

USO DA RADIAÇÃO GAMA E GASES INERTES NA
ESTERILIZAÇÃO DE *Ceratitis capitata* (WIEDEMANN, 1824)
(DIPTERA-TEPHRITIDAE) COM VISTAS A APLICAÇÃO DA
TÉCNICA DO INSETO ESTÉRIL

MIRONIUDES SCAGLIA-PACHECO DE ALMEIDA

Orientador: Dr. JULIO MARCOS M. WALDER

Dissertação apresentada à Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", da Universidade de São Paulo, para obtenção do título de Mestre em Agronomia. ÁREA DE CONCENTRAÇÃO: *Energia Nuclear na Agricultura.*

PIRACICABA
Estado de São Paulo - Brasil
Novembro - 1983

Em homenagem à

Joanna Scotton Scaglia, minha mãe

e exemplo de vida.

Ao meu *pai e irmãos*

O F E R E Ç O

Ao Renato,

Renatinho e

Matheus Henrique

D E D I C O

-: AGRADECIMENTOS :-

- Dentre as Instituições e pessoas que colaboraram para que este trabalho fosse realizado, quero deixar registrado meu profundo e sincero agradecimento.
- Ao *Dr. Júlio Marcos Melges Walder*, que com sua orientação, amizade e empenho, ensinando-me a trilhar os caminhos da pesquisa, o meu reconhecimento.
- A *Comissão Nacional de Energia Nuclear* e ao *Centro de Energia Nuclear na Agricultura* e *CAPES* pelo apoio financeiro e facilidades concedidas.
- À chefia da Seção de Entomologia do CENA na pessoa do Professor *Dr. Frederico M. Wiendl*.
- À *Srta. Aparecida A. Camargo*, amiga inestimável de todas as horas.
- Aos Técnicos de laboratório, *Vera Lúcia Ávila* e *Luís Anselmo Lopes* pelo manuseio e irradiação dos insetos.
- À *Sra. Diva Athiê*, Senior Administrative Assistant IAEA Project RLA/5/016, pela versão para o inglês.
- Ao *Ariovaldo M. Carvalho*, pelo auxílio prestado na parte de computação.
- Aos colegas *Iberê Carolino*, pelos desenhos e *Ivânia Athiê Pacheco*, pela revisão da primeira parte.
- As estagiárias *Maria Antonia Anselmo* *Maria Cristina Prado Ribeiro* e *Alice M. Matsue*.

- Ao Sr. Cleusval Bissi, pelos serviços de datilografia.
- Aos colegas da Seção de Entomologia, pela amizade e espírito de colaboração.
- A todas as pessoas que direta ou indiretamente, embora não citados, permitiram o desenvolvimento desse trabalho.

-ooo000ooo-

I N D I C E

| | <u>Página</u> |
|------------------------------------|---------------|
| RESUMO | <i>vi</i> |
| SUMMARY | <i>viii</i> |
| 1. INTRODUÇÃO | 1 |
| 2. REVISÃO DE LITERATURA | 5 |
| 3. MATERIAL E MÉTODOS | 19 |
| 4. RESULTADOS | 26 |
| 5. DISCUSSÃO | 37 |
| 6. CONCLUSÕES | 42 |
| 7. BIBLIOGRAFIA | 44 |

USO DA RADIAÇÃO GAMA E GASES INERTES NA ESTERILIZAÇÃO DE
Ceratitidis capitata (WIEDEMANN, 1824) (DIPTERA-TEPHRITIDAE)
COM VISTAS A APLICAÇÃO DA TÉCNICA DO INSETO ESTÉRIL

MIRONI UDES SCAGLIA-PACHECO DE ALMEIDA

ORIENTADOR: Julio Marcos M. Walder

RESUMO

A esterilização de *C. capitata* (Wied., 1824) [Dip. Tephritidae] através da radiação gama (γ) foi estudada em condições de laboratório na Seção de Entomologia do Centro de Energia Nuclear na Agricultura (CENA/USP), Piracicaba, S.P., Brasil. Neste país a mosca-do-Mediterrâneo encontra ótimas condições de vida, completando seu ciclo biológico em menos de 30 dias. A quantidade variável de frutos hospedeiros para desenvolvimento de suas larvas é muito grande, acarretando prejuízos, principalmente à citricultura. A técnica do inseto estéril (TIE) é um tipo de controle físico de pragas, é um método no qual outros insetos não são prejudicados. As pupas de idade variável, foram submetidas a doses de 0, 30, 40, 50, 60, 70, 80 e 90 Gy inicialmente. A esterilidade foi determinada a partir da fertilidade dos ovos provenientes dos cruzamentos de macho irradiado com fêmea normal e macho normal com fêmea irradiada. Posteriormente, pupas de 72 ± 12 hs antes da emergên-

.vii.

cia, foram submetidas às doses de 70 e 90 Gy com fluxo de gás carbônico, nitrogênio e oxigênio. A dose esterilizante para machos foi de 90 Gy. A atividade dos machos irradiados, com e sem gases, e normais, foi avaliada por um atyímetro, sendo que a dose menos prejudicial, ao seu comportamento foi 90 Gy com fluxo de nitrogênio.

USE OF GAMMA IRRADIATION AND INERT GASES IN THE STERILIZATION
OF *Ceratitís capitata* (WIEDEMANN, 1824) (DIPTERA-TEPHRITIDAE)
WITH THE OBJECTIVE OF USING THE STERILE INSECT TECHNIQUE

MIRONIUDES SCAGLIA-PACHECO DE ALMEIDA

ADVISER: Julio Marcos M. Walder

SUMMARY

The sterilization of *Ceratitís capitata* (Wied., 1824) (Dip. Tephritidae) using gamma irradiation (γ) was studied under laboratory conditions at Center for Nuclear Energy in Agriculture (CENA), Piracicaba, São Paulo, Brasil. Living conditions for Med fly are optimum in this country and its biological cycle is completed in less than 30 days. There is a large number of varying host fruits for larvae development, which makes this pest very harmful, especially to citrus crops. The sterile insect technique (SIT) is a type of physical control of pests, which does not cause any harm to other insects. Pupae with different ages were initially submitted to 0, 30, 40, 50, 60, 70, 80 and 90 Gy doses. Sterility was determined from fertility of eggs resulting from crosses of irradiated male x normal female and normal male x irradiated female. Later, pupae with 72 ± 12 hrs before emergence were submitted to 70 and 90 Gy doses with carbon dioxide, nitrogen

and oxygen fluxes. The sterilizing dose for the males was 90 Gy. Activity, of irradiated with and without gas flux and normal male, was evaluated with an activity-meter, and the dose least harmful to their behaviour was found to be 90 Gy with nitrogen flux.

1. INTRODUÇÃO

A agricultura brasileira vem se firmando gradativamente para produção em grande escala, visando o consumo interno e, principalmente, a comercialização externa. Dentro dessa produção, estão as frutas cítricas, que encontram no Brasil todo um elenco de condições favoráveis, tais como, o solo e o clima, permitindo a grande expansão da citricultura brasileira, que dá a sua parcela de contribuição a economia nacional.

A safra de 81/82 deu ao Brasil o primeiro lugar no mundo na fabricação de suco cítrico (CITRUS, 1982).

Segundo fonte CEAGESP e CACEX (ROCHA, 1983, inf. pessoal), a produção de laranja no Brasil no ano 82/83 foi de 232.982.000 de caixas de 40,8 kg, sendo que são o Estado de São

ROCHA, R.C., 1983. Diretor-Presidente do CEAGESP. Exd. C., 109/83.

Paulo produziu 210.000.000 destas. No ano de 1982 a exportação de fruta "*in natura*" foi de 100.000 ton., distribuídos para países baixos US\$ 5.956.000,00, Emirados da Arábia US\$ 1.964.000,00, Arábia Saudita US\$ 832.000,00, Coveite US\$ 662.000,00, Iemem US\$ 512.000,00. E a exportação de suco concentrado foi de 639.000 ton, representando uma renda de US\$ 659.806 milhões. A mesma fonte revela ainda que, mais ou menos 10.000.000 de caixas de 40,8 kg, se perdem anualmente por doenças e pragas.

Dentre as pragas da citricultura, economicamente importantes, está a mosca-do-Mediterrâneo, *Ceratitidis capitata* (Wied., 1824), que é uma espécie introduzida no Brasil que ataca também pêssigo, goiaba, pera, ameixa e tem o café como um dos seus principais hospedeiros, além dos frutos silvestres (MARICONI e IBA, 1955), que funcionam como reservatório de sua população na época de entre-safra. Adaptam-se muito bem às condições tropicais, produzindo, várias gerações por ano. Os frutos são atacados ainda verdes, quando a fêmea introduz o ovipositor na casca depositando os ovos no interior dos mesmos, onde ocorre todo o desenvolvimento embrionário e larval do inseto. Estes frutos injuriados caem prematuramente ou apodrecem, devido a ação conjunta de fungos e bactérias, que penetram pelo orifício da postura. Mesmo que não ocorra o completo desenvolvimento das larvas no interior dos frutos, estes tornam-se depreciados comercialmente devido ao aparecimento de

manchas escuras na casca formada pelo tecido morto.

Quanto a exportação de frutas "*in natura*" o importador adota um rígido controle de qualidade dos frutos, de modo a evitar a introdução ou aumento da praga em seu país, obrigando o produtor a um oneroso e severo controle desde a área de cultivo até o embarque.

Os produtos químicos têm sido amplamente utilizados com relativo sucesso, mas trazendo todas as consequências inerentes a esse tipo de controle, tais como o resíduo em frutos consumidos diretamente, o extermínio de insetos úteis e acidentes por intoxicação, além do alto custo que reduz o lucro dos produtores.

Por estas razões estão sendo desenvolvidas pesquisas em outros meios de controle que não sejam prejudiciais a natureza e ao homem.

Entre elas a técnica do inseto estéril que consta de esterilização do inseto através da radiação ionizante e sua liberação no campo, foi idealizada por KNIPLING (1955) e, aplicada com sucesso para erradicação de populações pragas no sul dos Estados Unidos em 1958 e 1959 (KNIPLING, 1960). Trata-se de um método específico onde as outras espécies não são prejudicadas. É uma técnica incentivada pela Agência Internacional de Energia Atômica (IAEA), Viena, principalmente nos paí

ses onde a grande parte da economia é baseada na fruticultura.

O México foi um dos países a obter sucesso com o emprego da Técnica do Inseto Estéril na erradicação de *C. ca*
pitata em 1981 (La BREQUE, 1982).

No Egito está se iniciando um amplo programa de aplicação dessa técnica visando a supressão da mosca-do-Mediterrâneo. (IAEA, 1983).

O propósito do presente trabalho é, determinar a dose esterilizante de radiação gama para *C. capitata* e fornecer dados que permitam um maior esclarecimento do comportamento das moscas criadas em laboratório e irradiadas. Visando uma perfeita aplicação da TIE e melhor aproveitamento dos meios de obtenção do inseto estéril, nas condições brasileiras.

2. REVISÃO DE LITERATURA

A Técnica do Inseto Estéril (TIE) foi viabilizada em 1954, quando se erradicou a mosca *Cochliomyia hominivorax* (Coq.), da ilha de Curaçao (BAUMHOVER *et alii*, 1955) e, devido a este sucesso obtido, a esterilização de outras pragas foi reorganizada, particularmente para espécies causadoras de grandes prejuízos econômicos. Estão incluídos neste programa as espécies da família Tephritidae *Dacus curcubitae* Coquillett (mosca do melão), *D. dorsalis* (Hendel) (mosca oriental), algumas espécies de *Anastrepha* Schiner, 1868 e *Ceratitis capitata* (Wied., 1824).

A revisão para esse trabalho é sobre *C. capitata*, por ser de interesse na área de fruticultura, principalmente citros, onde a produção do Brasil tem se destacado.

D. curcubitae, *D. dorsalis* e *C. capitata*, foram as primeiras pragas submetidas à irradiação por STEINER e

CHRISTENSON em 1955, nas doses de 2.500 a 10.000 R., constatando que a esterilização era proporcional a dose recebida. Alta dose, como 10.000 R, aumenta a mortalidade e diminui o vigor do macho na competição pela fêmea quando comparados aos normais.

