UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
CENTRO DE ENERGIA NUCLEAR NA AGRICULTURA

THIAGO DE ARAÚJO MASTRANGELO

Esterilização de moscas-das-frutas (Diptera: Tephritidae) com raios-X para Programas de Técnica do Inseto Estéril

Piracicaba
2009

THIAGO DE ARAÚJO MASTRANGELO

Esterilização de moscas-das-frutas (Diptera: Tephritidae) com raios-X para Programas de Técnica do Inseto Estéril

Dissertação apresentada ao Centro de Energia Nuclear na Agricultura da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre em Ciências.

Área de Concentração: Energia Nuclear na Agricultura e Ambiente
Orientador: Prof. Dr. Julio Marcos Melges Walder.

Piracicaba

2009

FICHA CATALOGRÁFICA

AUTORIZO A DIVULGAÇÃO TOTAL OU PARCIAL DESTE TRABALHO, POR QUALQUER MEIO CONVENCIONAL OU ELETRÔNICO, PARA FINS DE ESTUDO E PESQUISA, DESDE QUE CITADA A FONTE.

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Seção Técnica de Biblioteca - CENA/USP

Mastrangelo, Thiago de Araújo
Esterilização de moscas-das-frutas (Diptera: Tephritidae) com raios-X para Programas de Técnica do Inseto Estéril / Thiago de Araújo Mastrangelo; orientador Julio Marcos Melges Walder. - - Piracicaba, 2009.
91 p.: fig.

Dissertação (Mestrado – Programa de Pós-Graduação em Ciências. Área de Concentração: Energia Nuclear na Agricultura e no Ambiente) – Centro de Energia Nuclear na Agricultura da Universidade de São Paulo.

1. Entomologia agrícola 2. Fitossanidade 3. Fruticultura I. Título

CDU 632.939.1:595.773.4

A todos os espíritos cujos corações foram forjados pelo amor ao progresso e à ordem,

Dedico.

"Falhar não é cair, mas se recusar a levantar."

– Provérbio Chinês –

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus e a todos os espíritos de luz que intuem os homens constantemente a trilharem o caminho da bondade, parcimônia e do amor.

Agradeço a toda minha família, meus avós Nazareno e Marise, Italo e Dinah, meus tios Carlinhos, Miguel e Melinha, e, principalmente, meus pais, Marco Antônio e Belisa, pelo apoio incondicional, em todos os sentidos, e pelo exemplo de dignidade e dedicação a mim e a meus irmãos. Sem vocês, nem uma única palavra desta conquista teria sido escrita.

Aos amigos Gabriel Moura Mascarin (em especial), Marcelo Romano Teixeira, Leandro Paesman, Lea Alcarde, Queliabe Santana, Rafael Canale, Danilo Kamimura, Guilherme José Farias, Rafael Bigoto, Sávio Soares, Clóvis Corrêa, Savyo Carvalho, Sharon Soliban, Fabrizio Balestrino, Jeremie Gilles, dentre outros, pelo companheirismo e paciência durante a graduação e o mestrado. Sem vocês, os dias seriam sem alegria. Boa sorte a todos e que continuemos a fazer a ciência mundial avançar.

Agradeço a todos os funcionários dos diversos segmentos do Centro de Energia Nuclear na Agricultura que exercem suas funções com dedicação.

Agradeço a International Atomic Energy Agency (IAEA) por dar relevância ao projeto e por conceder as instalações da Entomology Unit, através do Laboratório de Agricultura e Biotecnologia da FAO/IAEA em Seibersdorf, Áustria. Aos técnicos Amirul Islam, Sohel Ahmad, Thilakasiri Dammalage, e Viwat Wornoayporn pela amizade e auxílio em todos os momentos. A Andrew Jessup pelas orientações e exemplo de humildade e polidez, a Rui Cardoso Pereira pela atenção e a Andrew Parker pela objetividade e seriedade.

A todos os professores do CENA e da gloriosa ESALQ, em especial ao professor José Roberto Postali Parra, pelo exemplo de dedicação e pelos ensinamentos da disciplina de Biologia de Insetos, e ao professor Sérgio Batista Alves (*in memoriam*), pela honra de o ter conhecido como o pesquisador e ser humano exemplar que era.

Agradeço ao Prof. Aldo Malavasi pela confiança e pela oportunidade única que foi poder servir a este momento especial e emocionante de nascimento e estruturação do Programa MOSCAMED Brasil.

Agradeço especialmente ao meu orientador, professor Julio Marcos Melges Walder, exemplo de moralidade, ética, simplicidade e, sem cuja paciência para com meus defeitos, este trabalho não teria sido possível.

RESUMO

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

O recente medo de atos terroristas provocou um aumento do número de atrasos e cancelamentos do transporte de radioisótopos. Isto representa uma verdadeira ameaça aos projetos de produção de insetos estéreis ao redor do mundo. Visando validar o uso de um novo tipo de irradiador de raios-X de baixa energia, foram conduzidos uma série de estudos de radiobiologia para moscamed, *Ceratitis capitata* (linhagem *tsl*-VIENNA 8) (Wied., 1824) (Diptera: Tephritidae), e uma linhagem argentina de *Anastrepha fraterculus* (Wied., 1830) (Diptera: Tephritidae), também calculando-se a eficiência biológica relativa (RBE) entre raios-X e a tradicional radiação γ de ^{60}Co. Pupas 48-24 h antes da emergência do adulto de machos de moscamed e de ambos os sexos de *A. fraterculus* foram irradiadas com doses variando de 15 a 120 Gy e 10 a 70 Gy respectivamente. As doses que induzem 50, 90 e 99% de esterilidade foram estimadas e a hipótese de paralelismo para as equações de Probit foram testadas. Doses de 82,7 Gy de raios-X e 128,2 Gy de raios γ (portanto, uma RBE=1,5) induziram 99% de esterilidade em machos de moscamed. A fertilidade de fêmeas férteis de *A. fraterculus* cruzadas com machos irradiados com 41 Gy de raios-X e 62,7 Gy de raios γ foi reduzida em 99% comparando-se com a testemunha (RBE=1,5). A esterilidade de 99% das fêmeas irradiadas de *A. fraterculus* foi alcançada com 60-80 Gy (RBE~0,7). A fecundidade e os parâmetros de controle de qualidade de emergência de adultos, voadoras e sobrevivência não foram significativamente afetados pelos dois tipos de radiação (RBE~1) tanto para moscamed quanto para *A. fraterculus* (p>0,01), estando as

médias em conformidade com os valores especificados pela FAO/IAEA/USDA. Apenas a fecundidade de fêmeas irradiadas de *A. fraterculus* foi severamente reduzida com o aumento das doses e nenhum ovo foi colocado com 70 Gy de ambas as radiações. Não houve diferença significativa entre raios-X e γ com relação aos índices de acasalamento (RSI para moscamed, RII, ISI, MRPI e FRPI para *A. fraterculus*) ($p>0,05$), o que indicou casualidade na formação dos casais entre insetos férteis e estéreis. Os resultados demonstraram que não há diferença significativa na eficiência biológica entre os dois tipos de radiação dentro da faixa usual de doses aplicada na produção de insetos estéreis. Uma nova geração de irradiadores de raios-X pode atender agora os programas de controle de pragas dos países-membros da ONU.

Palavras-chave: *Ceratitis capitata*, *Anastrepha fraterculus*, raios-X, radiação gama, irradiação.

ABSTRACT

MASTRANGELO, T. de A. **Sterilization of fruit flies (Diptera: Tephritidae) with X-rays for Sterile Insect Technique Programs**. 2009. 91 p. Dissertation (Master degree) – Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2009.

Recent fear of acts of terrorism provoked an increase of delays and denials in the shipment of radioisotopes. This truly represented a menace to sterile insect production projects around the world. In order to validate the use of a new kind of low-energy X-ray irradiator, a series of radiobiological studies on *Ceratitis capitata* (*tsl*-VIENNA 8 strain) (Wied., 1824) (Diptera: Tephritidae) and an Argentinean strain of *Anastrepha fraterculus* (Wied., 1830) (Diptera: Tephritidae) were carried out, also comparing biological effectiveness between X-rays and traditional γ radiation from ^{60}Co. Pupae 48-24 h before adult emergence of *C. capitata* males and both sexes of *A. fraterculus* were irradiated with doses ranging from 15 to 120 Gy and 10 to 70 Gy respectively. Doses that induce 50, 90 and 99% of sterility were estimated and the hypothesis of Parallelism for the Probit equations was tested. Doses of 82.7 Gy of X-rays and 128.2 Gy of γ rays (thus, a RBE =1.5) induced 99% sterility on medfly males. The fertility of *A. fraterculus* fertile females crossed with 41 Gy of X-rays and 62.7 Gy of γ rays decreased in 99% comparing with the control group (RBE=1.5). 99% sterility of *A. fraterculus* irradiated females was achieved with 60-80 Gy (RBE~0.7). The standard quality control parameters of fecundity, adult emergence, fliers and survival were not significantly affected by the two types of radiation (RBE~1) either for medfly or *A. fraterculus* ($p>0.01$), being averages in conformity with the values required by FAO/IAEA/USDA. Only fecundity of irradiated *A. fraterculus* females was severely reduced with increasing doses and no egg was laid at 70 Gy of both radiations. There

were no significant differences between X-rays and γ rays regarding mating indices (RSI for medfly, RII, ISI, MRPI and FRPI for *A. fraterculus*) ($p>0.05$), what indicated more random matings for fertile and sterile insects. The results demonstrated that no significant difference in biological effectiveness exist for both kinds of radiations in the usual range of doses applied to produce sterile flies. A new generation of X-rays irradiators can attend now pest control programs of UN member states.

