

SEPARAÇÃO DO SEXO DE PUPAS DE *Anastrepha fraterculus* (DIPTERA: TEPHRITIDAE) USANDO ESPECTROSCOPIA NO INFRAVERMELHO PRÓXIMO

MARCOS HENRIQUE FRECH TELLES¹; EMILY SILVA ARAUJO²; ALEXANDRA PETER KRUGER³; SILVANA NISGOSKI⁴; LINO BITTENCOURT MONTEIRO⁵; FLÁVIO ROBERTO MELLO GARCIA⁶

¹Universidade Federal de Pelotas/ Laboratório de Ecologia dos Insetos - marcoshft@hotmail.com

²Programa de pós-graduação em Fitossanidade - Entomologia - UFPEL - emiagro@yahoo.com

³Programa de pós-graduação em Fitossanidade - UFPEL - alexandra_kruger@hotmail.com

⁴Universidade Federal do Paraná - Laboratório de Anatomia da Madeira - silvana.ufpr@gmail.com;

⁵Universidade Federal do Paraná - Laboratório de Manejo Integrado de Pragas - lbmonteiro@terra.com.br

⁶Universidade Federal de Pelotas/ Instituto de Biologia, - flavioirmg@hotmail.com

1. INTRODUÇÃO

As moscas-das-frutas (Diptera: Tephritidae) são consideradas as principais pragas da fruticultura mundial, devido aos danos diretos provocados e a sua capacidade de adaptação a diferentes regiões. No Brasil, as espécies de importância econômica englobam-se nos gêneros *Anastrepha* Schiner (1868) e *Ceratitis* MacLeay (1829) (RAGA; SOUZA FILHO, 2003). Devido à importância econômica mundial desses insetos, o comércio internacional de frutas frescas impõe normas que visam impedir a introdução de espécies de moscas-das-frutas nos países importadores. Ainda, a adequação às exigências do mercado consumidor e a busca pela segurança alimentar, exigem rápidas mudanças nas técnicas de controle utilizadas na fruticultura brasileira (CARVALHO, 2005).

A utilização da Técnica do Inseto Estéril, TIE, atende as exigências atuais dos países importadores de frutas e do mercado interno consumidor, sendo considerada uma das técnicas mais eficientes no controle de moscas-das-frutas em vários países (HENDRICHES et al., 2002). Um fator que contribui para a eficiência da TIE é a liberação de somente insetos machos, visto que, a liberação simultânea de ambos os sexos é menos eficaz, pois há uma tendência ao acasalamento seletivo (ROBINSON et al., 1999; RENDÓN et al., 2004), além dos danos indiretos causados pelo ato de punctura (MORGANTE, 1991). Desta forma, a sexagem das moscas antes da emergência dos adultos é importante devido a eficiência e baixo custo (PARANHOS, 2005). Isto já ocorre para a mosca do mediterrâneo, *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae), por meio do método da "pupa branca" e por sensibilidade a temperatura de fêmeas mutantes (PARANHOS, 2005; FISHER; CACERES, 2000). Porém não há métodos viáveis na literatura de sexagem precoce na fase de pupa para o gênero *Anastrepha*.

A espectroscopia do infravermelho próximo, NIRS, pode ser usada para medir características de insetos, pois todos os materiais biológicos são baseados em sua composição química única. Moléculas compostas de C, H, N e O têm frequências vibracionais únicas que absorvem radiação infravermelha de um comprimento de onda específico ou de seu harmônico (MILLER, 2001), logo proteínas, carboidratos, lipídios, água, etc. e a interação desses afetaria o espectro infravermelho próximo. Já existem trabalhos utilizando a técnica de NIRS para a sexagem de pupas da mosca tse-tse, sendo considerada promissora (DOWELL, 2005). Portanto o objetivo desse trabalho é investigar se pupas, fêmeas e machos, de *Anastrepha fraterculus* (Diptera: Tephritidae) possuem diferenças químicas que as distingam por NIRS.

2. METODOLOGIA

Para a realização do experimento, foram utilizadas pupas de *A. fraterculus* da criação de manutenção do Laboratório de Manejo Integrado de Pragas da Universidade Federal do Paraná (UFPR), e os testes com NIRS foram realizados no Laboratório de Anatomia da Madeira da UFPR. Foram realizados dois testes, sendo que em cada teste foram analisadas 30 pupas. O espectrofotômetro utilizado foi o BRUKER TENSOR 37 calibrado para um espectro de comprimento de onda de 1000 nm a 2500 nm ($10000-4000\text{ cm}^{-1}$) operando em reflectância difusa com resolução de 2 cm^{-1} e 32 varreduras para cada indivíduo, a sala onde se encontrava o aparelho estava acondicionada a 23°C com variação de $\pm 2^{\circ}\text{C}$ e a uma umidade relativa de 55-60%.