Devido a essa deficiência de competitividade, em 1962, o próprio STEINER *et alii*, submeteram as mesmas espécies a 10.000 - 12.000 R. Nestas doses os espermatozoides são móveis e sexualmente maduros, porém portadores de mutação letal dominante. Isto faz crer que a competitividade do macho está relacionada à movimentação dos espermatozoides. Uma dose menor, como a de 8.500 R, permite a produção normal de espermatozoides após 30 dias. Observaram também a postura de ovos férteis para fêmeas irradiadas com esta mesma dose.

BALOCK *et alii* (1963) constataram em *C. capitata* outros efeitos além da esterilidade, como inibição da transformação da pupa quando as larvas eram submetidas a dose de 100 e 200 KR. Parte destas larvas transformaram-se em pupas mas, não houve emergência de adultos. Os ovos submetidos à baixas doses tiveram suas viabilidades reduzidas. Além disso, os autores citam que a irradiação pode induzir a formação de gens letais recessivos, nas gerações subseqüentes.

FERON (1966) irradiando pupas da mesma espécie, 2 dias antes da emergência, verificou que com 4 krad ou mais,

todas as fêmeas eram estêreis, mas apresentavam reflexo de pos
tura (introdução do ovipositor na tela). A dose de 8 krad es
terilizou machos, cujo vigor sexual não foi reduzido.

CAUSSE *et alii* (1968), verificaram em *C. capitata*, que a dose de 3 krad ou mais inibiu a ovogênese e que a de 8 krad esterilizou machos, irradiados como pupas aos 8 dias de idade. Concluíram que o aumento da sensibilidade da fêmea po
de ser explicado pelo fato dos ovários apresentarem um pequeno desenvolvimento nessa idade, enquanto nos machos a espermatogênese é bem mais avançada, onde todas as fases do seu desenvolvimento estão presentes.

CHAMBERS *et alii* (1970) compararam doses de ra
dição com freqüência de acasalamento de machos irradiados, quando cruzados com fêmeas normais. Nas doses de 2,5 e 5 krad a freqüência foi 90% e em 7,5 e 9 krad, a mesma caiu para 65%, quando comparados à testemunha. Insetos irradiados com doses subesterilizantes de 3 e 7 krad, foram cruzados entre si e a progênie originária desses cruzamentos não evidenciaram que a esterilidade pode ser transmitida para gerações seguintes em mosca-do-Mediterrâneo.

CAVALLORO e DELRIO (1970) demonstraram que *C. capitata* irradiados com 6 krad (2 dias antes da emergência) e 8 krad (24 horas após), não altera sua longevidade e o grau

de esterilidade é constante durante sua vida. Embora 10% dos ovos sejam férteis, isso pode ser compensado pela maior agressividade sexual.

HOOOPER (1970) considera que deva ser dada maior atenção às relações competitividade, comportamento de acasalamento e dose de radiação, pois, tudo indica, que a alteração do vigor sexual envolve inativação dos espermatozoides. Essa aspermia em mosca-do-Mediterrâneo é devido a idade de irradiação da pupa.

HOLBROOK e FUJIMOTO (1970) esterilizaram machos de *C. capitata* com 10 krad e para testar competitividade compararam com machos normais, sendo que estes foram 2 vezes mais agressivos na disputa pela fêmea. O macho irradiado tem o potencial de acasalamento reduzido e o estímulo de cópula retardado. As fêmeas irradiadas tiveram seu comportamento de acasalamento inferior aos normais. Resultados semelhantes foram obtidos por KATIYAR e RAMIREZ (1970), os quais observaram que o vigor sexual não é recuperado por machos irradiados com 10 krad e, as fêmeas que acasalavam a primeira vez com macho irradiado preferiram machos normais na segunda vez.

CAUSSE (1970), estudando acasalamento múltiplo entre *C. capitata*, cruzou fêmeas normais no primeiro acasalamento com machos normais e no segundo acasalamento com machos

irradiados. Também cruzou fêmeas normais no primeiro acasalamento com machos irradiados e no segundo com normais. Concluiu então que, a competitividade entre espermatozoides irradiados e normais são equivalentes e que, os espermatozoides do segundo acasalamento fertilizam apenas 25% dos óvulos.

ANWAR *et alii* (1971) e HOOPER (1971b) em exames ao microscópio óptico do testículo de *C. capitata*, irradiado com 10 krad mostraram que, após o 4º dia manifestaram-se os efeitos citológicos da radiação. A dose 10 krad inibe completamente a mitose, interferindo assim na diferenciação de células da espermatogônia. Desde que, todos os estágios de desenvolvimento da espermatogênese sejam bloqueados e destruídos, não ocorre repopulação da espermatogônia. Exceto para os espermatozoides já diferenciados, a dose 10 krad produz 99% de gametas com mutação letal dominante, independentemente da fase mitótica que foi irradiado, por essa razão mesmo que um óvulo seja fecundado, o desenvolvimento do embrião paraliza nas primeiras clivagens devido aos danos cromossômicos do espermatozóide. Doses inferiores, 4 e 5 krad, também causam danos. Cortes histológicos de testículo evidenciam que a região apical é desorganizada pela perda da membrana do envelope nuclear.

CAVALLORO e DELRIO (1971) consideram idade da pupa a ser irradiada muito importante. Doses baixas podem pro

vocar diferentes efeitos de acordo com a idade. Irradiação de pupas de 2 dias de idade com 3 Krad, produziu o mesmo grau de esterilização que pupas de 7 dias submetidas a 10 krad.

Para OHINATA *et alii* (1971) uma esterilização perfeita não depende só da idade, mas também do estágio da mosca-do-Mediterrâneo. A partir de observações feitas em espermatecas de fêmeas acasaladas com machos irradiados com dose de 10 krad, 2 dias antes da emergência, verificaram que 95,8% dos espermatozoides eram de machos normais, 89,3% de machos irradiados como adulto e 41,5% de machos irradiados na fase de pupa. Concluindo-se então que, machos irradiados na fase de adulto foram mais competitivos que os irradiados como pupa.

HOOOPER e KATIYAR (1971) avaliaram a competitividade dos machos de *C. capitata* através da porcentagem de ovos férteis. As diferenças não foram significativas entre as doses de 3, 5, 7, 9 e 11 krad nas 3 razões estudadas, 5:1:1, 9:1:1 e 19:1:1 (macho estéril, macho fértil e fêmea fértil).

Posteriormente em 1972 o mesmo HOOOPER verificando a fecundidade da mesma espécie, acasalando alternadamente machos irradiados e machos normais com fêmeas normais notou que a viabilidade dos ovos de fêmeas acasaladas primeiramente pelos normais, decrescia quando estes eram substituídos por irradiados; diminuindo ainda mais, a medida que a dose recebida pe

los machos aumentava. Isso ocorreu porque o número de espermatozoides transferidos ou a competitividade entre eles (ou as duas hipóteses juntas), decaiu com o aumento da dose.

FARIAS *et alii* (1972) pesquisando a relação entre abundância de espermatozoides na espermateca, o tempo de acasalamento e viabilidade de ovos, registraram que, a quantidade de espermatozoides transferidos aumenta com o tempo de acasalamento. Foram necessários pelo menos 4 minutos para transferir algum espermatozoide. Nas fêmeas que tinham pouco espermatozoides na espermateca, a fertilidade também foi reduzida.

KATIYAR e RAMIREZ (1972) admitiram que a dose de 10 krad, em *C. capitata*, induz mais de 99,9% de mutação letal dominante nos espermatozoides de machos irradiados 48 hs antes da emergência e, SHROEDER *et alii* (1973) acrescentaram que nesse mesmo tratamento, machos e fêmeas são menos ativos (40 e 60%, respectivamente) que as selvagens, seu potencial de sobrevivência também decai.

Devido ao problema da baixa competitividade dos insetos irradiados em relação aos normais, várias pesquisas foram feitas com o intuito de minimizar os efeitos indesejáveis da radiação.

MAYAS (1975) submeteu pupas de 1, 2 e 3 dias antes da emergência à dose de 9 krad, na forma fracionada e agu-

da. Os machos irradiados com dose fracionada foram mais competitivos que os da dose aguda.

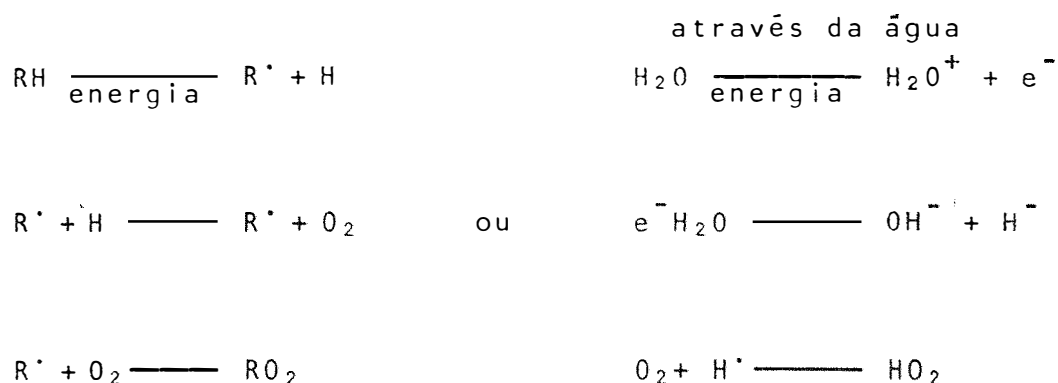
DELRIO e CAVALLORO (1976) defenderam a semisterilidade, onde os machos são efetivamente mais competitivos. Eles mantiveram, em laboratório, três linhagens de *C. capitata*, resultantes de cruzamentos entre insetos irradiados em doses subesterilizantes. A menor dose usada foi 500 rad, com 27,3% dos machos portadores de mutação letal dominante, onde a semisterilidade em F₁ foi de 10,3% em machos e 17,3% em fêmeas. Provaram através de exames citológicos, que a semisterilidade é possível devido as translocações cromossômicas. Os insetos portadores de translocação em condições de heterozigose foram tão competitivos quanto os do campo. Isso pode ser promissor, uma vez que essa técnica poderia ser aplicada paralelamente a Técnica do Macho Estéril (T.M.E.)

WAKID *et alii* (1982) procuraram aumentar a sobrevivência e competitividade da mosca-do-Mediterrâneo, administrando as doses de 7, 9 e 11 krad, sendo que em nenhuma delas a diferença foi significativa.

O emprego de gases tem o objetivo de atenuar as conseqüências da irradiação. GILES em 1954, afirmou que, a radiação não é o único fator que interfere na modificação do material biológico, resultando em danos que são a soma dos efeitos

da radiação gama e do oxigênio.

PIZZARELLO e WITCOFSKI (1962) descreveram que o oxigênio reage das mais diferentes formas, pela sua instabilidade de ligações, mudando a estrutura molecular pela quebra de cadeia ou pela reação com radicais livres produzidos pela radiação ionizante, uma das formas poderia ser:



Os autores verificaram também que a quantidade de oxigênio no tecido ou na célula é determinado pela concentração de O_2 inspirado, logo uma atmosfera com menor proporção de O_2 reduz os danos.

O'BRIEN e WOLFF (1964) asseveram que os efeitos do oxigênio podem ser menor quando se usa outro gás, funcionando nesse caso como um protetor tanto dos danos da radiação como da toxidez pelo oxigênio.

As pesquisas feitas por HEMMEM (1978) mostraram que, nucleotídeos irradiados em presença de oxigênio foram mais sensíveis do que em condições de anoxia. E quando o oxigênio foi substituído pelo nitrogênio durante a irradiação, os nucleotídeos tiveram "*in vitro*" sua recuperação mais rápida do que em O₂, devido a menor quantidade de moléculas danificadas.