Key Words: *Ceratitis capitata*, *Anastrepha fraterculus*, X-rays, gamma radiation, irradiation.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO 13

2 OBJETIVO 15

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA 17

3.1 BIOLOGIA DE *Ceratitis capitata* E *Anastrepha fraterculus* 17

3.2 DANOS CAUSADOS POR MOSCAS-DAS-FRUTAS 21

3.3 TÉCNICA DO INSETO ESTÉRIL (TIE) E CASOS DE SUCESSO ... 22

3.4 IRRADIAÇÃO DE INSETOS COM RAIOS-X 29

4 MATERIAL E MÉTODOS 37

4.1 FONTES DE RADIAÇÃO 37

4.2 EFEITO DAS RADIAÇÕES SOBRE FERTILIDADE E FECUNDIDADE 38

4.3 EMERGÊNCIA DE ADULTOS E VOADORES 41

4.4 LONGEVIDADE SOB ESTRESSE 42

4.5 TESTES EM GAIOLA DE CAMPO 42

4.6 EFICIÊNCIA BIOLÓGICA RELATIVA 44

4.7 ANÁLISES ESTATÍSTICAS 44

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO 47

5.1 ESTERILIDADE INDUZIDA PELAS RADIAÇÕES 47

5.2 FECUNDIDADE E PARÂMETROS DE CONTROLE DE QUALIDADE 52

5.2.1 EMERGÊNCIA E VOADORES 54

5.2.2 LONGEVIDADE SOB ESTRESSE 55

5.2.3 RBE PARA OS PARÂMETROS DE CONTROLE DE QUALIDADE 55

5.3 ÍNDICES SEXUAIS 56

5.4 DISCUSSÃO SOBRE A EFICIÊNCIA BIOLÓGICA RELATIVA (RBE) 60

6 CONCLUSÃO 65

REFERÊNCIAS 67

ANEXOS 85

1 INTRODUÇÃO

As moscas-das-frutas (Diptera: Tephritidae) estão entre as principais pragas da fruticultura mundial, considerando-se os danos diretos causados e a capacidade de adaptação em diferentes regiões quando introduzidas (praga quarentenária). Deve-se ressaltar ainda que o fruticultor brasileiro gasta grandes quantidades de inseticidas sem o conhecimento adequado das espécies infestantes, do seu grau de infestação, da distribuição espacial das plantas hospedeiras e do controle biológico (GALLO et al., 2002).

No Brasil, as principais espécies de importância econômica pertencem aos gêneros *Anastrepha*, *Bactrocera*, *Rhagoletis* e *Ceratitis*. A mosca-do-mediterrâneo, *Ceratitis capitata* (Wied., 1824) (Diptera: Tephritidae), e a mosca-da-fruta Sul-Americana, *Anastrepha fraterculus* (Wied., 1830) (Diptera: Tephritidae), vêm sendo alvo de pesquisas e programas de supressão populacional nas Américas.

Os programas de Manejo Integrado de Pragas têm incentivado o uso de vários métodos de controle. Um deles é a Técnica do Inseto Estéril (TIE), através da qual insetos estéreis competem no processo de acasalamento com os selvagens, gerando uma redução populacional gradativa a cada geração (WALDER, 1999). Programas de TIE, em várias partes do mundo, vêm apresentando sucesso (KOYAMA, 1994; DYCK et al., 2005; IAEA, 2008).

O método de esterilização mais utilizado é o por radiação ionizante, sendo a radiação gama proveniente de fontes de radioisótopos (^{60}Co ou ^{137}Cs) a mais empregada mundialmente. Entretanto, elétrons de alta energia (5- 10 MeV, gerados em aceleradores de elétrons) e raios-X também podem ser empregados. Esses três tipos de radiação têm efeitos similares sobre a matéria e, em particular, sobre os insetos, já que possuem valores

de Eficiência Biológica Relativa semelhantes (Relative Biological Effectiveness ou RBE) (BAKRI et al., 2005a).

Atualmente, o processo de esterilização tornou-se um ponto problemático para os novos projetos de TIE, já que há muita dúvida quanto à disponibilidade futura de irradiadores de pequeno porte, como o mais empregado Gammacell-220 (Nordion International Inc., Canadá). Isto está sendo causado pela crescente dificuldade no transporte entre países de radioisótopos e o receio de atos terroristas (em especial das "bombas sujas").

A Agência Internacional de Energia Atômica (International Atomic Energy Agency ou IAEA) está enfrentando problemas quanto a substituição de fontes existentes, a aquisição de novos irradiadores e o envio destes para os países-membros da ONU (IAEA, 2007). Entre setembro de 2007 e março de 2008, a IAEA recebeu um total de 69 relatórios sobre atrasos e cancelamentos de envio de materiais radioativos. Quanto às fontes radioativas mais utilizadas na medicina e na indústia, por exemplo, 23 relatórios eram referentes a ^{131}I, 14 a ^{18}F, e 13 a ^{60}Co (IIA, 2008). Por conseguinte, aquelas duas tecnologias alternativas aos raios gama deverão receber maior destaque nos próximos anos.

Sistemas alternativos de raios-X estão sendo criados nos E.U.A., e cerca de uma centena de irradiadores de raios-X de baixa energia entraram no mercado nos últimos anos para o propósito específico de irradiação de sangue. Estas unidades estão operando com sucesso em hospitais e institutos médicos (IAEA, 2007).

Tais irradiadores podem ser configurados para atender às exigências dos projetos de TIE e uma unidade semi-automática foi recentemente desenvolvida para a biofábrica de mosca-varejeira no Panamá, a qual pode chegar a uma taxa de dose de 25 Gy/min. e produz raios-X com uma energia máxima de 160 keV (média de fótons na faixa de 70-75

keV) (IAEA, 2007). Esses irradiadores também terão uma maior aceitação pública, já que não emitem radiação enquanto estão desligadas, e não há rejeito radioativo nem problemas quanto ao transporte.

Antes da adoção de uma tecnologia como esta, são necessários vários estudos para se determinar seus efeitos sobre a esterilização e qualidade dos insetos irradiados. Entretanto, os trabalhos com raios-X em Entomologia são raros e a maioria data da década de 1950, com relação às pesquisas iniciais de TIE para *Cochliomya hominivorax* (Coquerel, 1858) (Diptera: Calliphoridae), a mosca varejeira (BUSHLAND et al., 1951; BUSHLAND et al., 1953; LINDQUIST, 1955; HOOPER, 1971b).

2 OBJETIVO

O objetivo deste trabalho foi validar o uso de irradiadores de raios-X para programas que envolvem a Técnica do Inseto Estéril (TIE), conduzindo estudos de radiobiologia para duas espécies de moscas-das-frutas de importância econômica (*Ceratitis capitata* e *Anastrepha fraterculus*).

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Biologia de *Ceratitis capitata* e *Anastrepha fraterculus*

As moscas-das-frutas completam o seu desenvolvimento passando por 4 estágios: ovo, larva, pupa e adulto. As formas básicas de ovo, larva (tipo vermiforme) e pupas (tipo coarctada) assemelham-se, de modo geral, entre as diferentes espécies, já os adultos possuem uma ampla variação fenotípica.

Dentre as espécies de moscas-das-frutas de importância econômica, *Ceratitis capitata* (Wied., 1824) é uma das mais importantes. Chamada também de mosca-do-mediterrâneo (moscamed ou medfly), por ser originária de países do Mediterrâneo, foi notada no Brasil pela primeira vez no começo do século 20 (IHERING, 1901). Atualmente, acha-se difundida por todo o país, atacando mais de 58 espécies de frutas (ZUCCHI, 2001).

Após o acasalamento, a fêmea permanece de 3-5 dias em processo de maturação de óvulos. Terminado o período de pré-oviposição, quando se alimenta de proteínas e carboidratos para a geração dos ovos férteis, ela procura frutos próximos da maturação (GALLO et al., 2002). Encontrando um fruto, introduz o seu ovipositor (acúleo) através da casca no mesocarpo. Em seguida, movimenta-se para alargar o orifício, a fim de fazer uma câmara onde pode depositar, em média, 10,5 ovos em pêssego, 5,76 em café e 6,14 em maçã como exemplos (SOUZA et al., 1983).

O ovo é alongado (1 mm de comprimento) e o período de incubação depende da temperatura e, a 25ºC, dura cerca de 48 horas (MORGANTE, 1991). Após eclosão, a larva (tipo vermiforme, cabeça não diferenciada e ápoda) penetra no endocarpo, fazendo galerias. O período larval pode durar entre10 (a 28ºC) e 17 dias (a 14ºC) (ZUCCHI, 2001).

Terminado o período larval, as larvas abandonam o fruto e pulam para o solo. Em seguida, aprofundam-se alguns centímetros, de acordo com a consistência do solo, transformando-se em pupa no interior do tegumento do último instar larval. O período pupal varia de 9 (a 28ºC) a 12 dias (a 25º) (ZUCCHI, 2001) e a umidade e tipo de solo influem na emergência do adulto (MILWARD-DE-AZEVEDO; PARRA, 1989; BENTO, 2008).

Após esse período, emergem os adultos, os quais podem viver até 10 meses (em laboratório) e, durante sua vida, a fêmea pode colocar de 300 a 1.000 ovos (FLECHTER, 1989). Essa espécie, como as outras espécies de moscas-das-frutas, apresenta dimorfismo sexual, sendo que o macho possui cerda orbital anterior proclinada e expandida no ápice, enquanto a fêmea tem os últimos segmentos do abdome (sintergosternito 7 e acúleo) adaptados para oviposição. A maioria das moscas-das-frutas conhecidas são multivoltinas e polífagas (ZUCCHI, 2001).

Populações de moscamed adaptam-se facilmente às condições de criação em laboratório. Souza et al. (1988), estudando o processo de adaptação de *C. capitata* às condições de laboratório e comparando tabelas de vida de uma população selvagem recém-coletada, uma de laboratório (6 anos) e uma híbrida das duas, mostraram que a híbrida alcançou o comportamento da de laboratório mais rapidamente que a selvagem. O grau de variabilidade genética medido por eletroforese é baixo para populações de *C. capitata* do Brasil quando comparado com outros tefritídeos e dípteros, mas é próximo do de *Anastrepha* spp. (MORGANTE et al., 1980).

