.ac.uk/download/pdf/45486429.pdf>>. Acesso em: 9 jan. 2024.

PARANHOS, B. BIOFÁBRICA MOSCAMED BRASIL - Tecnologia ambientalmente segura no combate de pragas. *In*: SIMPÓSIO DE MANGA DO VALE DO SÃO FRANCISCO II, Vale do São Francisco, 2007. **Simpósio de Manga do Vale do São Francisco II**. Petrolina: Embrapa Semi-Árido, p. 1-16, 2007.

PARANHOS, B. Viabilidade da utilização da linhagem mutante TSL, *Vienna 8*, de *Ceratitis capitata*, no programa Moscamed Brasil. **Infoteca EMBRAPA** - Semi-Árido , 2006. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/157494/viabilidade-da-utilizacao-da-linhagem-mutante-tsl-vienna-8-de-ceratitis-capitata-no-programa-moscamed-brasil>>. Acesso em: 9 jan. 2024.

RAGA, A.; SATO, M.E. Toxicity of neonicotinoids to *Ceratitis capitata* and *Anastrepha fraterculus* (Diptera: Tephritidae). **Journal of Plant Protection Research**, v.51, n. 1, p.413-419, 2011. Acesso em: 9 jan. 2024.

RULL, J.; et al. Irradiation of *Anastrepha ludens* (Diptera: Tephritidae). Revisited: optimizing Sterility Induction. **Journal of Economic Entomology**, v. 100, n. 4, p. 1153–1159, 2007. Acesso em: 9 jan.2024.

SANTOS, J.P.; et al. Flutuação populacional e estimativa do número de gerações de *Anastrepha fraterculus* (Diptera: Tephritidae) em pomar de macieira em Caçador, Santa Catarina, Brasil. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 4, n. 84, p. 1-7, 2017. Acesso em: 9 jan. 2024.

SUAREZ, L.; et al. Effects of host age and radiation dose in *Diachasmimorpha longicaudata* (Hymenoptera: Braconidae) mass-reared on Medfly larvae of the *tsl-Vienna 8 genetic sexing strain*. **Biological Control**, v.130, n. 1, p.51–59, 2019. Acesso em: 8 jan. 2024.

SOBRINHO, R. GUIMARÃES, J. MESQUITA, A. ARAÚJO K. Desenvolvimento de dietas para a criação massal de moscas-das-frutas do gênero *Anastrepha* (Diptera: Tephritidae). **Boletim de pesquisa e desenvolvimento, EMBRAPA**, 2009. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/580683/desenvolvimento-de-dietas-para-a-criacao-massal-de-moscas-das-frutas-do-genero-anastrepha-diptera-tephritidae>>. Acesso em: 9 jan. 2024.

TERESA M.; et al. Development of a larval diet for the South American fruit fly *Anastrepha fraterculus* (Diptera: Tephritidae). **International Journal of Tropical Insect Science**, v. 34, n. 1, p. 1-10, 2014. Acesso em: 10 jan. 2024.

WALDER, J. M.; et al. Dietas artificiais para a criação de larvas e adultos da mosca-das-frutas sul-americana. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 48, n. 48, p. 1309-1314. 1 out. 2013. Disponível em: <<https://www.scielo.br/j/pab/a/LqfLFKPyBgTPmdQ4gg6fp4r/#>>. acesso em: 9 jan. 2024.

WALDER, J. M.; et al. Técnica do inseto estéril: controle genético. *In*: MALAVASI, A. ZUCCHI, R. A. (Ed.). **Mosca das frutas de importância econômica no Brasil**:

**Conhecimento básico e aplicado.** Ribeirão Preto: Editora HOLOS, FAPESP. 2000.  
Acesso em: 10 jan. 2024.

WALDER, J. M. KAMIYA. **Criação massal em dieta líquida e radioesterilização da mosca Sul-Americana *Anastrepha sp.1 aff. fraterculus* (Wied., 1830) (Diptera, Tephritidae).** Dissertação (Mestrado) - Curso de Energia Nuclear na Agricultura e no Ambiente, USP, São Paulo, 2010. Disponível em:  
<[http://www.cena.usp.br/posgraduacao/egressosp/2010/2010\\_6002181\\_ME\\_Aline.pdf](http://www.cena.usp.br/posgraduacao/egressosp/2010/2010_6002181_ME_Aline.pdf)>. Acesso em: 9 jan. 2024.

ZUCCHI, R. A. MALAVASI, A. ADAIME, R. NAVA, D. **Mosca-das-frutas no Brasil: conhecimento básico e aplicado.** Piracicaba: Editora FEALQ, 2023. Acesso em:  
10 jan. 2024.