HOOOPER (1971a) irradiando *C. capitata* em diferentes estádios, afirmou que não ocorreu diferença na esterilidade dos machos provenientes de pupas ou adultos irradiados. Mas ocorre uma diferença na dose esterilizante quando pupas e adultos são submetidos a radiação com fluxo de nitrogênio. São necessários 2,5 krad a mais para atingir o mesmo nível de esterilidade, e os machos deste tratamento são, pelo menos, 3 vezes mais competitivos que os irradiados no ar.

Pesquisas feitas em *C. capitata* por LANGLEY e MALY (1971), usando gases durante a irradiação de pupas de diferentes idades, demonstraram que existe uma idade em que os insetos são menos sensíveis aos danos da irradiação gama em atmosfera de nitrogênio do que em atmosfera comum. O grau de fertilidade do macho irradiado está relacionado com a idade da pupa. Pupas jovens apresentaram uma fertilidade menor quando comparadas com as mais velhas, mesmo recebendo igual tratamento. A longevidade foi maior em pupas irradiadas com 6 krad no sexto dia e com 30 krad no oitavo dia de idade, sob atmosfera de

nitrogênio a 25°C. Afirmaram que a competitividade não é afetada, desde de que se irradie as pupas em atmosfera de nitrogênio.

Com o propósito de aumentar a longevidade e competitividade da mosca-do-Mediterrâneo, WAKID (1973), submeteu pupas com 24 e 48 hs antes da emergência e adultos com 48 hs de idade à dose de 9 krad com fluxo de nitrogênio. Os valores de longevidade e competitividade foram semelhantes para machos adultos, irradiado em ar antes ou após a emergência, entretanto estes valores foram maiores nos insetos que receberam fluxo de nitrogênio durante a irradiação.

HOOPEL (1976) acredita que o nitrogênio criou uma condição de anoxia durante a irradiação, conseqüentemente os efeitos deletérios provocados pela ionização foram menores, permitindo aos insetos tratados, maior potencial de competitividade e vida mais longa.

Além do nitrogênio outros gases como o hélio e gás carbônico ou vácuo parcial foram testados por OHINATA *et alii* (1977) durante a irradiação de *C. capitata*. Dos machos irradiados em atmosfera normal com 10 krad, 99,5% eram estéreis. No entanto para se obter o mesmo nível de esterilidade usando gases, foi necessário 16 krad. A mortalidade dos insetos irradiados nas diferentes atmosferas gasosas foi semelhan-

te às moscas normais. Os machos tratados em todas atmosferas modificadas foram mais competitivos do que os irradiados no ar. Mas machos provenientes do hêlio e nitrogênio foram ainda mais competitivos. O autor indicou o nitrogênio como o gás mais propício para a criação de anoxia, na qual a mosca-do-Mediterrâneo poderia ser irradiada.

As pesquisas de laboratório, para a TIE, só são comprovadas quando aplicadas no campo, podendo-se, então, avaliar o comportamento do inseto estéril. Assim em 1962, KATIYAR foi um dos primeiros a obter sucesso no controle de *C. capitata*, liberando moscas adultas irradiadas com 10 e 13 krad na fase de pupa, numa área experimental da Costa Rica.

MELLADO (1966) fez ensaios de liberação de pupas irradiadas com 9.000 e 10.000 rad, na ilha de Tenerife, relatando problemas no transporte e na liberação, além da manutenção e produção das moscas no laboratório.

O controle da população selvagem na Procida foi feita por MURTAS *et alii* (1970) liberando pupas irradiadas 24 e 48 hs antes da emergência. O local escolhido foi uma ilha pelas suas características de agricultura, onde a mosca-do-Mediterrâneo encontrou vários tipos de hospedeiros e também pela dificuldade de imigração de insetos das outras áreas. Resultados idênticos foram obtidos por MELLADO (1970) numa pequena

área frutícola da Espanha.

RHODE (1971) iniciou a liberação de pupas irradiadas inicialmente com 9,8 krad, para erradicar *C. capitata* de uma área de citros e café da Nicarágua. Na segunda liberação, diminuiu a dose para 7 krad, porque os machos eram mais ativos e sexualmente mais vigorosos, entretanto a fertilidade desses machos foi muito alta. Então na fase final do experimento as pupas foram submetidas novamente a 9 krad, embora perdendo na competitividade são 99,0% estérteis.

Para ROS (1974) a maior dificuldade foi a liberação, pois na soltura de pupas a mortalidade foi muito alta. Foram obtidos melhores resultados liberando-se os adultos, os quais foram irradiados com 9 krad. O local era uma pequena área experimental de Granada (Espanha), isolada por um cordão sanitário, viabilizando assim a técnica do inseto estéril para *C. capitata*.

CHEIKH *et alii* (1975) desenvolveram um programa de controle de mosca-do-Mediterrâneo, irradiadas com 10 krad em Porto Farina (Tunisia). Diariamente, eram liberados de março a novembro, cerca de 1.000.000 de moscas estérteis. Entretanto, devido a área ser mal isolada não houve controle da população selvagem, embora tenha sido reduzida, principalmente nas frutas de verão onde a infestação era muito alta.

Programas de aplicação da TIE, para controle de *C. capitata* feitos por KAMBUROV e YAWETZ (1975) em Israel e por RHODE (1975) na América Central, resultaram em supressão da população selvagem por algum tempo. Porém após algum tempo as fêmeas "*grávidas*" imigravam, reinfestando a área. Principalmente, na América Central, destacou o segundo autor, este programa deveria ser integrado com outros tipos de controle devido as dificuldades encontradas, pois em toda sua área os prejuízos econômicos causados pela *C. capitata* foram enormes.

SERGHIOU (1975) liberando moscas irradiadas com 8 e 9 krad (fase de pupa), na ilha de Cyprus, verificou um controle da população nativa de *C. capitata*, onde os resultados foram baseados na comparação de frutos infestados na área de liberação e na de controle.

No Brasil, GALLO (1960) foi o primeiro a utilizar a radiação ionizante para esterilizar *C. capitata*. Seguido por WIENDL *et alii* (1979) que analisaram a viabilidade pupal da mesma espécie. Usando várias doses, as pupas foram irradiadas 48 horas antes da emergência, sendo 8 krad a dose que menos afetou a emergência e o LD₅₀ (50% de mortalidade) das pupas foi obtida na dose de 14 krad.

3. MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos para esse trabalho foram desenvolvidos, contando com todos os recursos do Laboratório da Seção de Entomologia do Centro de Energia Nuclear na Agricultura - CENA/USP, Piracicaba, SP., no período de junho de 1982 a outubro de 1983.

Como fonte de raios gama (γ) utilizou-se de um irradiador de ^{60}Co tipo Gammabeam-650 da "Atomic Energy of Canada", Ottawa, com atividade no início dos trabalhos de 3,66 PBq (9.916 Ci)*.

Os exemplares da *Ceratitís capitata* (Wiedemann, 1824) [Diptera-Tephritidae], utilizados, foram obtidos da criação estoque da Seção de Entomologia do CENA.

*1 Ci = $3,7 \times 10^{10}$ Bq.

9.916 Ci = $3,66 \times 10^{15}$ Bq.

= 3,66 PBq.

As pupas com idade variável, foram irradiadas com doses de 0, 30, 40, 50, 60, 70, 80 e 90 Gy. Determinou-se a esterilidade a partir da contagem diária dos ovos férteis provenientes de cruzamentos de macho irradiado versus fêmea normal e macho normal versus fêmea irradiada, na proporção 1:1. Os insetos eram colocados em gaiolas de 15 cm X 15 cm X 25 cm, com 3 repetições para cada tratamento. Cada gaiola recebeu 50 casais, separados manualmente no período de pré-acasalamento, isto é, num intervalo de 24 horas após a emergência. As moscas foram mantidas em sala climatizada a $25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ e $80\% \text{ UR} \pm 10\%$ registrados por um termohigrógrafo, e com um fotoperíodo de 14 horas luz. Na parte superior da gaiola, colocou-se algodão úmido e alimento. O algodão era umidecido de manhã e a tarde com água destilada e o alimento protéico foi a dieta padrão do CENA, constando de açúcar refinado, 235 g; açúcar mascavo, 80 g; vegamine, 50 g; levedura de cerveja, 125 g; caseína, 7,5 g e ácido ascórbico, 2,5 g.

A tela das gaiolas era de tecido tipo "voil" com um dos lados voltados para uma luz fria, da General Electric 20 watts universal - F 20 LD afastada da tela aproximadamente 30 cm. As fêmeas atraídas pela luz faziam a postura através da tela. Os ovos caíam num papel de filtro úmido, evitando-se assim seu ressecamento. Estes ovos eram coletados e contados diariamente. Uma amostra de 100 ovos por repetição era coloca

da em placas de Petri contendo papel de filtro umidecido, para verificar-se a viabilidade após 72 horas, com auxílio de um estereomicroscópio binocular tipo WILD M-7.

A longevidade dos adultos foi determinada através da contagem e sexagem diária dos mortos. Com estes dados calculou-se a esperança de vida e_0^x segundo BARCLEY (1966).

As fêmeas irradiadas foram dissecadas, sob estereomicroscópio binocular, em água destilada, onde se observou o ovário e os ovos retidos.

Selecionada a dose esterilizante na primeira parte do experimento, determinou-se a dose esterilizante dos machos em atmosferas gasosas. Os gases utilizados foram gás carbônico, nitrogênio e oxigênio, produzidos e engarrafados pela White Martins S/A, com sistema de fluxo durante a irradiação. As doses foram primeiramente 70 Gy e posteriormente 90 Gy.

As pupas também de idade variável foram separadas em lotes e colocadas em tubo de vidro com 6 cm de altura por 4 cm de diâmetro; cada tubo recebia o gás correspondente, canalizado através de uma mangueira de 2 mm de diâmetro, embutida na rolha que fecha o tubo. O fundo do tubo era uma tela para permitir o fluxo do gás, durante a irradiação.

Num suporte de madeira de 4 cm de altura e

15,5 cm de diâmetro, foram encaixados os tubos com os lotes de pupas e levados até a fonte de irradiação recebendo os respectivos tratamentos; três desses tubos receberam o gás correspondente e um apenas radiação (Figura 1).

Após a irradiação as pupas foram colocadas em sala climatizada (a mesma utilizada na primeira parte do experimento), até a emergência, quando os machos adultos foram separados e acasalados com fêmeas normais, onde se verificou o melhor tratamento para esterilização dos machos. Os critérios adotados foram os mesmos do experimento anterior.

A atividade dos insetos foi registrada por um ativímetro, marca OPTO-VARIMEX-ENTO, da "*Columbus Instruments*" Ohio (USA), composto de uma caixa quadrada de acrílico (lucite) de 40 cm de lado e 10 cm de altura. Na diagonal da caixa, um espelho divide o seu volume em V_1 e V_2 onde se colocaram insetos tratados e normais, conforme Figura 3. Inicialmente os insetos testemunhas eram colocados no lado V_1 e os irradiados no lado V_2 . Após 72 horas as posições eram invertidas, evitando-se assim possíveis problemas eletrônicos do aparelho.

Esta caixa com os insetos permaneceu em câmara climatizada, marca CONVIRON, com temperatura de $25^{\circ}\text{C} \pm 2$, umidade relativa do ar e $80\% \pm 10\%$ e fotoperíodo de 12 horas luz.

O registro da atividade é feito quando os insetos interrompem os feixes de luz infra-vermelho. (Figura 2 e 4). Durante 30 minutos foram sendo somados esses registros; após este tempo a somatória é impressa por uma máquina registradora, acoplada ao ativímetro.

Para este teste foram utilizados somente machos irradiados e normais. As doses utilizadas foram 50, 70 e 80 Gy. Numa segunda fase as doses selecionadas foram inicialmente de 70 e 90 Gy onde as pupas recebiam fluxo de nitrogênio e gás carbônico durante a irradiação.

Com os valores resultantes da atividade construiu-se gráficos dos machos irradiados com e sem gás e suas respectivas testemunhas.