Recentemente, linhagens de sexagem genética (genetic sexing strains ou GSS) baseadas na mutação *tsl* (temperature sensitive lethal) estão sendo usadas por quase todos os programas de criação massal de *Ceratitis capitata* (ROBINSON et al., 1999). A que está sendo criada no CENA/USP (desde 2004) e na Biofábrica MOSCAMED Brasil,

visando à produção de machos estéreis, é a *tsl*-VIENNA 8/D53 (FRANZ, 2005). Nesta linhagem, a sexagem genética ocorre ao se expor os ovos à temperatura de 34ºC por 24 h (FISHER; CACERES, 2000; CACERES, 2002), sendo que as fêmeas são eliminadas ainda no estágio embrionário e sobrevivem somente os machos, os quais são resistentes à alta temperatura. Na ausência de choque térmico, fêmeas desenvolvem-se normalmente e irão emergir de pupas brancas, enquanto os machos sairão das pupas marrons. Para resolver o problema de recombinação genética, é empregada uma metodologia de "filtro" (Filter Rearing System ou FRS) na tecnologia de criação (FISHER; CACERES, 2000; CACERES, 2002), o qual é baseado na rápida detecção e eliminação de indivíduos recombinantes de uma colônia isolada da GSS.

A mosca-da-fruta Sul-Americana, *Anastrepha fraterculus* (Wied., 1830) ocorre do Texas (E.U.A.) à Argentina e ataca mais de 80 espécies frutíferas, incluindo manga, citrus, goiaba, maçã e café (DA SILVA et al., 1996; STECK, 1998). Em várias áreas produtoras de frutas do Uruguai, Argentina e Peru, as únicas espécies de moscas-das-frutas de importância econômica e quarentenária são *C. capitata* e *A. fraterculus* (MANSO; LIFCHITZ, 1992). É no México que se pode encontrar o maior número de espécies do gênero *Anastrepha* sendo criadas em laboratório e de maneira massal. Em Metapa de Dominguez, por exemplo, são produzidos semanalmente 300 milhões de *A. ludens* e 30 milhões de *A. obliqua* (RULL et al., 1996).

Em linhas gerais, o ciclo de vida de *A. fraterculus* selvagem é como o descrito anteriormente para *C. capitata*. Os principais eventos da biologia dessa mosca, a 25ºC, são: período de pré-oviposição de 7 a 14 dias; oviposição até os 46-62 dias (a fecundidade pode chegar a 40 ovos/fêmea/dia, com média de 25,2 ovos/fêmea/dia, e uma fêmea pode chegar a colocar 979 ovos durante a vida); período de incubação variando entre 1 e 3 dias; desenvolvimento larval de 12-14 dias; período pupal de 11 a 21 dias. Em temperaturas

entre 5 e 45ºC, o desenvolvimento ocorre somente na faixa de 15-30ºC (BAKER, 1945; MACHADO et al., 1995; MARTINS, 1986; SALLES 1993; SALLES, 2000).

Nas últimas décadas, foram poucas as tentativas para se estabelecer as necessidades básicas, materiais e procedimentos de criação massal dessa espécie, a qual vem se tornando viável apenas nos últimos anos. Vera et al. (2007) apresentaram parâmetros demográficos (anos de 2002, 2003 e 2004) e de controle de qualidade para uma linhagem bissexual de *A. fraterculus* criada com sucesso na Estación Experiental Agroindustrial Obispo Colombres (Tucumán, Argentina). As condições de criação foram as propostas por Jaldo et al. (2001) com algumas modificações. A produção média de ovos relatada chegou a 1 milhão de ovos/semana e de 2,4 mL de ovos/gaiola (1 mL ovos= 14.900 ovos). A viabilidade de ovos ficava em torno de 84%, viabilidade total de 56% e peso pupal (2 dias antes de emergência dos adultos) de 13 mg (VERA et al., 2007). A Argentina tem intenção de expandir o seu programa nacional de controle de moscas-das-frutas (PROCEM) nos próximos anos, visando reduzir o nível de dano a 0,5% nas áreas produtoras de citros da região Nordeste do país e manter o status de áreas de baixa prevalência e livre das regiões de Cuyo e Patagônia. Para tanto, os estudos para implementação da TIE contra *A. fraterculus* continuam em andamento (GUILLÉN; SÁNCHEZ, 2007).

No CENA/USP, foi estabelecida uma colônia a partir de 2006 (WALDER et al., 2006), utilizando como dieta larval a proposta por Salles (1992). Nas primeiras gerações (F_4 a F_7), a produção média foi de 7.553 ovos/geração; viabilidade de ovos de 28,1%; recuperação de pupas menor que 10% e emergência de adultos em 59,5%. Fazendo algumas modificações na metodologia de criação, foi possível obter ganhos na produção. A produção de ovos/geração saltou de 5,45 mL na F_{10} para 60,8 mL na F_{17} (embora a viabilidade tenha permanecido em 24 a 30%), e, quanto às pupas, de 10,5 mL na F_{10} para

3.000 mL na F_{17}. A emergência de adultos manteve-se alta (80 a 93%) com razão sexual em 0,54 (WALDER et al., 2008).

3.2 Danos causados por moscas-das-frutas

As moscas-das-frutas são pragas que causam grande prejuízo à fruticultura mundial. As larvas podem destruir totalmente a polpa dos frutos, tornando-os imprestáveis ao consumo. No orifício feito pelo ovipositor ocorre o apodrecimento, resultando em queda do fruto. Outro problema é a chamada "sucessão de hospedeiros", ou seja, como atacam uma grande diversidade de frutíferas, elas passam de uma frutífera para outra à medida que estas vão frutificando em diferentes épocas do ano (MALAVASI; ZUCCHI, 2000).

Em algumas regiões, as moscas-das-futas chegam a comprometer 100% da produção de frutos (KORYTKOWSKY; OJEDA, 1969; ORLANDO; SAMPAIO, 1973). Matioli (1986) estimou em 10% as perdas dos frutos em café, os quais caem durante a maturação.

Na citricultura, Baldez (1972) calculou perdas em torno de 20% em Itaboraí (RJ) e Orlando e Sampaio (1973) estimaram reduções na produção entre 30 e 50%. Prates (1980) estimou uma perda de 6 milhões de caixas em SP. Segundo Paiva (2004), o dano por *C. capitata* pode variar de 1,2 a 4,1 t de frutos/ha. Houston (1981) verificou que pomares de pomelo de Belize sem tratamento sofriam infestações de 15% no início da safra (outubro), e aumentava até 60% em dezembro, podendo chegar a 100% em janeiro.

A Agência Internacional de Energia Atômica (IAEA), em estudo pioneiro sobre avaliação de danos econômicos causados pela *C.capitata*, verificou que a extensão das perdas financeiras impostas por esta praga no Maghreb (região ocidental da África do

Norte) era da ordem de US$ 60-90 milhões/ano, somando-se ainda a este valor mais US$ 7-10 milhões/ano os custos com inseticidas (IAEA, 1995).

Tomando como outro exemplo a mosca-da-carambola, Malavasi (2001) afirma que muitos países perderão divisas caso esta espécie se estabeleça definitivamente em seus territórios. Além das perdas diretas no campo, estima-se perdas anuais de produção no Suriname (US$ 849.041,00), Guiana Francesa (US$ 869.553,00), Brasil (US$ 57.681.569,00), Haiti (US$ 14.062.925,00) e Venezuela (US$ 526.662,00).

3.3 Técnica do Inseto Estéril (TIE) e casos de sucesso

Segundo a International Plant Protection Convention (IPPC) (FAO, 2005), a Técnica do Inseto Estéril (TIE) é definida como um "método de controle de pragas usando liberações inundativas de insetos estéreis em área-ampla visando reduzir a fertilidade de uma população selvagem da mesma espécie". Em outras palavras, pode-se dizer que a TIE é composta de 3 etapas: (1) produção massal da espécie-alvo, (2) esterilização dos insetos, (3) liberação no campo. Ao transferirem esperma com mutações letais dominantes para as fêmeas selvagens, o que inviabiliza a geração seguinte, os machos estéreis provocam uma gradativa diminuição da população selvagem.

A esterilização dos insetos nos programas que empregam a TIE tradicionalmente não é feita por meio de quimioesterilizantes, uma vez que estes podem causar problemas toxico e oncológicos aos organismos e aparecimento de resistência por parte dos insetos tratados, além do fato de que a liberação de milhões de insetos quimioesterelizados representaria uma verdadeira agressão ao ambiente (LaBRECQUE; SMITH, 1968).

O método de esterilização que vem sendo mais empregado mundialmente é o por radiação ionizante. Esta pode ser proveniente de radioisótopos como ^{60}Co ou ^{137}Cs (raios

γ com energias fotônicas de 1,17 e 1,33 MeV* no cobalto, e 0,66 MeV no césio), elétrons gerados por aceleradores que operem com energia menor que 10 MeV, e raios-X gerados por feixe de elétrons de energia abaixo de 5 MeV (WALDER, 1999). Radiações geradas nessas faixas de energia (abaixo de 5 MeV para fótons e 10 MeV para elétrons) evitam a indução de radioatividade nos materiais irradiados (BAKRI et al., 2005a). Nêutrons são mais efetivos que raios-X e gama para a esterilização de insetos (HOOPER, 1971b). Entretanto, pelo fato de nêutrons poderem facilmente induzir radioatividade e pela imobilidade e mais difícil disponibilidade de reatores nucleares (fonte usual de nêutrons), o seu uso não seria prático na maioria dos projetos envolvendo a TIE.

Basicamente, quando um material biológico é irradiado, são formados radicais livres e provocadas quebras nos cromossomos. Quando estas quebras ocorrem nas células germinativas, isso leva à indução de mutações letais dominantes nos óvulos e espermatozóides (LaCHANCE, 1967; CURTIS, 1971).

Podem-se citar as seguintes vantagens ao se usar radiação para esterilizar insetos: o aumento de temperatura durante o processo é insignificante, os insetos estéreis podem ser liberados imediatamente após terem sido tratados, a irradiação não deixa resíduos nocivos, e a irradiação pode ser feita com os insetos já embalados (BAKRI et al., 2005b).

Nos programas de TIE, moscas da família Tephritidae vêm sendo tradicionalmente irradiadas 1 ou 2 dias antes da emergência do adulto (pupas a 25ºC), pois a irradiação em estádios pupais mais novos tende a gerar moscas de menor qualidade (em relação à propensidade de acasalamento, vôo e produção de feromônio sexual) (FLETCHER; GIANNAKAKIS, 1973). A cor do pigmento dos olhos da pupa de *Ceratitis capitata* pode ser utilizada como um indicador rápido e confiável do momento apropriado para a irradiação (RUHM; CALKINS, 1981; SEO et al., 1987).