Pupas com 10 dias de idade foram colocadas manualmente uma a uma sobre a janela do espectrofotômetro, medidas e individualizadas para posterior medição. Foram realizadas três leituras para cada pupa, sendo utilizada a média das leituras.

As pupas com 13 dias foram mais uma vez medidas e individualizadas. Após a emergência de 29 adultos, esses foram sexados (16 machos e 13 fêmeas). Os dados foram analisados com o software Unscrambler X versão 10.1 (Camo Software AS, Oslo, Norway) por análises multivariadas.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Através da Análise de Componentes Principais (PCA) dos dados originais observa-se a distribuição dos insetos (Figura 2) nos diferentes dias. Quando o espectro foi coletado com pupas de 10 dias, verificou-se um agrupamento das pupas machos e fêmeas com uma pequena sobreposição. Com treze dias a sobreposição de machos e fêmeas aumenta e os agrupamentos não são contrastantes, mas predomina a tendência de separação. Nota-se que os pontos estão distribuídos mais uniformemente pelo gráfico e estão mais distantes. Foram testados os pré-tratamentos de primeira e segunda derivada, mas não houve melhora na discriminação das pupas.

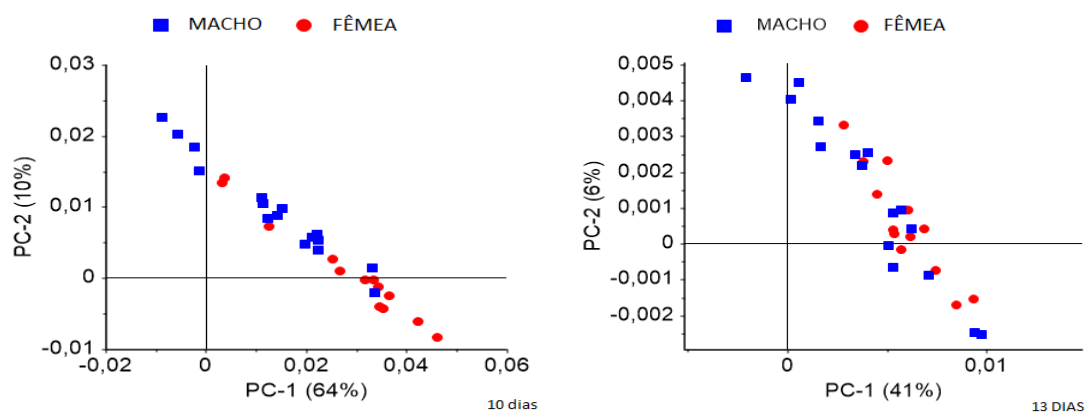


Figura 2- Análise dos componentes principais das pupas com 10 e 13 dias.

Ao analisar as médias dos espectros das pupas (Figura 3), pode-se observar variação no espectro de reflectância à medida que a mosca se desenvolve; do décimo para o décimo terceiro dia observou-se a redução nas diferenças de reflectância do espectro, notavelmente a porção 1346-1886 nm apresenta maior

diminuição nas diferenças. A variação da reflectância de machos e fêmeas foi atribuída ao aumento e diminuição dos hormônios de diferenciação sexual expressos na fase de pupa em estudos com pupas de tsé-tsé (Diptera: Glossinidae: *Glossina*) (Dowell et al., 2005). A porção 1072-1234 nm mostrou maior diferença na reflectância em ambas as medições.