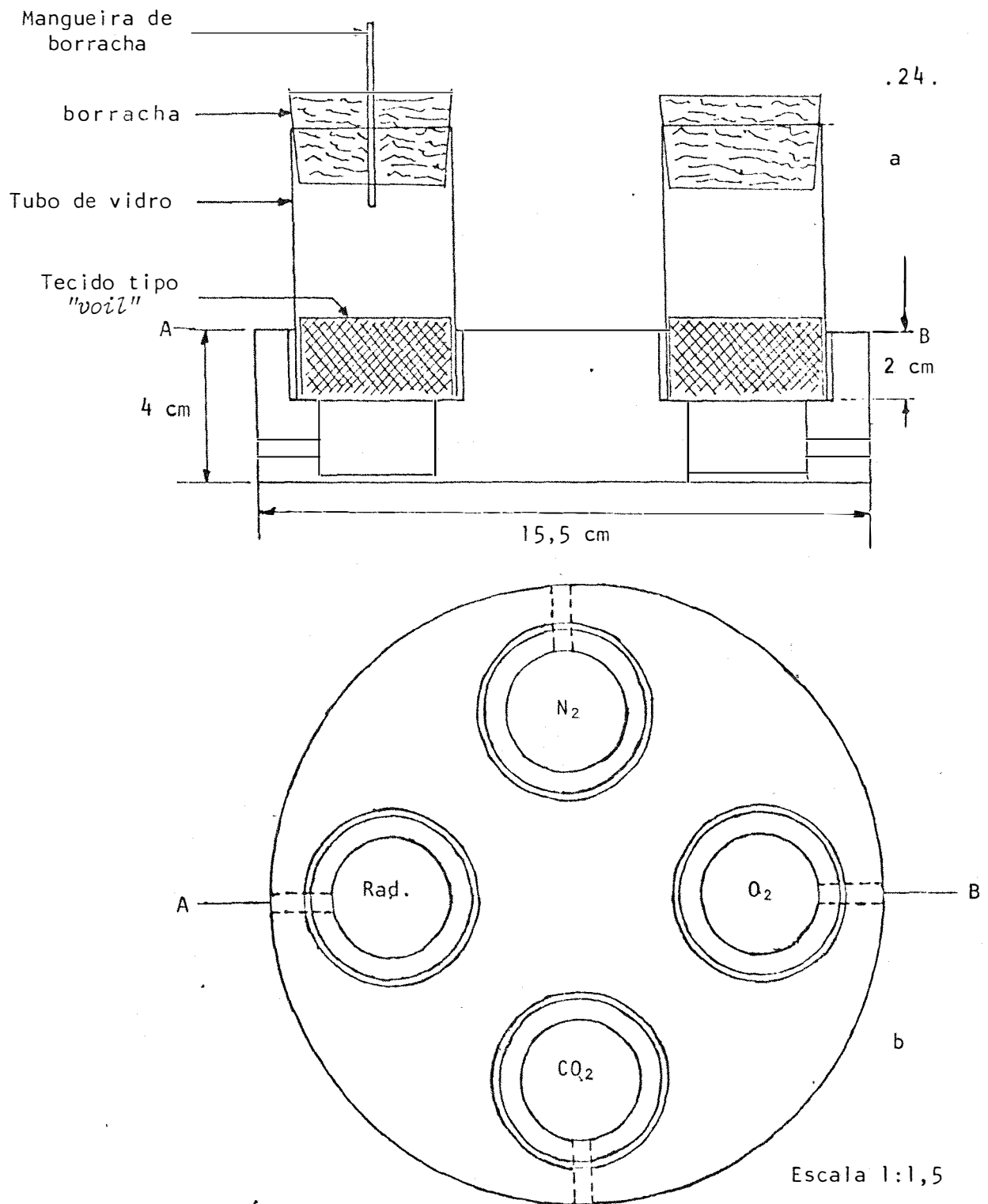


Figura 1 - Esquema do suporte de madeira, onde se encaixavam os tubos que recebiam o fluxo de gases durante a irradiação das pupas. **a)** vista lateral corte A-B. **b)** vista de cima.

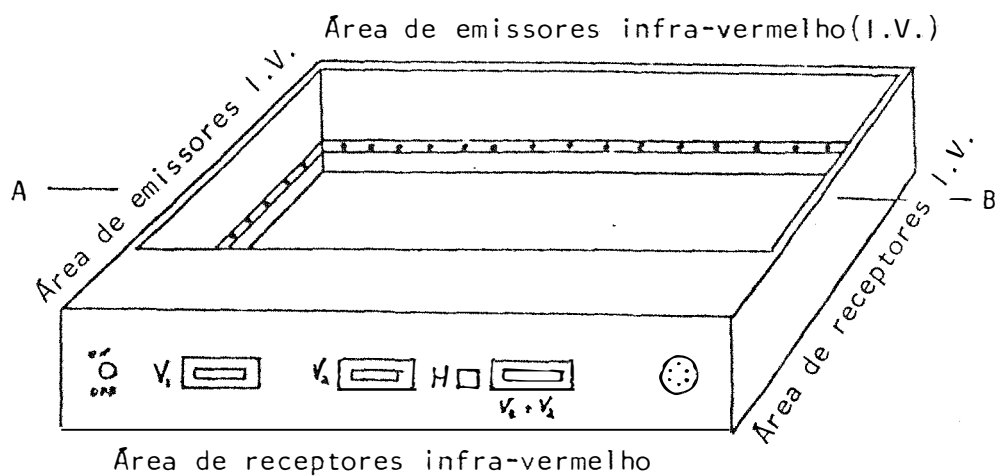


Figura 2 - OPTO-VARIMEX-ENT0; sem caixa de lucite.

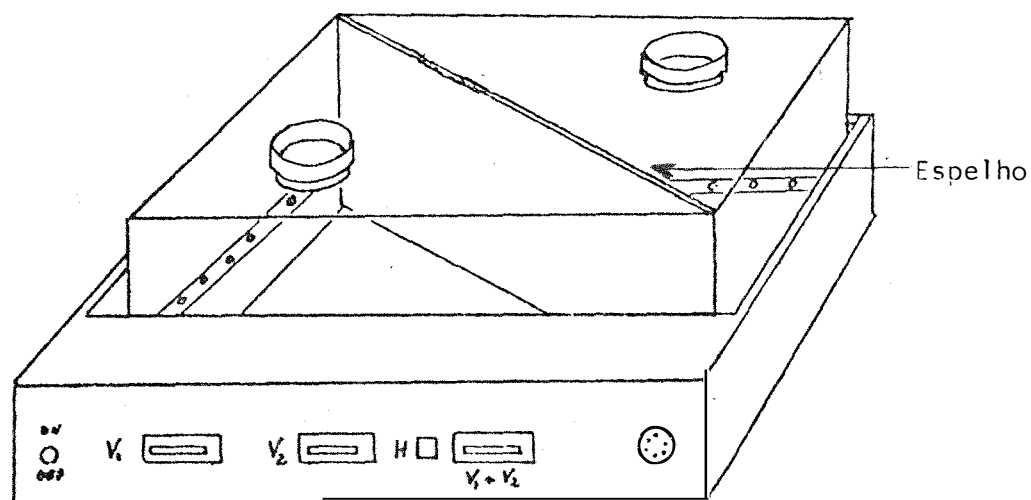


Figura 3 - OPTO-VARIMEX-ENT0; com caixa de lucite.

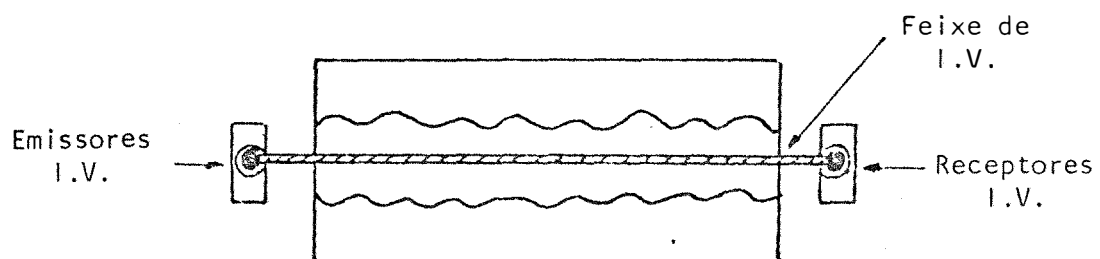


Figura 4 - Caixa de lucite, em corte A-B.

4. RESULTADOS

Os dados da Tabela 1 apresenta a postura, ovos retidos e viabilidade dos ovos resultantes dos cruzamentos entre machos irradiado (MI) e fêmea normal (FN), macho normal (MN) e fêmea irradiada (FI) e testemunha (MN e FN) representados graficamente nas Figuras 5, 6 e 7. Os insetos foram irradiados nas doses 0, 30, 50, 70 Gy, 84 horas antes da emergência.

Na Tabela 2 inclui-se os valores para os mesmos parâmetros e os mesmos cruzamentos, sendo que as doses foram outras e as pupas irradiadas 72 horas antes da emergência.

A longevidade dos machos e fêmeas irradiados e normais foi calculada a partir da esperança de vida e_0^x , em dias. As doses utilizadas foram 30, 50, 70 e 90 Gy; a diferença entre os insetos irradiados e normais estão na Tabela 5, e distribuída em forma de histograma nas Figuras 12 e 13.

A fertilidade e fecundidade de fêmeas normais acasaladas com machos irradiados, no estágio de pupas, com fluxo de nitrogênio, gás carbônico e oxigênio, estão anotadas na Tabela 3, Figuras 8 e 9 para a dose de 70 Gy e a Tabela 4 e Figuras 10 e 11 contêm os valores para a dose de 90 Gy.

A atividade dos insetos irradiados e normais, registrados durante os primeiros dias de vida, foram transformados em porcentagem da atividade de cada inseto por período de claro (L) ou escuro (D) e agrupados na Tabela 6. Os histogramas **a**, **b**, **c** e **d**, da Figura 14 representam a atividade dos machos que receberam radiação nas doses 50, 60, 70, 80 Gy e suas respectivas testemunhas. A Figura 15 mostra através dos histogramas **a**, **b**, **c** e **d** a atividade dos insetos que receberam fluxo dos gases nitrogênio e gás carbônico, durante a irradiação com doses de 70 e 90 Gy.

Tabela 1 - Fecundidade e fertilidade dos adultos cujas pupas foram irradiadas 84 horas antes da emergência.

| Dose \ Parâmetros | MN x FI | | | | MI x FN | | |
|-------------------|---------|-------|-------|-------|---------|--------|--------|
| | 0 | 30 Gy | 50 Gy | 70 Gy | 30 Gy | 50 Gy | 70 Gy |
| Ovos postos | 7.827 | 61 | 84 | 0 | 13.527 | 10.560 | 13.485 |
| Ovos retidos | 207 | 182 | 7 | 2 | - | - | - |
| Fertilidade (%) | 59 | 39,3 | 0 | 0 | 9,28 | 1,83 | 0,21 |

Tabela 2 - Fecundidade e fertilidade de adultos cujas pupas foram irradiadas 48 hs antes da emergência.

| Dose \ Parâmetros | MN x FI | | | | MI x FN | | | | |
|-------------------|---------|-------|-------|-------|---------|--------|--------|--------|--------|
| | 0 | 30 Gy | 40 Gy | 50 Gy | 0 | 60 Gy | 70 Gy | 80 Gy | 90 Gy |
| Ovos postos | 6.432 | 1.497 | 92 | 0 | 15.418 | 12.523 | 16.201 | 12.189 | 13.469 |
| Ovos retidos | 88 | 114 | 0 | 0 | - | - | - | - | - |
| Fertilidade (%) | 67,61 | 31,76 | 0 | 0 | 89,91 | 9,44 | 8,22 | 10,01 | 5,24 |

Tabela 3 - Fecundidade e fertilidade de fêmeas normais cruzadas com machos irradiados com 70 Gy, 72 + 12 horas antes da emergência, em atmosferas gasosas.