Para minimizar efeitos colaterais na biologia ou comportamento do inseto, principalmente sobre a longevidade, comportamento sexual e dispersão, podem ser adotadas técnicas físico-químicas (anoxia, baixa temperatura) durante a irradiação, as quais não prejudicam a eficiência da esterilização (LABRECQUE; KELLER, 1965).

Pelo menos 20 programas de manejo integrado em área-ampla (Area-Wide Integrated Pest Management, ou AW-IPM) no mundo integram a TIE no controle de moscas-das-frutas (ENKERLIN, 2005). Eles podem ser agrupados, segundo a opção estratégica utilizada, em quatro grupos: (1) erradicação (consiste na eliminação de uma praga de uma determinada área), (2) supressão (redução da população da praga), (3) contenção (aplicação de medidas fitossanitárias e regulamentos em uma área infestada para evitar a dispersão da praga) e (4) prevenção (aplicação de medidas fitossanitárias e regulamentos visando prevenir a introdução ou re-invasão da peste em uma área livre) (FAO, 2002). Podem-se selecionar alguns programas que ilustram bem os benefícios que têm sido obtidos.

Como exemplo de programa de erradicação, em 1979, foi iniciado um projeto contra *Bactrocera curcubitae* (Coquillett, 1899) (mosca do melão) que gradualmente cobriu a maior parte dos arquipélagos do sul do Japão, até obter sucesso em 1993. Devido à proximidade mais ao sul com Taiwan, onde a mosca ainda está presente, liberações preventivas ainda são realizadas. Entre 1990 e 2000, a produção de melãozinho aumentou de 2.720 para 6.220 t. No mesmo período, a produção de mangas saltou de 278 para 1.290 t. As duas juntas representaram US$ 335 milhões em 10 anos (ganhos estes subestimados desde que não foi incluída a economia com fumigação e custos quarentenários). Naquele mesmo período, o custo do programa foi estimado em US$ 31 milhões, mas os ganhos brutos na economia foram em torno de US$ 167 milhões (a partir da venda de commodities para o Japão central e outros países). O custo total do programa de 1982 a

1991 foi de US$ 172 milhões. A razão benefício/custo mostrou que, para cada dólar investido, houve um retorno de 5,4 dólares (ENKERLIN, 2005).

No México, o dano direto causado pelas quatro principais moscas de importância econômica, *Anastrepha ludens* (Loew), *Anastrepha obliqua* (Macquart), *Anastrepha striata* (Schiner) e *Anastrepha serpentina* (Wiedemann), foi estimado em mais de US$ 230 milhões (REYES et al., 1991). Através da Campanha Nacional Contra as Moscas-das-Frutas aprovado em 1992, as moscas já foram erradicadas de mais de 35.000 ha de citrus, manga, maça e pêra da região Noroeste, estando livres os Estados de Chihuahua, Sonora, Baja, California Norte e Baja California Sur (SAGARPA, 2001). Na região Nordeste, as populações têm sido suprimidas a níveis de baixa-prevalência em mais de 30.000 ha de citrus. Nos primeiros 4 anos depois de 1997, quando a erradicação no Noroeste foi oficialmente declarada, os benefícios diretos somaram US$ 25 milhões. Além disso, no mesmo período, os ganhos com o preço diferenciado pelos mercados importadores e a economia com tratamentos quarentenários totalizaram quase US$ 35 milhões (SAGAR/IICA, 2001). No caso específico do Estado de Sonora, onde há 10.000 ha de citrus declarados livres de moscas-das-frutas, em 6 anos, o total exportado foi de mais de 130.000 t (um valor estimado em US$ 10,3 milhões) (DGSV, 2002). Recentemente, a manutenção das zonas livres de moscas na região Noroeste permitiu a expansão da fruticultura em 50.000 ha (ENKERLIN, 2005).

No vale do rio Hex, África do Sul, de onde uma média anual de 15,5 milhões de caixas de uva de mesa era exportada (BARNES; EYLES, 2000), foi implementado um projeto-piloto de supressão em 10.000 ha. De 1997 a 2002, o uso de inseticidas caiu drasticamente, e a população de moscas reduzida de um MAD (mosca/armadilha/dia) de 0,9-1 (nos 3 anos antes da liberação de machos estéreis) para um MAD de 0,1-0,4 nos 3 anos subseqüentes às liberações (BARNES et al., 2004). Pela substituição das aplicações

de inseticida pelas liberações de macho estéril nos *hot spots*, os custos com controle passaram de US$ 350.000/ano com controle químico para apenas US$ 130.000/ano com a TIE. No ano 2000, uma redução de 60% da rejeição de caixas de uvas para exportação representou uma economia de US$ 150.000. Na safra 2001/2002, os benefícios diretos totalizaram US$ 370.000/ano, a um custo de US$ 130.000 (benefício/custo= 2.8:1) (ENKERLIN, 2005).

Em 1976, os governos da Guatemala, México e E.U.A., com o suporte da FAO e IAEA, criaram o Programa MOSCAMED, visando estabelecer uma barreira de contenção na fronteira entre Guatemala e México, continuando as atividades de erradicação na Guatemala. Depois de 4 anos (1977-1982) de atividades intensivas, *C. capitata* foi erradicada de uma área de 640.000 ha no Estado de Chiapas, México. Esta foi a 1ª vez que uma população de moscas-das-frutas foi erradicada em um nível continental, em uma região de difícil topografia e alta biodiversidade (HENDRICHS et al., 1983). Por mais 23 anos (1982-2004), o programa tem mantido a barreira de contenção com sucesso, e várias outras áreas da Guatemala já foram certificadas como zonas livres. O impacto inicial do Programa MOSCAMED foi a proteção da agroindústria mexicana e americana e, como resultado, as receitas mexicanas triplicaram desde 1994 para mais de US$ 3,5 bilhões/ano (TEN years of NAFTA, 2004). Considerando apenas o México, projetando-se a economia anual dos danos diretos em US$ 2 bilhões (GUTIERREZ, 1976) por 24 anos (1977-2000), e dividindo-se esse valor pelo custo total do programa (estimado em US$ 288 milhões) (ENKERLIN et al., 1989), a razão benefício/custo seria de 167:1. Além disso, nesses 24 anos, do orçamento total do programa, pelo menos US$ 124 milhões foram gastos em Chiapas com serviços, suprimentos e equipamentos, o que representou uma grande injeção de dinheiro numa das áreas mais carentes do México (ENKERLIN, 2005).

No Chile, após 8 anos de um programa intensivo com TIE, a medfly foi erradicada em 1995 da província de Arica e o país foi declarado livre da mosca (MAG/SAG, 1995). Desde então, as exportações de frutas cresceram para atingir 2 milhões de toneladas de frutas, principalmente uvas de mesa, maçãs, kiwis, abacate e pêssegos, com valor, em 2002, de US$ 1,6 bilhões. A cada ano, o governo chileno gasta uma média US$ 4 milhões para manter o país livre de moscas das frutas, sendo a relação benefício/custo em torno de 17:1. Se múltiplos *outbreaks* ocorressem apenas na região metropolitana do Chile, a indústria sofreria uma perda estimada em US$ 78 milhões/ano, apenas com a perda de mercados nos E.U.A. (LINDQUIST; ENKERLIN, 2000).

Na Califórnia, desde 1975, mais de US$ 256 milhões (em fundos estaduais e federais) foram gastos na erradicação de infestações, principalmente nas áreas de Los Angeles e na baía de San Francisco (ENKERLIN, 2005). O programa de liberações preventivas (1994-1998) resultou numa redução das infestações em mais de 96%. Antes, de 1987 a 1993, ocorriam uma média de 7 ou 8 *outbreaks* de medfly por ano, custando ao Estado aproximadamente US$ 33 milhões/ano (USDA, 1992), mas, com as liberações preventivas de duas vezes/semana, o custo total do programa foi cortado praticamente pela metade. O impacto deste projeto foi também medido em termos das perdas potenciais, as quais, incluindo perdas no campo, aumento do uso de inseticidas (de 127 para 2.270 t/ano de ingrediente ativo), perda de mercados e custos quarentenários (CDFA, 2002), custariam à economia da Califórnia US$ 1,3 a 1,9 bilhões/ano, com mais de 14.000 demissões (SIEBERT; PRADHAM, 1991). Também existe um programa de liberações preventivas de *C. capitata* estéril, em operação desde 1998 na Flórida.

Em 1997, foi estimado que alguns países do Oriente Médio (Israel, Jordânia e territórios sobre autoridade palestina) gastariam, num período de 6 anos e seguindo as práticas comuns de controle, US$ 46,7 milhões com inseticidas para supressão de *C.*

capitata. Com um programa de TIE, seriam gastos US$ 5,8 milhões com inseticidas, uma economia, portanto, de US$ 40,9 milhões nos 6 anos (ENKERLIN; MUMFORD, 1997).

Outra análise conduzida pela IAEA avaliou os custos e benefícios de um programa de TIE na ilha da Madeira, em comparação com o uso convencional de pesticidas. Uma das conclusões foi a de que o uso eficiente da TIE reduziria as perdas do setor frutícola para menos de 3%, levando à geração de um excedente de produção em torno de 2,2 milhões de kg de frutas/ano e um aumento anual de €1,6 milhões em rendimentos para os produtores (IAEA, 2005). Isso sem contar com os benefícios indiretos (€ 355 bilhões/ano pelo aumento da área plantada, € 690 mil/ano de benefícios sociais, além de € 500 mil/ano de contribuição para a indústria do turismo).