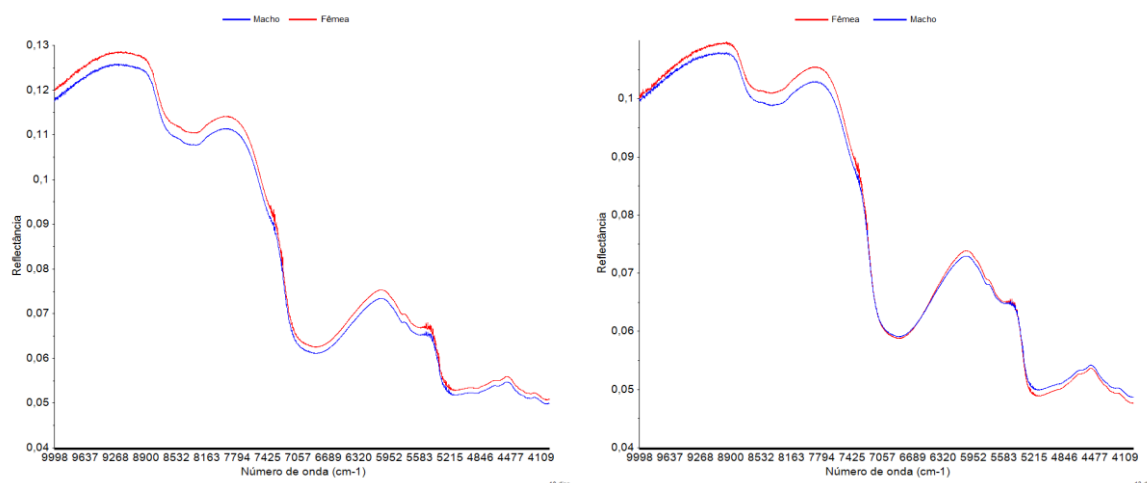


Figura 3- Médias dos espectros das pupas machos e fêmeas com 10 e 13 dias.

Novas análises serão necessárias para determinar a melhor idade para diferenciar pupas fêmeas e machos, os dados obtidos neste estudo sugerem que a diferenciação de sexo das pupas ocorre após este período para dípteros da família Tephritidae.

4. CONCLUSÕES

Não foi possível separar de maneira satisfatória precocemente o sexo das pupas de *A. fraterculus* por meio da técnica de espectroscopia do infravermelho próximo por meio de leituras em pupas entre 10 e 13 dias de idade. Estudos adicionais devem ser realizados, visando identificar o momento em que a diferenciação será expressa de forma significativa.

Também, deverá haver a investigação da região do espectro que contém a maior informação sobre a separação do sexo destes dípteros, assim como maiores investigações sobre as ferramentas estatísticas mais adequadas para a análise destes resultados.

Estudos como este são necessários e representam os esforços iniciais para o aprimoramento da técnica de espectroscopia no infravermelho próximo na separação do sexo de pupas de dípteros da família Tephritidae.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

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

DOWELL, F.E.; PARKER, A.G.; BENEDICT, M.Q.; ROBINSON, A.S.; BROCE, A.B.; WIRTZ, R.A. Sex separation of tsetse fly pupae using near-infrared spectroscopy. **Bulletin of Entomological Research**, v.95, p.249–25, 2005.

FISHER, K.; CACERES, 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: University Sains Malaysia Press, 2000. p.543-550.

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

MILLER, C.E. Chemical principles. In WILLIAMS, P.C.; NORRIS, K. (Eds) **Near-infrared technology in the agricultural and food industries**. St Paul: American Association of Cereal Chemists. 2001 pp. 19–37

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

NORRBOM, A.L. Fruit fly (Diptera: Tephritidae) classification and diversity. The diptera site, 10 nov. 2004. Online. Disponível em: <<http://www.sel.barc.usda.gov/diptera/tephriti/TephClas.htm>> Acesso em 02 jun. 2015.

PARANHOS, B.A.J. Técnica do Inseto Estéril e Controle Biológico: métodos ambientalmente seguros e eficazes no combate às moscas-das-frutas. In: Simpósio de Manga Do Vale Do São Francisco, 1., 2005, Petrolina. **Resumos**. 2005. 12p.

RAGA, A.; SOUZA-FILHO, M.F. Manejo e monitoramento de moscas-das-frutas. In: **Reunião Itinerante De Fitossanidade Do Instituto Biológico**, 7., 2003, Indaiatuba. Resumos. Campinas: Instituto Biológico, 2003. 49p.

RENDÓN, P., MCINNIS, D., LANCE, D.; STEWART, J. Medfly (Diptera: Tephritidae) genetic sexing: large-scale field comparison of males-only and bisexual sterile fly releases in Guatemala. **Journal of Economic Entomology**, v. 97, p.1547–1553, 2004.

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

THOMPSON, F.C. **Fruit fly expert identification system and systematic database of names**. Leiden: Backhuys Publishers, 1998. 524p.