| Dose \ Parâmetros | MI x FN | | | | |
|-------------------|---------|-------|-------------------------|------------------------|------------------------|
| | Test. | 70 Gy | 70 Gy + CO ₂ | 70 Gy + N ₂ | 70 Gy + O ₂ |
| Ovos postos | 8.504 | 5.468 | 7.819 | 7.885 | 7.111 |
| Fertilidade (%) | 94,3 | 40,3 | 0 | 2,3 | 5,8 |

Tabela 4 - Fecundidade e fertilidade de fêmeas normais acasaladas com machos irradiados com 90 Gy, 72 ± 12 horas antes da emergência, com fluxo de gases.

| Gases Parâmetros | MI x FN | | | | |
|---------------------|---------|--------|-------------------------|------------------------|------------------------|
| | Test. | 90 Gy | 90 Gy + CO ₂ | 90 Gy + N ₂ | 90 Gy + O ₂ |
| Ovos postos | 10.667 | 10.199 | 12.202 | 10.973 | 97,65 |
| Fertilidade (%) | 90,5 | 0 | 0,69 | 0,12 | 4,27 |

Tabela 5 - Esperança de vida (e_0^x), em dias, para machos e fêmeas normais e irradiados. \bar{x} = média dos machos normais e das fêmeas normais.

| Sexo Dose Gy | MI | FN | MN | FI |
|---------------------|-------|-------|-------|-------|
| | 30 | 23,07 | 53,38 | 23,01 |
| 50 | 12,75 | 29,42 | 20,67 | 19,77 |
| 70 | 14,22 | 27,69 | 22,48 | 16,23 |
| 90 | 11,89 | 31,03 | 22,40 | 8,08 |
| 90 + N ₂ | 13,17 | - | - | 20,12 |
| \bar{x} | - | 30,88 | 22,14 | - |

Tabela 6 - Total de registros da atividade dos machos irradiados e normais, no período que permaneceram no ativímetro, L = fotofase se = 12 horas e D = scotofase = 12 horas.

| | 1º dia | | 2º dia | | 3º dia | | 4º dia | | 5º dia | | 6º dia | | 7º dia | | L + D | a + b |
|-----------------------------|--------|-------|--------|-------|--------|-------|--------|-------|--------|-------|--------|-----|--------|---|--------|--------|
| | L | D | L | D | L | D | L | D | L | D | L | D | L | D | | |
| (a) Testemunha | 350 | 664 | 1.238 | 912 | 4.882 | 1.348 | 5.822 | 499 | 6.676 | 322 | 1.908 | - | - | - | 24.651 | - |
| (b) 50 Gy | 82 | 432 | 2.676 | 769 | 6.634 | 938 | 6.612 | 494 | 5.196 | 472 | 1.508 | - | - | - | 25.813 | 50.464 |
| (a) Testemunha | 36 | 560 | 490 | 424 | 1.575 | 878 | 2.774 | 672 | 4.067 | - | - | - | - | - | 11.476 | - |
| (b) 60 Gy | 56 | 1.136 | 1.521 | 1.221 | 3.341 | 2.742 | 4.248 | 610 | 3.110 | - | - | - | - | - | 17.985 | 29.461 |
| (a) Testemunha | 2.326 | 750 | 762 | 1.395 | 4.195 | 9.993 | 1.968 | 7.691 | 1.304 | 2.579 | - | - | - | - | 32.963 | - |
| (b) 70 Gy | 2.291 | 1.347 | 1.310 | 2.330 | 6.346 | 4.726 | 456 | 3.614 | 340 | 796 | - | - | - | - | 23.556 | 56.519 |
| (a) Testemunha | 140 | 1.690 | 1.040 | 1.780 | 4.176 | 1.620 | 5.668 | 2.491 | 3.252 | 1.057 | 2.060 | - | - | - | 24.974 | - |
| (b) 80 Gy | 1.164 | 1.621 | 1.486 | 1.159 | 4.525 | 383 | 1.217 | 262 | 1.768 | 224 | 1.016 | - | - | - | 14.865 | 39.839 |
| (a) Testemunha | 308 | 608 | 866 | 891 | 5.881 | 763 | 9.032 | 469 | 7.388 | 263 | 5.669 | 163 | 791 | - | 33.092 | - |
| (b) 90 Gy + N ₂ | 322 | 753 | 1.468 | 1.062 | 5.935 | 1.119 | 8.687 | 459 | 8.712 | 416 | 6.332 | 93 | 901 | - | 36.259 | 69.351 |
| (a) 70 Gy + CO ₂ | 110 | 492 | 1.007 | 1.139 | 4.436 | 1.303 | 5.106 | 711 | 4.497 | 905 | 6.181 | 672 | 3.307 | - | 29.866 | - |
| (b) 70 Gy + N ₂ | 69 | 472 | 640 | 641 | 2.800 | 960 | 4.369 | 527 | 4.566 | 395 | 3.727 | 292 | 2.517 | - | 21.995 | 51.861 |
| (a) 90 Gy + CO ₂ | - | 215 | 320 | 394 | 795 | 368 | 1.792 | 576 | 2.656 | 884 | 3.078 | 592 | 1.928 | - | 13.598 | - |
| (b) 90 Gy + N ₂ | 14 | 381 | 213 | 787 | 1.127 | 560 | 2.343 | 472 | 2.346 | 240 | 2.081 | 367 | 2.464 | - | 13.395 | 26.993 |
| (a) 90 Gy + CO ₂ | 946 | 2.677 | 1.688 | 1.160 | 4.480 | 1.300 | 6.541 | 864 | 5.153 | - | - | - | - | - | 24.809 | - |
| (b) 90 Gy + N ₂ | 1.483 | 2.126 | 3.469 | 1.624 | 9.323 | 1.086 | 10.651 | 784 | 3.992 | - | - | - | - | - | 34.538 | 59.347 |
| (a) Testemunha | 50 | 718 | 808 | 804 | 1.702 | 984 | 2.858 | 634 | 2.565 | 447 | 2.148 | 404 | 602 | - | 14.724 | - |
| (b) 90 Gy + CO ₂ | 102 | 596 | 1.457 | 1.467 | 2.090 | 1.921 | 3.482 | 991 | 2.348 | 332 | 2.000 | 452 | 398 | - | 17.636 | 32.360 |

Tabela 7 - Porcentagem da atividade do macho irradiado e normais, no período claro (L) e escuro (D), nos primeiros dias de vida.

| | 1º dia | | 2º dia | | 3º dia | | 4º dia | | 5º dia | | 6º dia | | 7º dia | | Σ | |
|-------------------------|--------|------|--------|------|--------|-------|--------|-------|--------|------|--------|------|--------|---|---|------|
| | L | D | L | D | L | D | L | D | L | D | L | D | L | D | | |
| Testemunha | 0,70 | 1,36 | 2,45 | 1,81 | 9,67 | 2,67 | 11,54 | 0,99 | 13,23 | 0,64 | 3,78 | - | - | - | - | - |
| 50 Gy | 0,16 | 0,86 | 5,30 | 1,52 | 13,15 | 1,86 | 13,10 | 0,98 | 10,30 | 0,94 | 2,99 | - | - | - | - | 100% |
| Testemunha | 0,12 | 1,90 | 1,66 | 1,44 | 5,35 | 2,98 | 9,42 | 2,28 | 13,80 | - | - | - | - | - | - | - |
| 60 Gy | 0,19 | 3,86 | 5,16 | 4,14 | 11,34 | 9,31 | 14,42 | 2,07 | 10,56 | - | - | - | - | - | - | 100% |
| Testemunha | 4,12 | 1,33 | 1,35 | 2,47 | 7,42 | 17,68 | 3,48 | 13,61 | 2,31 | 4,56 | - | - | - | - | - | - |
| 70 Gy | 4,05 | 2,38 | 2,32 | 4,12 | 11,23 | 8,36 | 0,81 | 6,39 | 0,60 | 1,41 | - | - | - | - | - | 100% |
| Testemunha | 0,35 | 4,25 | 2,61 | 4,47 | 10,48 | 4,07 | 14,23 | 6,25 | 8,16 | 2,65 | 5,17 | - | - | - | - | - |
| 80 Gy | 2,92 | 4,07 | 3,73 | 3,01 | 11,36 | 0,96 | 3,05 | 0,66 | 4,44 | 0,56 | 2,55 | - | - | - | - | 100% |
| Testemunha | 0,44 | 0,88 | 1,25 | 1,28 | 8,48 | 1,10 | 13,02 | 0,68 | 10,65 | 0,38 | 8,17 | 0,24 | 1,14 | - | - | - |
| 90 Gy + N ₂ | 0,46 | 1,09 | 2,12 | 1,53 | 8,56 | 1,61 | 12,53 | 0,67 | 12,56 | 0,60 | 9,13 | 0,13 | 1,30 | - | - | 100% |
| 70 Gy + CO ₂ | 0,21 | 0,95 | 1,94 | 2,20 | 8,55 | 2,51 | 9,85 | 1,37 | 8,67 | 1,75 | 11,92 | 1,30 | 6,38 | - | - | - |
| 70 Gy + N ₂ | 0,13 | 0,91 | 1,23 | 1,24 | 5,40 | 1,85 | 8,46 | 1,02 | 8,80 | 0,76 | 7,19 | 0,56 | 4,85 | - | - | 100% |
| 90 Gy + CO ₂ | - | 0,80 | 1,19 | 1,46 | 2,95 | 1,36 | 6,64 | 2,13 | 9,84 | 3,27 | 11,40 | 2,19 | 7,14 | - | - | - |
| 90 Gy + N ₂ | 0,05 | 1,41 | 0,79 | 2,92 | 4,18 | 2,07 | 8,68 | 1,75 | 8,69 | 0,89 | 7,71 | 1,36 | 9,13 | - | - | 100% |
| 90 Gy + CO ₂ | 1,59 | 4,51 | 2,84 | 1,95 | 7,55 | 2,19 | 11,02 | 1,46 | 8,68 | - | - | - | - | - | - | - |
| 90 Gy + N ₂ | 2,50 | 3,58 | 5,85 | 2,74 | 15,71 | 1,83 | 17,95 | 1,32 | 6,73 | - | - | - | - | - | - | 100% |
| Testemunha | 0,15 | 2,22 | 2,50 | 2,48 | 5,26 | 3,04 | 8,83 | 1,95 | 7,93 | 1,38 | 6,64 | 1,25 | 1,86 | - | - | - |
| 90 Gy + CO ₂ | 0,32 | 1,84 | 4,50 | 4,53 | 6,46 | 5,94 | 10,76 | 3,06 | 7,26 | 1,03 | 6,18 | 1,40 | 1,23 | - | - | 100% |

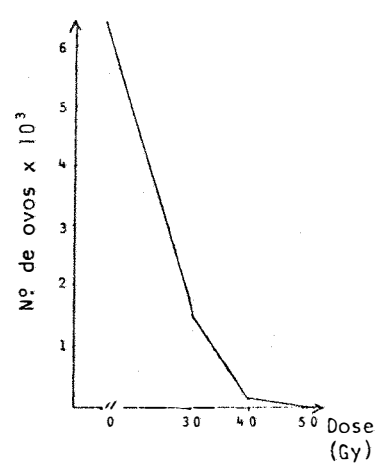


Figura 5 - Fecundidade das fêmeas irradiadas cruzadas com machos normais.

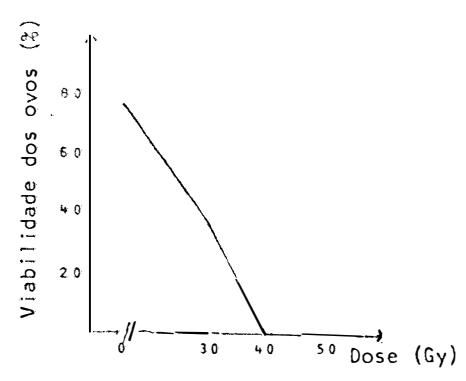


Figura 6 - Fertilidade dos ovos das fêmeas irradiadas cruzadas com machos normais.