Na Argentina, as regiões da Patagônia e parte de Cuyo (Uco Valley), especializadas em frutas temperadas, já são consideradas livres de moscas-das-frutas. Entretanto, no Nordeste (províncias de Corrientes e Entre Rios, com 56.200 ha de citrus), os danos por *C. capitata* e *A. fraterculus* chegam a 13%, cerca de 143.000 t/ano (aproximadamente US$ 37 milhões/ano). Recentemente, o Servicio Nacional de Sanidad y Calidad Agroalimentaria (SENASA) planeja expandir o programa nacional de controle das moscas-das-frutas (PROCEM), visando reduzir o nível de dano anterior para 0,5%, no 4º ano de programa, e manter o status das áreas livres e de baixa prevalência. A liberação de machos estéreis de moscamed, atualmente, é feita em 160.000 ha. O programa expandido deverá incorporar 90.000 ha, o que demandará um salto dos atuais 140 para 300 milhões de pupas de macho estéril/semana. Os estudos para implementação da TIE contra *A. fraterculus* também estão em andamento. O custo total dessa expansão foi estimado em cerca de US$ 57 milhões para os 5 anos de execução (metade financiado pela SAGPyA, metade pelos governos federal e estaduais e o setor privado). No 4º ano de projeto, é esperado um incremento na comercialização de 116.000 t de frutas

(aproximadamente US$ 7 milhões/ano, pelos preços atuais) e uma redução de 67.900 L/ano de Malathion (GUILLÉN; SÁNCHEZ, 2007).

Analisando agora apenas os ganhos indiretos pela sociedade que um programa de TIE pode trazer, um estudo na Jordânia mostrou que uma média de 94 t de inseticidas era aplicada anualmente para o controle de *C. capitata* (o que representava 33,8% do total de inseticidas usados no país), e que US$ 550.000 eram gastos por ano só para o tratamento de casos de envenenamento de trabalhadores durante a aplicação de combate à medfly. O estudo concluiu que esse custo poderia cair substancialmente com a adoção de um programa integrando a TIE (IAEA, 2001).

Pimentel (1991) estimou que a razão mundial benefício/custo de inseticidas era de apenas 2:1, se fossem incluídos os custos indiretos à saúde pública e ao ambiente. Enkerlin (2005) mostrou que, na maioria dos programas de AW-IPM integrando a TIE, a relação benefício/custo variava de 2,8 a 400:1.

Num futuro próximo, a indústria de agrotóxicos enxergará a TIE não como uma tecnologia competidora, mas como uma oportunidade de diversificação. E dada a sua aplicação em área-ampla, a TIE poderá contribuir ainda mais para melhorar a segurança alimentar no mundo.

3.4 Irradiação de insetos com raios-X

A aplicação de raios-X na Entomologia quase sempre foi limitada a um pequeno número de espécies, um grupo de insetos ou seguindo propósitos muito específicos. Os registros das doses de radiação para esterilização e desinfestação de produtos são raros, sendo que os primeiros experimentos com raios-X, chamados inicialmente de raios Roentgen, datam do início do século XX.

Nesse momento em que a Radiologia nascia como ciência, poucos experimentos foram realizados com insetos. Na verdade, até a descoberta no início da década de 1900 de que os raios-X afetavam diversos órgãos animais mesmo sem causarem lesões externas, muitos operadores ficaram estéreis sem nenhum conhecimento do fato. Um dos primeiros ensaios foi realizado com mosca doméstica pelo professor Axenfelt em 1897, mas, devido à metodologia empregada, os resultados não foram conclusivos.

Em 1911, Hunter pôde realizar uma série de experimentos expondo diversos insetos, como *Calandra oryzae* L. (Coleoptera: Curculionidae), *Culex pipiens* L. (Diptera: Culicidae) e várias espécies de ácaros, aos raios Roentgen, mas não foi observado efeito algum sobre a fertilidade ou os estágios de vida testados. No final de 1912, Morgan & Runner realizaram experimentos na Flórida com *Lasioderma serricorne* F. (Coleoptera: Anobiidae), o besouro do tabaco, com um aparelho de raios-X construído para "esterilizar" caixas de cigarro em escala comercial. Os resultados também foram negativos, tendo o besouro apresentado desenvolvimento normal.

Segundo Runner (1916), os resultados negativos dos ensaios anteriores foram causados pelo fato dos aparelhos empregados serem muito rudimentares. Os tubos de raios-X utilizados, por exemplo, eram incapazes de operar continuamente sem flutuação da intensidade ou alteração no poder de penetração, sendo impossível estabelecer com precisão a dosagem de radiação. Runner executou novos experimentos com *L. serricorne*, empregando agora um aparelho criado por W.D. Coolidge, no qual os tubos de raios-X recebiam uma descarga pura de elétrons, a intensidade e poder de penetração não variavam e as voltagens inicial e de operação eram as mesmas. Todas essas características resultaram numa irradiação homogênea. Dessa forma, foi possível alcançar a esterilização e impedir o desenvolvimento larval com altas doses.

Investigações mais detalhadas sobre os efeitos genéticos causados por radiações ionizantes começaram com a descoberta de Muller (1927) de que mutações poderiam ser induzidas em *Drosophila melanogaster* (Meigen, 1830) (Diptera: Drosophilidae) por raios-X. Ele demonstrou, por exemplo, que uma dose de 5.000 R (~48,7 Gy) de raios-X aplicada nas células espermáticas de *Drosophila* sp. aumentava a frequência de mutação gênica por geração em 100 vezes. Também ressaltou que a frequência de mutação gênica radioinduzida dependia da exposição total e era diretamente proporcional à dose total absorvida.

Embora *D. melanogaster* tenha sido uma das espécies mais estudadas, alterações genéticas resultantes de tratamentos de raios-X em outros artrópodes também foram observadas por alguns autores. White (1937), tratando quatro espécies de gafanhotos, notou mudanças cromossômicas em espermatogônias na primeira divisão meiótica após irradiação. Carlson (1941) irradiou outras espécies de gafanhotos e também pôde observar alterações cromossômicas e um atraso na espermatogênese.

Whiting (1938), trabalhando com *Bracon hebetor* (Say, 1857) (Hymenoptera: Braconidae), verificou que uma dose de 7500 R (~72,9 Gy) de raios-X esterilizou quase totalmente os machos e que aproximadamente metade dos ovos fertilizados por espermatozóides tratados com 2500 R (~24,3 Gy) não apresentaram desenvolvimento normal.

Demerec e Kaufmann (1941) trataram machos de *D. melanogaster* com 3000 R (~29,2 Gy) e observaram a fertilidade dos ovos postos por fêmeas normais cruzadas com machos em vários intervalos após a irradiação. Ovos obtidos dos cruzamentos feitos nos intervalos de 1, 6, 7 e 12 dias após a irradiação apresentaram viabilidade semelhante, mas a porcentagem de dominantes letais caiu depois de 19 dias. Concluiu-se que espermatozóides imaturos eram mais resistentes.

Koller e Ahmed (1942) realizaram estudos citológicos sobre os cromossomos das glândulas salivares de larvas obtidas do cruzamento entre machos de *D. Pseudoobscura* (Frolowa) tratados com 4500 R (~43,8 Gy) e fêmeas não-irradiadas. Eles perceberam mudanças estruturais em 40% dos cromossomos. Seus resultados também sugeriram que espermatozóides de *D. psudoobscura* e *D. melanogaster* eram igualmente afetados por doses similares de raios-X.

Luce et al. (1948) manteve ovos e larvas de *D. melanogaster* a 28ºC e irradiou-os com raios-X em diferentes idades, variando de 5 a 86 h depois da oviposição. Em seguida, os insetos foram criados até a fase adulta e contagens do numero de facetas oculares foram feitas. Os resultados sugeriram que os raios-X reduziam as facetas oculares apenas depois que a área óptica tinha sido determinada e durante o período de rápido crescimento.

Crouse (1950), usando *Bradysia coprophila* (Linter) (Diptera: Sciaridae), relatou que quando as moscas adultas foram expostas a raios-X na sua idade mais suscetível (46 a 72 h) o mesmo número de quebras cromossômicas foi induzido por 2000 R (~19,5 Gy) em oócitos como por 4000 R (~ 38,9 Gy) em espermatozóides.

Depois de 1950, iniciaram-se os experimentos de laboratório para obtenção das informações necessárias para esterilização da mosca-varejeira, *Cochliomyia hominivorax*, praga-alvo dos primeiros programas de controle de pragas a utilizar a Técnica do Inseto Estéril na América. Bushland e Hopkins (1951), utilizando um aparelho de raios-X do Hospital Brooke Army (Texas), relataram que pupas 2 dias antes da emergência do adulto de *C. hominivorax* expostas a doses de 2500 e 5000 R (24,3 e 48,7 Gy) de raios-X originavam machos e fêmeas estéreis, respectivamente. Em gaiolas de laboratório, os machos estéreis competiam satisfatoriamente contra os não-irradiados no acasalamento

com fêmeas normais. Quando a razão de machos estéril: fértil era de 5 ou 10 para 1, a razão de massas de ovos estéreis para normais era a mesma.

Na década de 1950, o uso de raios-X, embora totalmente viável para estudos de laboratório e liberações em campo de pequena escala, seria muito dispendioso para uma produção massal do número de moscas-varejeira estéreis necessário nos programas de área-ampla desejado pelo governo dos E.U.A. A alternativa passou a ser a irradiação com raios gama provenientes de fontes de ^{60}Co (LINDQUIST, 1955).

Com o desenvolvimento de fontes gama pela Atomic Energy Commission dos E.U.A., Bushland e Hopkins (1953) puderam realizar experimentos comparando raios-X e gama para a *C. hominivorax*. Nesse trabalho, a radiação gama era proveniente de uma fonte de ^{60}Co do Laboratório Nacional de Oak Ridge (apenas 40,7. 10^{10} Bq ou 11Ci), enquanto os raios-X foram obtidos de um aparelho de radioterapia intensiva do Hospital Brooke Army do Forte Sam Houston (Texas). Comparações entre 3 culturas de pupas com 6 dias de idade tratadas com 5.000 R (~48,7 Gy) de raios-X e gama mostraram que ambos produziram efeitos similares. A longevidade dos machos provenientes de pupas não-irradiadas foi maior que a dos irradiados para os dois tipos de radiação. Também se concluiu que nenhuma dose menor que 5.000 R era capaz de produzir 100% de esterilidade (lotes com machos e fêmeas) e que era melhor esterilizar pupas com mais de cinco dias de idade.

Vale ressaltar que, depois desses trabalhos com *C. hominivorax*, foi iniciado, em 1954, o programa de erradicação da varejeira na ilha de Curacao, sendo as moscas criadas e esterilizadas com raios gama na Flórida. Apenas 7 semanas após o início das liberações, deu-se por erradicada de toda a ilha. A erradicação da varejeira nos E.U.A. deu-se em 1979. Em 1991, o México foi oficialmente declarado livre da varejeira (DYCK et al., 2005).