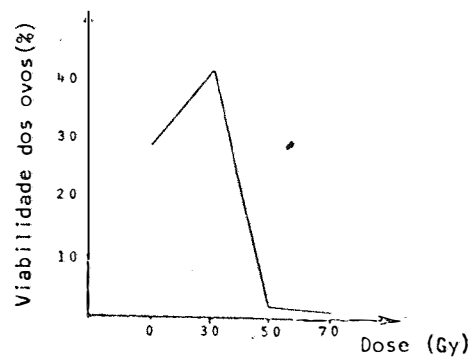


Figura 7 - Fertilidade dos ovos de fêmeas normais cruzadas com machos normais.

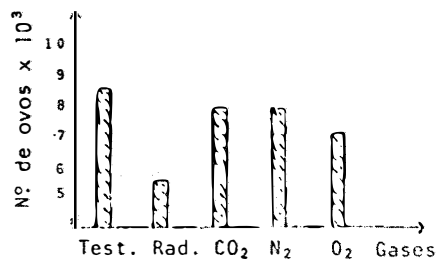


Figura 8 - Fecundidade de fêmeas normais cruzadas com machos irradiados com 70 Gy em atmosfera gasosa.

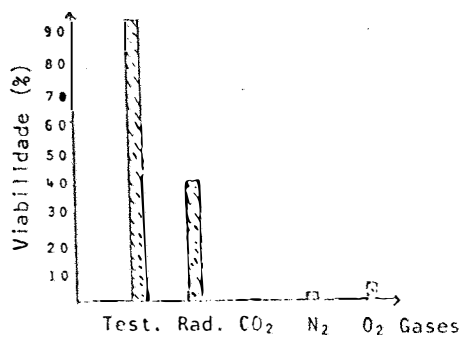


Figura 9 - Fertilidade de fêmeas normais cruzadas com machos irradiados com 70 Gy em atmosfera gasosa.

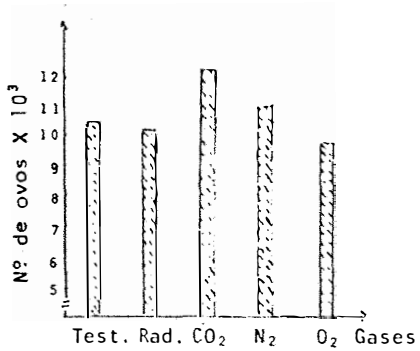


Figura 10 - Fecundidade de fêmeas normais cruzadas com machos irradiados com 90 Gy em atmosfera gasosa.

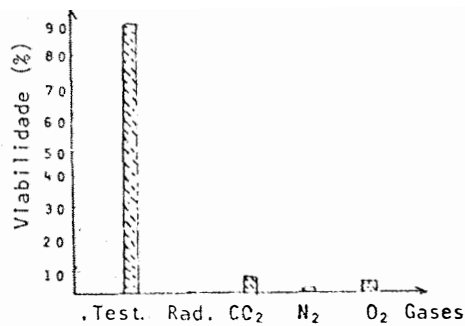


Figura 11 - Fertilidade de fêmeas normais cruzadas com machos irradiados com 90 Gy em atmosfera gasosa.

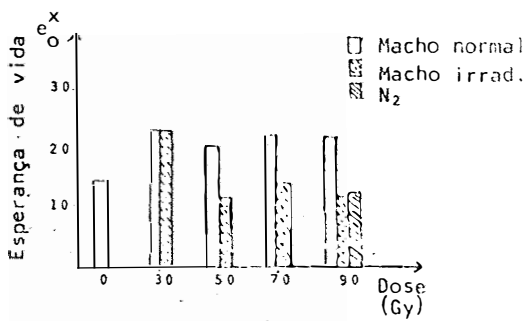


Figura 12 - Tabela de esperança de vida de machos irradiados em diferentes doses e suas testemunhas.

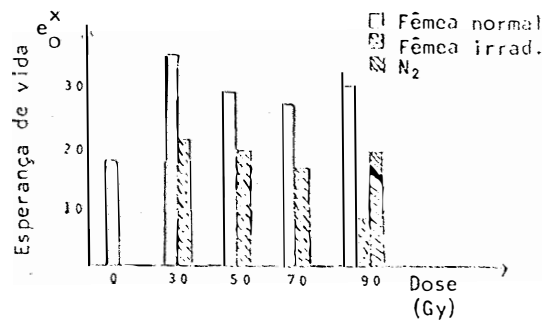


Figura 13 - Tabela de esperança de vida de fêmeas irradiadas em diferentes doses e suas testemunhas.

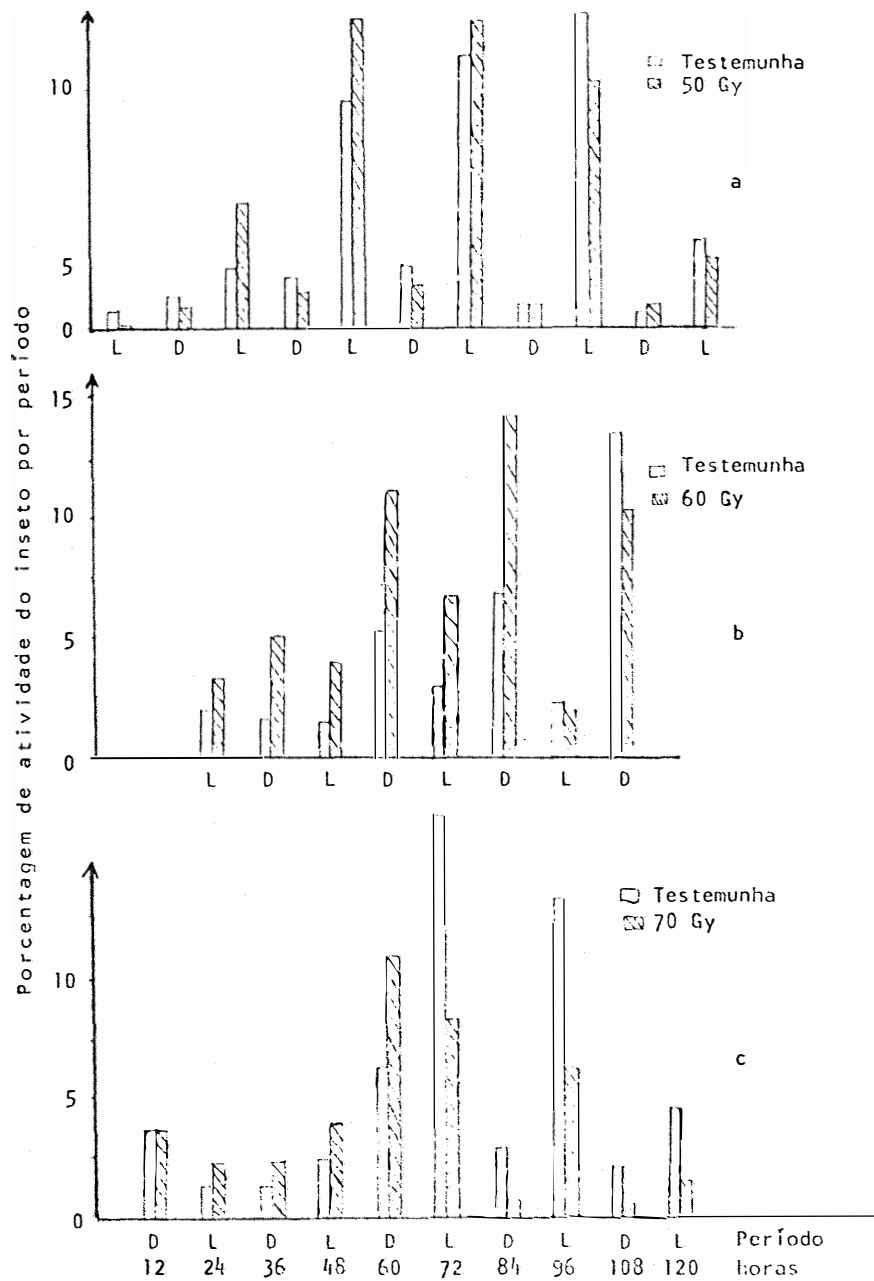


Figura 14 - Atividade dos machos adultos de *Cnephia capitata*, irradiados e normais, nos períodos claro (L) e escuro (D), nas doses de 50, 60 e 70 Gy e suas respectivas testemunhas.

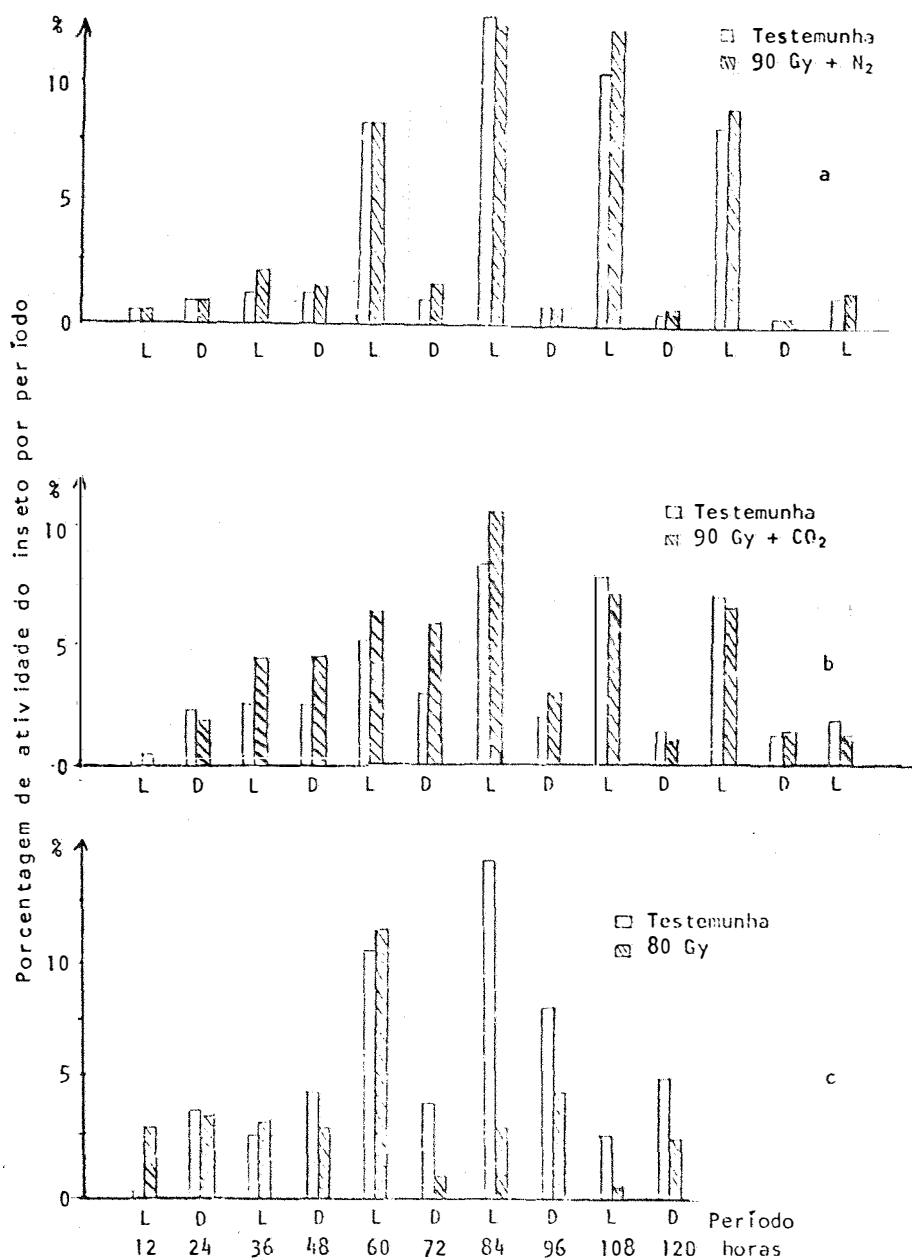


Figura 15 - Atividade dos machos adultos de *Ceratitidis capitata*, irradiados com 80 Gy (c) e 90 Gy em presença de gás carbônico (b) e nitrogênio (a) e suas respectivas testemunhas, nos períodos claro (L) e escuro (D).