Shivagi e Rastogi (1974) investigaram a inativação de enzimas após a irradiação em baratas adultas. As doses variaram de 1200 a 9600 rads (12 a 96 Gy). Os autores verificaram que a fosfatase ácida era mais sensível do que a alcalina aos raios-X e, com relação aos tecidos estudados, no ceco hepático dos machos e trato digestivo das fêmeas.

Sacchi et al. (1977) avaliaram diferentes doses de raios-X e de nêutrons em pupas com 5 dias de idade de *Piophila casei* L. (Diptera: Piophilidae). Esses autores utilizaram para irradiação um tubo de raios-X para radioterapia e um reator Triga Mark II da Universidade de Pavia e verificaram que a LD_{50} para raios-X foi obtida com 700 Gy e 170 Gy para nêutrons. Quanto à esterilidade, a redução da fecundidade foi drástica a 75-100 Gy de raios-X (mas sendo os ovos aparentemente normais), enquanto que sob doses maiores que 30 Gy de nêutrons, a fecundidade era nula. Na verdade, além de 30 Gy de nêutrons, havia completo atrofiamento dos ovários, o mesmo se verificava para doses maiores (entre 75-100 Gy) de raios-X. De maneira geral, os nêutrons provaram ser mais efetivos do que os raios-X em causar tanto mortalidade de pupas quanto esterilidade em ambos sexos de *P. casei*. Além disso, os valores calculados para RBE a partir de uma análise comparativa dos efeitos das duas radiações para esterilidade (6 para machos e 3,5 para fêmeas) foram próximos dos encontrados por Hooper (1971b) em *Ceratitis capitata*, e as anormalidades observadas nos ovários de *P. casei* irradiada com nêutrons foram similares às descritas para *C. capitata* por Causse et al. (1968) e Cavalloro e Delrio (1974).

Mais recentemente, Dey e Manna (1983) observaram em *Physopelta schlanbuschi* F. (Heteroptera: Largidae) que os cromossomos das espermatogônias em metáfase e anáfase I eram mais sensíveis a raios-X do que nos outros estágios da mitose.

Um acontecimeto recente interessante que vale ressaltar é o potencial crescente do emprego de raios-X para desinfestação em tratamentos quarentenários. Follett e

Armstrong (2004) apoiaram a dose genérica proposta de 150 Gy para todas as moscas da família Tephritidae depois de conduzirem testes irradiando larvas de último instar com raios-X no Havaí. Alonso et al. (2007) demonstraram que a irradiação por raios-X, provenientes de uma fonte com um raio de energia de 0,8 MeV, não provocou efeitos deletérios em laranjas "Clemenules" mandarins (*Citrus reticulata* Blanco) e representa uma alternativa viável para os exportadores de citrus espanhóis. Na verdade, o United States Food and Drug Administration (FDA) havia aprovado já há alguns anos o uso dos raios-X com energia ≤7,5 MeV (gerados em máquinas com alvo feito de tântalo ou ouro) para irradiação de alimentos a uma dose ≤1,0 kGy (FDA, 1986, 2004) e, para fins quarentenários contra *C. capitata*, o United States Department of Agriculture havia estabelecido uma dose absorvida mínima de 0,10 kGy (USDA, 2006).

O emprego de outras formas de irradiação também vem se consolidando no campo da irradiação de alimentos, como a irradiação por elétrons acelerados (energia até 5 MeV). Estes têm sido sugeridos como um tratamento quarentenário para flores de corte contra *Tetranychus urticae* (Koch.), *Liriomyza trifolii* (Burgess), *Spodoptera litura* (Fab.), e *Myzus persicae* (Sulzer) (DOHINO; TANABE, 1994; KUMAGAI; DOHINO, 1995; DOHINO et al. 1996, 1998). Nos últimos anos, também tem sido reportado o uso de elétrons de baixo poder de penetração (energias menores que 300 kV) para desinfestação de grãos, temperos e alguns brotos (IMAMURA et al.,2004; REDDY et al., 2006), podendo-se citar como grandes vantagens dessa tecnologia a menor influência sobre a qualidade dos produtos e a não necessidade de se ter uma escudo protetor muito espesso, o que não eleva os custos da linha de desinfecção do produto.

4 MATERIAL E MÉTODOS

Os bioensaios foram realizados no FAO/IAEA Agriculture & Biotechnology Laboratory (Entomology Unit) em Seibersdorf (Áustria), em salas climatizadas com temperatura de 23±1ºC e 65% de umidade relativa do ar, com fotofase de 14 h.

A linhagem de *Ceratitis capitata* utilizada foi a *tsl*-VIENNA 8/D53 (FRANZ, 2005). Na ausência de recombinação genética, as fêmeas são sensíveis à temperatura e emergem de pupas brancas, enquanto os machos são resistentes às altas temperaturas e emergem de pupas marrons (CÁCERES, 2002). A sexagem genética para esta linhagem ocorre ao se expor os ovos no banho-maria à temperatura de 34ºC por 24 h (CACERES; FISHER; RENDON, 2000). Para *A. fraterculus*, os testes foram conduzidos utilizando-se moscas de uma linhagem bissexual de uma colônia estabelecida a partir de uma população argentina (ENTOMOLOGY UNIT, 2006).

Os experimentos foram instalados em delineamento inteiramente ao acaso. Como as condições da sala climatizada eram homogêneas, não foi necessário impor fator de restrição à casualização.

4.1 Fontes de Radiação

A fonte de radiação gama foi um irradiador de ^{60}Co (Gammacell-220) com $28{,}8.10^{12}$ Bq (778,6 Ci) de atividade no começo dos testes (Figura 1a).

Os raios-X utilizados eram gerados por um irradiador de baixa energia *self-contained*, o RS-2400, o qual foi adquirido pela IAEA em 2006 da RadSource Technologies da Geórgia, E.U.A. (Rad Source Inc., www.radsource.com). Esta unidade opera com uma energia máxima de 150 keV, uma corrente que varia de 0-35 mA e uma taxa de dose de 11,7 Gy/min. As pupas eram posicionadas no centro do cilindro de irradiação (178 mm de diâmetro e 167 mm de cumprimento), o qual ficava preso a um

suporte metálico de modo a poder rotacionar ao redor do tubo horizontal no qual eram gerados os raios-X (Figura 1b).

Para cada lote de pupas irradiadas, foi realizada a dosimetria seguindo o sistema dosimétrico Gafchromic® (filmes Gafchromic HD-810; International Specialty Products, Wayne, NJ 07470, U.S.A.) (IAEA, 2004).

Figura 1a. Irradiador de ^{60}Co (Gammacell-220); Figura 1b. Irradiador de raios-X (RS-2400).

4.2 Efeito das radiações sobre Fertilidade e Fecundidade

Para *C. capitata*, foram utilizados machos de 1ª e fêmeas das duas últimas coletas larvais. As pupas permaneciam em serragem por 5 a 6 dias, quando eram então separadas por peneiramento e limpas. Com 9 a 10 dias de idade (48 e 24 h antes da emergência do adulto), as pupas marrons eram irradiadas com as seguintes doses: 0 (testemunha), 15, 30, 60, 90, 120 Gy. Passado um dia após a emergência de todas as moscas, os machos eram separados para formar os casais com as fêmeas não-irradiadas nas unidades experimentais. Havia 12 repetições (gaiolas) para cada tratamento, com 3 casais por gaiola, sendo feitas 4 coletas de ovos durante a semana. Nas gaiolinhas plásticas desenvolvidas para confinar os casais (9 x 4,5x 4,5 cm), a água era fornecida por meio de

um papel de filtro em constante contato com a água que residia no suporte da gaiola. A dieta dos adultos, oferecida *ad libitum*, era a padrão feita de proteína hidrolisada:açúcar (1:3) (ICN Pharmaceuticals Inc., Aurora, OH). As fêmeas ovipositavam através de um tecido *voil* na tampa da gaiola. Imediatamente, abaixo dessa superfície de oviposição, era colocada uma placa de Petri contendo papel de filtro negro umedecido para receber os ovos que caíam por gravidade. Esse papel de filtro com ovos era substituído a cada 24 h (Figuras 2 e 3).

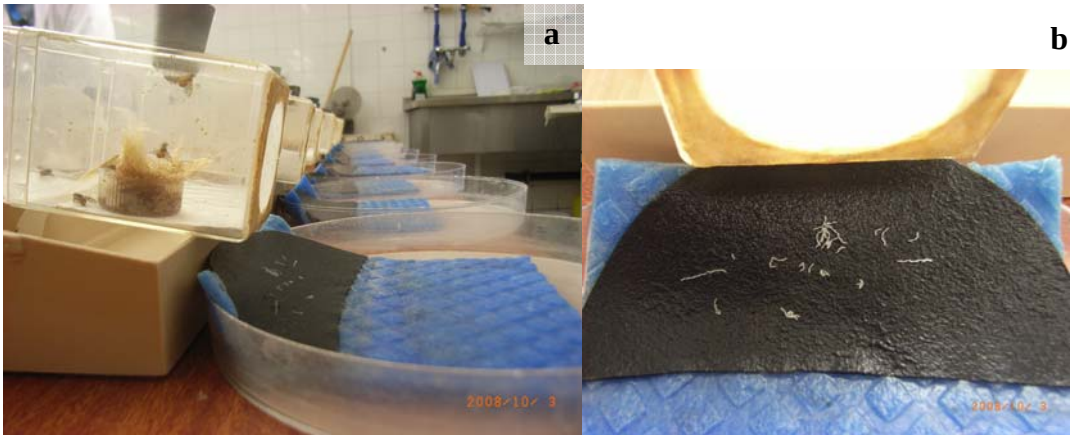


Figura 2a. Unidades experimentais contendo casais de *C. capitata*; Figura 2b. Ovos sobre papel de filtro umedecido, para evitar dessecação por 24 h.

Figura 3. Coleta dos papéis de filtro contendo ovos de *C. capitata* a cada 24 h.

Após a contagem do número de ovos, o papel com ovos era colocado em placa de Petri com esponja umedecida e, após 5 dias, verificada a viabilidade dos ovos. Dessa forma, eram obtidos os dados de fertilidade (número de ovos viáveis) e fecundidade (número de ovos/fêmea/dia).