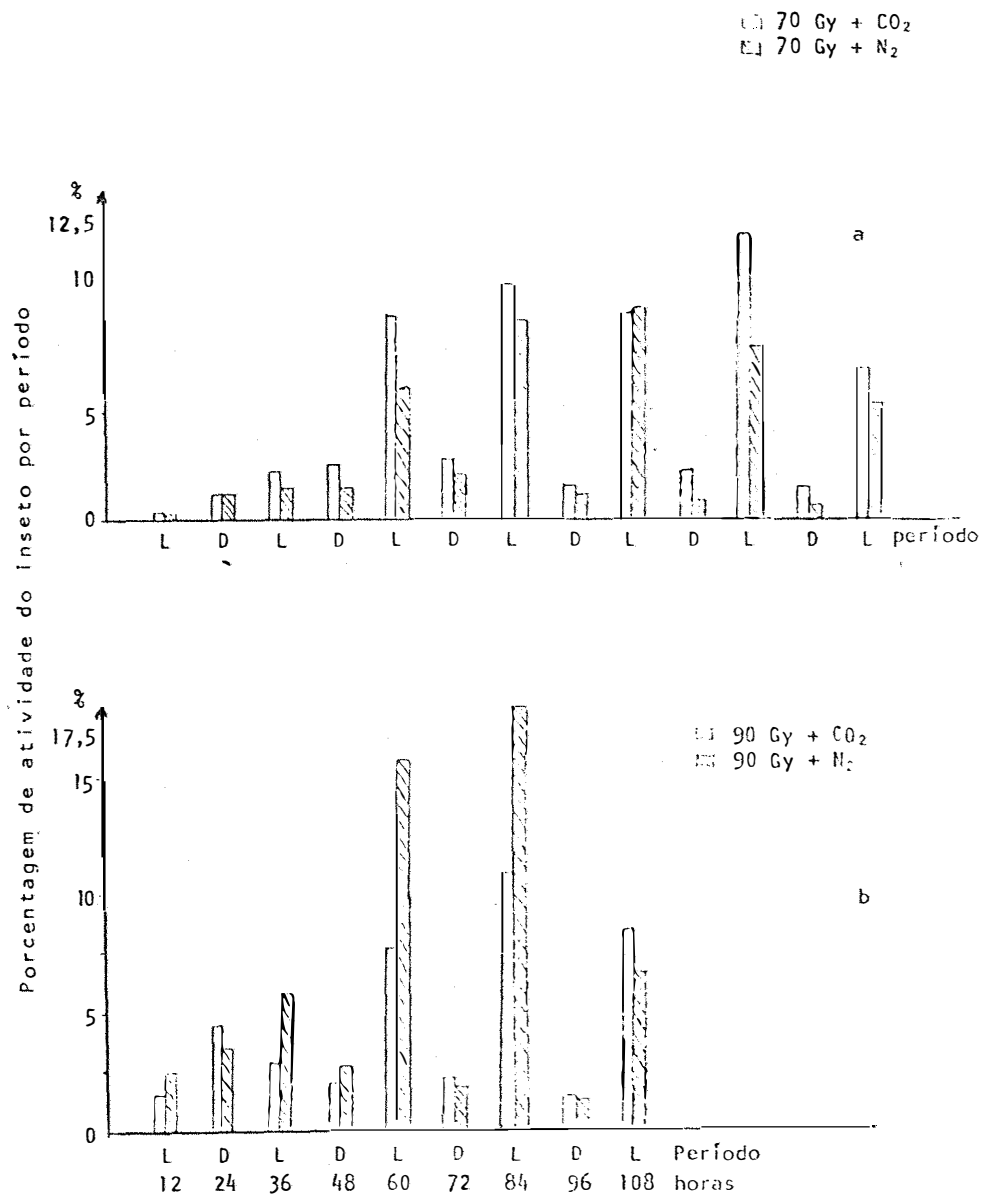


Figura 16 - Comparação da atividade dos machos irradiados com doses de 70 Gy (a) e 90 Gy (b) em presença de gás carbônico e nitrogênio.

5. DISCUSSÃO

Para a aplicação da Técnica do Inseto Estéril, tanto os machos como as fêmeas terão que ser inférteis. Devido a dificuldade de sexagem dos insetos a serem liberados e também porque segundo ROSSLER, 1975, o macho de campo insemina in distintamente fêmea de campo ou de laboratório.

De acordo com os dados da Tabela 2 e Figura 6, as fêmeas de mosca-do-Mediterrâneo tornam-se estéreis com a dose de 40 Gy, cujas pupas foram irradiadas 48 horas antes da emergência.

As fêmeas irradiadas com as doses de 50 e 70 Gy não fizeram postura. Após a dissecação das fêmeas irradiadas com 30 Gy e testemunha observou-se quantidade semelhante de ovos retidos em ambos os ensaios.

Os ovos provenientes das fêmeas irradiadas com

30 Gy apresentam baixa fecundidade e alta fertilidade. Isso se deve provavelmente, aos vários estágios de desenvolvimento do tecido ovariano e, como a irradiação é muito mais efetiva em fase de intensa atividade do núcleo, a ovogênese não sofreu danos em seus estágios mais avançados. E também porque a quantidade de radiação não foi suficiente para inibir o desenvolvimento do tecido através das mutações.

Observa-se na Tabela 4, e na representação gráfica da Figura 11, que a esterilização dos machos com 100% dos gametas portadores de mutação letal dominante, foi alcançada com a dose 90 Gy, proveniente de pupas irradiadas 72 ± 12 hs antes da emergência.

Não se registrou diferença significativa, conforme Tabelas 1 e 2 na fecundidade de fêmeas normais cruzadas com machos irradiados, portanto, a capacidade de postura da fêmea não mudou quando acasalados com estes machos.

A longevidade das moscas irradiadas, normais e irradiadas em fluxo de nitrogênio foi calculada a partir da tabela de esperança de vida, representadas pelas Figuras 12 e 13. A esperança de vida e_0^x foi inversamente proporcional a dose para ambos os sexos, sendo mais acentuada nas fêmeas. As fêmeas irradiadas na dose de 90 Gy em fluxo de nitrogênio tiveram sua longevidade igual as fêmeas normais, mostrando que es-

te gás age como protetor durante a irradiação.

Na segunda parte do experimento, utilizou-se de gases, os quais vem sendo amplamente empregados para diminuir a tensão de oxigênio durante a irradiação, com o propósito de obter bons níveis de competitividade do inseto estéril.

Comparando-se os dados das Tabelas 3 e 4 e Figuras 9 e 11, o oxigênio é o menos indicado. Neste gás a fertilidade dos ovos foi 5% (média), tanto em 70 como em 90 Gy. O número de pupas mortas, asas atrofiadas e adultos que não conseguem deixar o pupário, é muito grande; confirmando-se que o oxigênio aumenta os danos da radiação.

A dose de 70 Gy em atmosfera de CO₂ é 100% esterilizante para pupas irradiadas mais jovens, 72 a 84 hs antes da emergência. Nas pupas irradiadas no mesmo gás, com 90 Gy 72 ± 12 hs antes da emergência, a viabilidade dos ovos foi 0,69%; isso se deve provavelmente às pupas irradiadas mais tarde.

Em atmosfera de nitrogênio a dose de 70 Gy causou 97,7% de mutação letal dominante nos machos irradiados (72 ± 12 hs) antes da emergência. Na dose 90 Gy a esterilidade foi 99,88% em machos tratados 72 ± 12 hs antes da emergência, portanto, para pupas com idade mais heterogênea, o nitro

gênio é o mais eficiente, conforme indica as Tabelas 3 e 4 e Figuras 9 e 11.

Visando um programa de liberação de inseto estéril, com pleno êxito, o fundamental é que o macho não seja fértil e que sua atividade no campo seja equivalente ao selvagem. Por isso paralelamente aos trabalhos de esterilização os machos irradiados com e sem gases, foram colocados no ativímetro por uma semana.

Os dados da atividade desses machos foram comparados entre si e com os normais, fornecendo subsídios para indicar o melhor tratamento.

C. capitata (Wied.) são insetos com atividade efetivamente maior no período claro (diurno). Machos irradiados com 50 e 60 Gy tem atividade inicial maior que os normais até o quarto dia. Os machos irradiados com doses 70 e 80 Gy (Figuras 14c e 15c) tem atividade semelhante aos normais, mas machos desta última mostram uma queda sensível de atividade após 72 hs.

Comparando, através das Figuras 15a e 15b, machos irradiados com 90 Gy em atmosfera de gás carbônico e nitrogênio com os normais. Observou-se que os insetos irradiados com fluxo de gás carbônico foram ligeiramente mais ativos que os normais. E a atividade do inseto proveniente de radiação

mais nitrogênio foi semelhante ao normal.

Dados da Tabela 6 e Figura 16a evidenciam que os machos irradiados com 70 Gy em atmosfera de gás carbônico são mais ativos que os do nitrogênio. Os machos que receberam dose 90 Gy com fluxo de nitrogênio são sensivelmente mais ativos (Figura 16b), do que os que receberam gás carbônico. Isto acontece até o quarto dia de vida quando atingem o máximo da sua atividade.

Assim, em condições de laboratório, o tratamento mais indicado para um programa de controle através da TIE, para a mosca-do-Mediterrâneo no Brasil é: submeter pupas 72 ± 12 horas antes da emergência, à radiação gama na dose 90 Gy usando fluxo de nitrogênio, que pelo seu efeito protetor permite uma movimentação normal dos insetos tratados em condições de laboratório. Estes seriam, no campo, potencialmente, capazes de competir com os selvagens.

6. CONCLUSÕES

Os resultados obtidos, em condições de laboratório, para *C. capitata* (Wied.), foram:

- a) A dose esterilizante de radiação gama para fêmeas foi de 40 Gy e para machos 90 Gy, portanto, o tecido reprodutor da fêmea foi mais sensível às radiações ionizantes do que o do macho.
- b) Na irradiação de pupas em fluxo de gases, a dose de 90 Gy em atmosfera de nitrogênio, foi a que deu melhores resultados; os ovos provenientes das fêmeas normais acasaladas com machos tratados, apresentou uma fertilidade de 0,12%.
- c) Em atmosfera de gás carbônico, a dose 100% esterilizante foi 70 Gy.

- d) O oxigênio foi o menos indicado com 4,27% de eclosão de larvas, e com grande número de pupas inviáveis.
- e) A longevidade foi inversamente proporcional a dose, tanto pelos machos como pelas fêmeas.
- f) Nos tratamentos feitos, a fecundidade das fêmeas normais cruzadas com machos irradiados, com ou sem gases, não se alterou em relação às normais.
- g) As pupas podem ser tratadas num intervalo de 72 ± 12 hs antes da emergência sem que a radiação ionizante acarrete danos morfológicos externos perceptíveis no adulto, desde que se use um gás protetor, durante a irradiação.
- h) A maior atividade do macho adulto estéril foi registrada quando os insetos foram irradiados com a dose de 90 Gy em atmosfera de nitrogênio.

7. BIBLIOGRAFIA

- ANWAR, M., D.L. CHAMBERS, K. OHINATA e R.M. KOBAYASHI, 1971. Radiation-sterilization of the Mediterranean fruit fly (Diptera:Tephritidae): Comparasion of spermatogeneses in flies treated as pupae or adults. *Ann. Entomol. Soc. Am.*, 64(3):627-33.
- BALOCK, J.W., A.K. BURDITT e L.D. CHRISTENSON, 1963. Effects of gamma radiation on various stages of three fruit fly species. *J. Econ. Entomol.*, 56(1):42-46.
- BARCLEY, G.N., 1966. *Techniques of population analysis*. London, Wiley & Sons Inc. 311p.
- BAUMHOVER, A.H., A.J. GRAHAN, B.A. BITTER, D.E. HOPKINS, W.D. NEW, F.H. DUDLEY e R.C. BUSHLAND, 1955. Screw-worm control through release of sterilized flies. *J. Econ. Entomol.*, 48(4):462-66.