Quanto a *A. fraterculus*, pupas (48-24 h antes da emergência dos adultos) foram irradiadas com quatro doses: 0 (testemunha), 10, 20, 35 e 70 Gy. Cinco dias após a emergência, os adultos eram selecionados. Para cada tratamento, a fertilidade foi avaliada expondo-se 30 fêmeas ou machos não-irradiados a 30 indivíduos tratados do sexo oposto, respectivamente, durante uma semana em gaiolas cilíndricas de acrílico (7.121,5 cm^3). Água e alimento foram fornecidos *ad libitum*, sendo que a dieta dos adultos era uma mistura de proteína hidrolisada (a mesma citada anteriormente), açúcar e germe de trigo (1:3:1). As fêmeas ovipositavam em um dispositivo artificial, feito de uma placa de Petri plástica perfurada, com tecido *voil* recoberto por uma fina camada de silicone preto. Essa placa era colocada sobre a rede no topo da gaiola, ficando preenchida com água. Esta era removida a cada 24 h para coleta dos ovos (Figura 4).

Figura 4. Detalhes do bioensaio com *A. fraterculus*: a) Gaiolas contendo os casais (30 casais/gaiola); b) Detalhe dos ovos de *A. fraterculus* no dispositivo de oviposição; c) Coleta diária e assepsia dos ovos; d) Detalhe dos ovos de *A. fraterculus* decantados nos frascos de coleta.

O número de ovos de cada gaiola era contado sobre um papel de filtro negro umedecido, o qual era colocado em uma placa de Petri com esponja umedecida. A porcentagem de eclosão de larvas era avaliada depois de 5 dias. Havia 6 repetições para cada tratamento e 4 coletas de ovos.

4.3 Emergência de adultos e Voadores

Para verificação da porcentagem de emergência dos adultos, 50 pupas de cada tratamento foram colocadas em placas de Petri, sendo 10 repetições/tratamento para *C.*

capitata e 6 para *A. fraterculus*. Depois de 72 h, era calculada a porcentagem de emergência de adultos.

Para avaliar a percentagem de moscas voadoras (*fliers*), foi seguida a metodologia descrita no manual da FAO/IAEA/USDA (2003). Cinqüenta pupas eram colocadas dentro de um círculo de papel no fundo de uma placa de Petri escura. Depois de as moscas emergidas terem escapado ou perecido (aproximadamente 72 h), o conteúdo do interior dos tubos opacos (moscas que restaram) era então contado. Foi utilizado o mesmo número de repetições do ensaio para emergência de adultos.

4.4 Longevidade sob estresse

Uma amostra de pupas tratadas era colocada em uma gaiola sem alimento nem água, e depois de 2 h da emergência, 20 moscas (para *Anastrepha*, 10 machos e 10 fêmeas) eram colocadas em uma placa de Petri sem alimento nem água (10 repetições para moscamed e 6 para *A. fraterculus*). Essas placas foram mantidas em local sem luz por 48 h. Após esse período, a porcentagem de sobrevivência foi calculada depois de contar o número de moscas vivas.

4.5 Testes em Gaiola de Campo

Os testes de gaiola de campo foram realizados em quatro gaiolas de campo dentro de uma casa de vegetação sob condições controladas (22±2ºC, umidade relativa de 60±10%). No centro de cada gaiola, foi posicionada uma muda de *Citrus limon* L. (1,7 m de altura e copa com 1,5 m de diâmetro), fornecendo às moscas superfície para as atividades de acasalamento e descanso. Para *C. capitata*, 25 machos e 25 fêmeas da colônia de laboratório e 25 machos estéreis (irradiados com 90 Gy de raios-X ou γ) da mesma colônia foram liberados em cada gaiola.

Para *A. fraterculus*, 20 machos e 20 fêmeas da colônia de laboratório, 20 machos estéreis e 20 fêmeas irradiadas (ambos irradiados com 60 Gy) da mesma colônia foram liberados.

De 48 a 24 h antes dos testes, as moscas foram marcadas individualmente de acordo com seu tipo, aplicando-se um pequeno ponto de tinta na superfície dorsal do tórax com auxílio de um pincel e colocando-se as moscas dentro de uma rede anti-mosquito (FAO/IAEA/USDA, 2003). Imediatamente após a marcação, as moscas eram transferidas para gaiolas (providas de alimento, água e ventilação). No dia do teste, os machos eram liberados primeiro nas gaiolas e recebiam 30 min. para se dispersarem e estabelecerem territórios. Moscas mortas ou moribundas foram repostas. Três horas após a liberação das fêmeas, o número e tipo de acasalamento eram anotados, sendo os casais classificados em macho e fêmea férteis (MF), macho estéril com fêmea fértil (EF), macho fértil com fêmea estéril (ME), e ambos estéreis (EE).

Para *A. fraterculus*, foram calculados de acordo com as fórmulas propostas no manual da FAO/IAEA/USDA (2003):

a) o índice de isolamento relativo:

Relative Isolation Index- $RII = \frac{EExMF}{EFxME}$ (1)

b) o índice de isolamento reprodutivo:

Index of Sexual Isolation- $ISI = \frac{(EE + MF) - (EF + ME)}{EE + MF + EF + ME}$ (2)

c) e os índices de performance relativa para machos:

Male Relative Performance Index- $MRPI = \frac{(EE + EF) - (ME + MF)}{EE + MF + EF + ME}$; (3)

e fêmeas:

Female Relative Performance Index- $FRPI = \frac{(EE + ME) - (EF + MF)}{EE + MF + EF + ME}$. (4)

Para *C. capitata*, foi obtido apenas o índice de esterilidade relativa:

Relative Sterile Index- $RSI = \frac{EF}{EF + MF}$. (5)

4.6 Eficiência Biológica Relativa

A Eficiência Biológica Relativa (Relative Biological Effectiveness ou RBE) para uma dada radiação teste é calculada como sendo a dose da radiação de referência dividida pela dose do outro tipo de radiação necessária para induzir o mesmo efeito biológico (ICRP, 1991). Portanto, para os parâmetros com mesmo *endpoint* biológico, a RBE foi calculada através da fórmula

$$RBE = \frac{Dose\,da\,radiação\,referência}{Dose\,da\,radiação\,teste} \quad (6)$$

Neste estudo radiobiológico, os valores de RBE foram calculados considerando a radiação gama como a de referência por razões práticas, já que ela se aproxima do limite mínimo teórico de eficiência biológica, além de ser amplamente disponível (BORECK et al., 1983).

4.7 Análises Estatísticas

Para a análise estatística dos dados relacionados à esterilidade induzida pelas doses de radiação, foi realizada regressão probítica pelo programa PoloPlus (LeOra Software 2003, version 1.0, CA, U.S.A.). Para verificar a adequação dos dados às pressuposições do modelo probítico, foi observado o ajuste do modelo matemático utilizado (coeficiente de determinação). Também foi testada a hipótese de paralelismo

(igualdade de coeficientes angulares). Os valores de razão de dose de esterilização gerados pelo PoloPlus serviram como a RBE descrita anteriormente. Para estudo da fecundidade, foi analisada a variável número médio de ovos acumulados nos 4 dias de coleta, aplicando-se teste F à análise de variância ($p<0,01$). Para emergência de adultos, voadoras e longevidade sob estresse, foi aplicado o mesmo teste mencionado para fecundidade, e, quando detectada diferença significativa, o teste de Tukey ($\alpha=0,01$) foi utilizado para comparar as médias. As médias dos índices sexuais RSI, RII, MRPI, e FRPI foram comparadas pelo teste-t de Student ($\alpha=0,05$). As análises foram efetuadas através do programa estatístico SAS 9.1 (SAS INSTITUTE, 2003).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Esterilidade induzida pelas radiações

A maioria das curvas dose-resposta assume uma forma sigmóide (PARKER; MEHTA, 2007), e, visando facilitar a comparação da eficiência de esterilização entre raios-X e gama, foi adotada a análise por Probit para se estudar as curvas de probítes estimados versus log(dose) (Tabela 1 e Figuras de 5 a 7). Pelos valores dos coeficientes de determinação (Tabela 1), o modelo probítico mostrou-se adequado ao conjunto de dados. As doses estimadas de 50, 90, e 99% de esterilização, com seus respectivos intervalos de confiança, estão resumidas na Tabela 2.

Tabela 1- Equações de Probit para as duas radiações.

Tratamentos		**Coeficiente angular ±EP**	**Equação**	**r^2**
C. capitata	Raios-X	2,77±0,25	y= 2,01+2,77.log(x)	0,86
	Raios γ	2,88±0,24	y= 1,25+2,88.log(x)	0,89
Machos de *A. fraterculus*	Raios-X	2,22±0,17	y= 3,73+2,22.log(x)	0,89
	Raios γ	2,23±0,47	y= 3,33+2,23.log(x)	0,79
Fêmeas de *A. fraterculus*	Raios-X	3,56±0,98	y= 0,39+3,56.log(x)	0,69
	Raios γ	5,19±1,002	y= -1,95+5,19.log(x)	0,82

* y=Probit e x=dose.
** Gráficos isolados das equações estão apresentados nos anexos B, C, E, F, H e I.

Tabela 2- Doses estimadas de esterilização e valores da Eficiência Biológica Relativa.

Tratamentos		DE_{50}	RBE	DE_{90}	RBE	DE_{99}	RBE
C. capitata	Raios-X	11,9 (8,5; 16,4)	1,68 (1,5; 1,8)	34,71 (26,8; 40,5)	1,6 (1,4; 1,8)	82,7 (61,1; 100)	1,55 (1,3; 1,7)
	Raios γ	20,01 (16,13; 24,8)		55,7 (45,2; 62,1)		128,2 (91,6; 161,03)	
Machos de *A. fraterculus*	Raios-X	3,71 (2,45; 5,92)	1,52 (1,4; 1,6)	13,94 (10,01; 20,8)	1,53 (1,4; 1,6)	41,001 (28,5; 65,8)	1,53 (1,3; 1,6)
	Raios γ	5,65 (2,31; 15,2)		21,3 (15,2; 35,1)		62,7 (38,9; 111,03)	
Fêmeas de *A. fraterculus*	Raios-X	19,6 (9,4; 40,8)	1,11 (0,3; 1,9)	44,9 (18,9; 93,8)	0,86 (1,2; 1,5)	88,4 (27,8; 247,9)	0,69 (0,1; 1,3)
	Raios γ	21,9 (14,9; 32,5)		38,6 (25,34; 61,4)		61,3 (34,9; 112,2)	

* DE= Dose que induz 50, 90 ou 99% de esterilidade.
** Valores entre parênteses representam os intervalos de confiança ao nível de 95%.
*** RBE= Eficiência biológica relativa (Dose de raios γ ÷ Dose de raios-X).