- CAUSSE, R., M. FERON e P. PEREAU-LEROY, 1968. Effects compers d'irradiations aux rayons gamma et aux neutrons sur les organes reproducteurs de la mouche Méditerranéene des fruits, *Ceratitits capitata* (Wied.) (Diptera:Tephritidae). In: IAEA. *Isotopes and Radiation in Entomology* (Proc. Symposium, Vienna, 1967), Vienna:355-63.
- CAUSSE, R., 1970. Estude, au moyen d'insects irradiés, des consequences de deux accouplements successifs chez la mouche Méditerranéene des fruits *Ceratitits capitata* (Wied.) [Dip. Tephritidae]. *Ann. Zool. Ecol. anim.*, 2(4):607-615.
- CAVALLORO, R. e G. DELRIO, 1970. Studi sulla radioesterilizzazione di *Ceratitits capitata* (Wiedemann) e sul comportamento dell'inseto normale e sterile. Firenze. *Rēdia LII*:511-47.
- CAVALLORO, R. e G. DELRIO, 1971. Biological effects of gamma radiation on the life stages of two fruit fly. In: *Third National Simposium on Radioecology*, Oak Ridge, Tennessee, May, 10-12, 1971. vol.2:1179-89.
- CHAMBERS, D.L., K. OHINATA e R.T. CUNNINGHAN, 1970. Recent research in Hawaii on the Mediterranean fruit fly. In: IAEA. *Sterile-male Technique for control of fruit flies*. (Proc. of a Panel, Vienna, 1969). Vienna:33-42.

- CITRUS, 1982. Revista *Citrus* (52). São Paulo. Polo ed. Ltda. 22p.
- CHEIKH, M., J.F. HOWELL, E.J. HARRIS, H. BENSALAH e F. SORIA, 1975. Suppression of the Mediterranean fruit fly in Tunisia with release sterile insets. *J. Econ. Entomol.*, 62(2):237-43.
- DELRIO, G. e R. CAVALLORO, 1976. Semiesterility the Mediterranean fruit fly *Ceratitidis capitata* (Wiedemann). *Genet. Agr.*, 30:61-74.
- FARIAS, J.C., R.T. CUNNINGHAN e S. NAKAGAWA, 1972. Reproduction in the Mediterranean fruit fly: Abundance of stored sperm affected by duration of copulation, and affecting egg hatch. *J. Econ. Entomol.*, 65(3):914-15.
- FERON, M., 1966. Stérilisation de la mouche Méditerranéenee des fruits, *Ceratitidis capitata* (Wied.) par irradiation des pups aux rayons gamma. *Ann. Epiphyties*, 17(2):229-239.
- GALLO, D., 1960. Radioisótopos no controle das pragas. *O Solo*, 52(1):30-31.
- GILES, N.H., 1954. Radiation induced chromossome aberrations in *Tradescantia*. In: Hollaender, (ed.). *Radiation Biology*. vol. 1, part 2, Mac Graw-Hill, New York. 755-56.

- HEMMEN, J.J. van; W.J.A. MEULING e J.F. BLEICHRODT, 1978.
Effects of oxygen on inactivation of biologically active DNA by γ rays "in vitro": influence of Metalloporphyrins and Enzimatic DNA repair. *Radiat. Res.*, 75:410-23.
- HOLBROOK, F.R. e M.S. FUJIMOTO, 1970. Mating competitiveness of unirradiated and irradiated Mediterranean fruit fly. *J. Econ. Entomol.*, 63(4):1175-76.
- HOOOPER, G.H.S., 1970. Sterilization of the Mediterranean fruit fly: a review of laboratory data. In: IAEA. *Sterile-male Technique for Control of fruit flies*. (Proc. of a Panel, Vienna). Vienna:3-12.
- HOOOPER, G.H.S., 1971a. Competitiveness of gamma-sterilized males of the Mediterranean fruit fly: effects of irradiating pupal or adult stage and of irradiating pupae in nitrogen. *J. Econ. Entomol.*, 64(2):1364-68.
- HOOOPER, G.H.S., 1971b. Gamma sterilization of the Mediterranean fruit fly. In: IAEA. *Sterily principle for insect control or eradication* (Proc. of a Symposium, Athens). Vienna:87-95.
- HOOOPER, G.S.H. e K.P. KATIYAR, 1971. Competitiveness of gamma sterilized males of the Mediterranean fruit fly. *J. Econ. Entomol.*, 64(5):1068-71.

- HOOPER, G.S.H., 1972. Sterilization of the Mediterranean fruit fly with gamma radiation effects on male competitiveness and change in fertility of females alternately mated with irradiated and untrated males. *J. Econ. Entomol.*, 65(1):1-6.
- HOOPER, G.H.S., 1976. Sterilization of *Dacus comunis* French (Diptera:Tephritidae) by gamma radiation. III- Effect of irradiation in nitrogen on sterility, competitiveness and mating propensity. *J. Aust. Ent. Soc.*, 15:13-18.
- IAEA, 1983. International Atomic Energy Agency. Information circular on Radiation Techniques and their Application to Insect Pests (32):1-6.
- KAMBUROV, S.S. e A. YAWETZ, 1975. Application of the sterile insect technique for control of Mediterranean fruit flies in Israel under field conditions. In: IAEA. *Sterility Principle for Insect Control*. (Proc. of a Symposium, Innsbruck). Vienna:67-76.
- KATIYAR, K.P., 1962. Possibilities of erradication of the Mediterranean fruit fly *Ceratitidis capitata* (Wied.) from Central America by gamma irradiated males. In: 4th *Inter. American Symposium on the Peaceful Application of Nuclear Energy*, México, 9-13 April 1962:211-217.

- KATIYAR, K.P. e E. RAMIREZ, 1970. Mating frequency and fertility of Mediterranean fruit fly females alternately mated with normal and irradiated males. *J. Econ. Entomol.*, 63(4):1247-50.
- KATIYAR, K.P. e E. RAMIREZ, 1972. Sterilization of the Mediterranean fruit fly and its application to fly eradication. In: IAEA. *The Application of Nuclear Energy to Agriculture*. (Proc. of a Panel, Vienna). Vienna:40-77.
- KNIPLING, E.F., 1955. Possibilities of insect control or eradication through the use of sexually sterile males. *J. Econ. Entomol.*, 48(4):459-62.
- KNIPLING, E.F., 1960. The eradication of the screw-worm fly. *Scient. Am.*, 203(4):54-61.
- La BRECQUE, G., 1982. Helping eradicate the medfly from México. *International Atomic Energy Agency Bulletin*. Vienna. 44p.
- LANGLEY, P.A. e H. MALY, 1971. Control of Mediterranean fruit fly [*Ceratitidis capitata* (Wied.)] using sterile males: effects of nitrogen and chilling during gamma irradiation of puparia. *Entomol. Exp. appl.*, 14:134-46.

- MARICONI, F.A.M. e S. IBA, 1955. A mosca-do-Mediterrâneo.
O Biológico, (2):17-32.
- MAYAS, I.A., 1975. Effects du fractionnement de la dose
sterilisante de rayons gamma sur l'émergence, la fertilité
et la compétitivité de la mouche Méditerranéenne des
fruits, *Ceratitis capitata* (Wied.). In: IAEA. *Sterility
principle for insect control* (Proc. of a Symposium,
Innsbruck):226-35.
- MELLADO, L., F. CABALERO, M. ARROYO e A. JIMENEZ, 1966.
Ensayos sobre erradication de *Ceratitis capitata* (Wied.)
por el metodo de los "machos steriles" en la isla de
Tenerife. *Bol. de Patologia Vegetal y Entomologia
Agricola*, 29:89-117. Madrid.
- MELLADO, L., J.D. NADEL, M. ARROYO e A. JIMENEZ, 1970.
Mediterranean fruit fly supression experiment on the
Spanish mariland in 1962. In: IAEA. *Sterile-male
Technique for Control of Fruit Flies*. (Proc. of a Panel,
Vienna). Vienna:91-92.
- MURTAS, I.D., U. GIRIO e G. GUERRIERI, 1970. An experiment
to control the Mediterranean fruit fly on the island of
procida by the sterile-insect technique. In: IAEA.
Sterile-male Technique for Control of Fruit Flies. (Proc.
of a Panel, Vienna). Vienna:59-70.

- O'BRIEN, R.D. e L.S. WOLFF, 1964. *Radiation. Radioactivity and Insects*, ed. Academic Press. New York. 211p.
- OHINATA, K., D.L. CHAMBERS, M. FUJIMOTO, S. KASHIWAI e R.Y. MIYABARA, 1971. Sterilization of the Mediterranean fruit fly by irradiation: comparative mating effectiveness of treated pupae and adults. *J. Econ. Entomol.*, 64(4):781-84.
- OHINATA, K., M. ASHRAF e E.J. HARRIS, 1977. Mediterranean fruit fly: Sterility and competitiveness in the laboratory after treatment with gamma irradiation in air, carbon dioxide, helium nitrogen or partial vacuum. *J. Econ. Entomol.*, 70(2):165-68.
- PIZZARELLO, D.J. e R.L. WITCOFSKI, 1972. "In vitro" intracellular radiation response: modifying factors:31-33. *In: Medical Radiation Biology* Lea & Febiger, Philadelphia, USA. 111p.
- RHODE, R.H., J. SIMON, A. PERDOMO, J. GUTIERREZ, C.F. DOWLING JR. e A.D. LINDQUIST, 1971. Application of the Sterile Insect-Release technique in Mediterranean fruit fly suppression. *J. Econ. Entomol.*, 64(3):708-13.
- RHODE, R.H., 1975. A Medfly eradication proposal for Central America. *In: Controlling fruit flies by the sterile-insect technique.* (Proc. of a Panel, Vienna). IAEA, Vienna:159-166.

ROS, J.P., 1975. Control genetico contra *C. capitata* (Wied.) por el método de insectos esteriles. Trabajos realizados en España (1969-73). In: *Sterility Principle for Insect Control*. (Proc. of a Symposium, Innsbruck). IAEA, Vienna:57-92.

RÖSSLER, Y., 1975. The ability to inseminate: a comparison between laboratory reared and field populations of the Mediterranean fruit fly *Ceratitidis capitata*. *Ent. Exp. appl.*, 18(2):255-60.

SCHROEDER, W.T., D.L. CHAMBERS e R.Y. MUYABARA, 1973. Mediterranean fruit fly propensity to flight of sterilized flies. *J. Econ. Entomol.*, 66(6):1261-62.

SERGHIOU, C., 1975. The sterile-male technique for control of the Mediterranean fruit fly, *Ceratitidis capitata* (Wied.), in the Mediterranean basin. In: *Sterility Principle for Insect Control* (Proc. of a Symposium, Innsbruck). Vienna:11-28.

STEINER, L.F. e L.D. CHRISTENSON, 1955. Potencial usefulness of the sterile fly release method in fruit fly eradication programs. In: *Proceeding of the Hawaiian. Academy of Science Thirty-first. Annual Meeting - Hawaii.*

- STEINER, L.F., W.C. MITCHELL e A.H. BAUMHOVER, 1962. Progress of fruit fly control by irradiation sterilization in Hawaii and the Marianas Islands. *International J. of appl. Radiation and Isotopes*, 13:427-34.
- WAKID, A.M., 1973. Effects of nitrogen during gamma irradiation of puparia and adults of the Mediterranean fruit fly on emergence, sterility, longevity and competitiveness. *Environ. Entomol.*, 2:37-40.
- WAKID, A.M. A.H. AMIN, A. SHOUKRY e A. FADEL, 1982. Factors influencing sterility and vitality of the Mediterranean fruit fly. In: *Sterile Insect Technique and Radiation in Insect Control*. (Proc. of a Symposium, Neuherberg). Vienna:379-386.
- WIENDL, F.M., R.B. SGRILLO e J.M.M. WALDER, 1979. Influência da idade pupal na radiosensibilidade a radiações gama de *Ceratitidis capitata*. *Energia Nuclear e Agricultura*, 1(1):15-19.