5

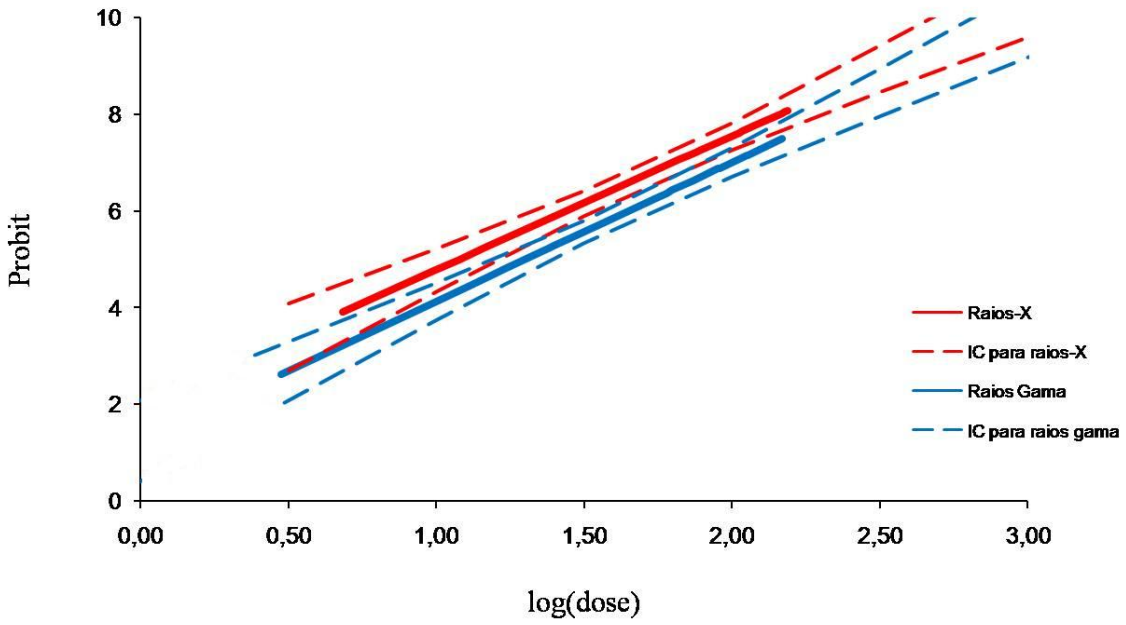


Figura 5. Próbites estimados da esterilidade obtida de cruzamentos entre fêmeas férteis e machos irradiados de *C. capitata*, e seus intervalos de confiança (95%).

6

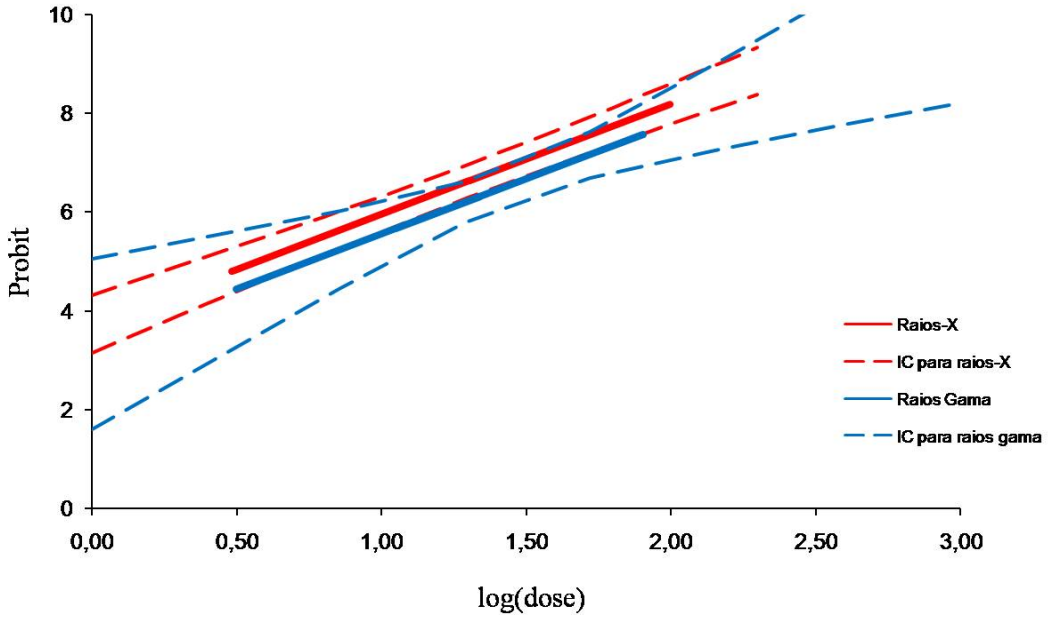


Figura 6. Próbites estimados da esterilidade obtida de cruzamentos entre fêmeas férteis e machos irradiados de *A. fraterculus*, e seus intervalos de confiança (95%).

7

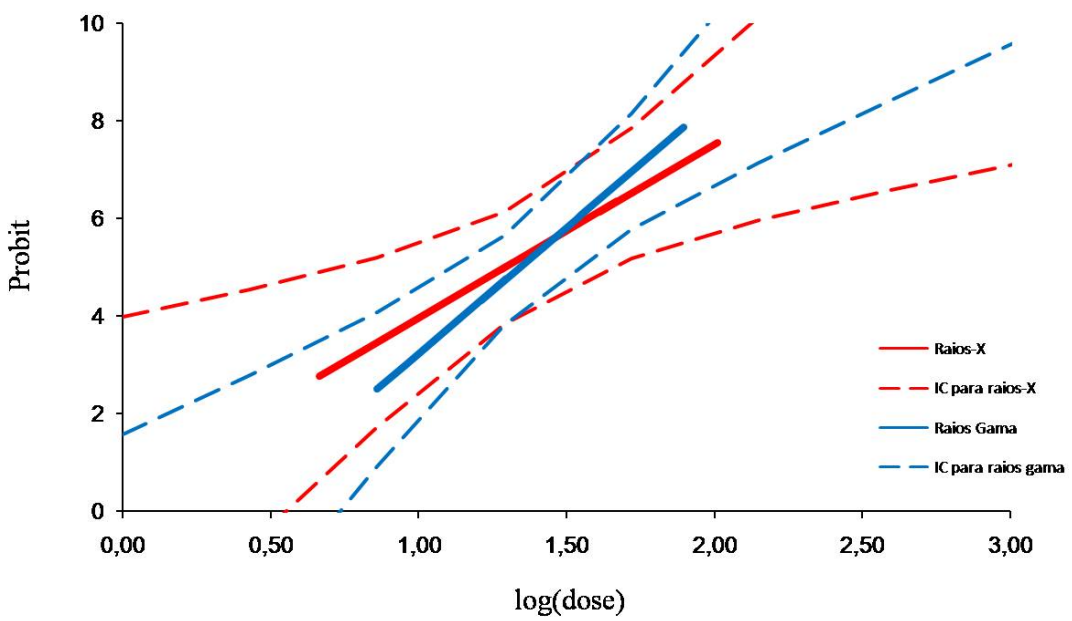


Figura 7. Próbites estimados da esterilidade obtida de cruzamentos entre fêmeas irradiadas e machos férteis de *A. fraterculus*, e seus intervalos de confiança (95%).

A fertilidade média de *C. capitata* do grupo controle foi de 63,31±2,61%. Este baixo valor é esperado para a linhagem utilizada. Outros estudos sobre condições de armazenagem e envios de longa distância de ovos de *tsl*-VIENNA 8/D53 revelaram viabilidade de ovos nos grupos controle, a 25ºC, de 79,2±0,4% (CÁCERES et al., 2007) e 55,3±7,1% (MAMÁN; CÁCERES, 2007).

Em relação aos machos irradiados de *C. capitata*, 99% de esterilidade pôde ser alcançada com doses de 82,7 Gy de raios-X e 128,2 Gy de raios gama. Portanto, considerando 99% de esterilidade como um *endpoint*, a RBE foi de 1,55 (Tabela 2). De acordo com Franz (2000), machos de *tsl*-genetic sexing strains que carregam uma translocação recíproca simples já são parcialmente estéreis e, quando irradiados 24 h antes da emergência do adulto com doses de 80-90 Gy, tornam-se 99% estéreis.

A hipótese de paralelismo não foi rejeitada (p>0,05; *df*: 1; Qui-quadrado: 0,18; *tail probability*: 0,67) e, portanto, os coeficientes angulares das equações não diferiram significativamente (Figura 5). Biologicamente, como no conceito de "potência" definido por Finney (1971), o paralelismo pode ser interpretado pelo fato de as duas radiações conseguirem provocar mudanças no sistema vivo na mesma taxa ou proporcionalmente no mesmo caminho. Também se verificou a sobreposição dos intervalos de confiança (Tabela 2), demonstrando que a maioria das doses não diferiu significativamente.

Para *A. fraterculus* (Tabela 2), a fertilidade também diminuiu significativamente com o aumento das doses de radiação. Quando machos irradiados foram expostos a fêmeas férteis, houve uma redução significativa da fertilidade (aproximadamente 99%) já em baixas doses como 41 Gy de raios-X e 62,7 Gy de raios gama, comparando-se com a testemunha. A hipótese de paralelismo não foi rejeitada (p>0,05; df: 1; Qui-quadrado: 3,43; *tail probability*: 0,064).

Quando as fêmeas irradiadas de *A. fraterculus* foram expostas a machos férteis (Tabela 2), nas doses estimadas de 88,4 Gy de raios-X e 61,3 Gy de raios gama, apenas 1% das larvas eclodiram (portanto, uma RBE de 0,69). A hipótese de paralelismo ($p>0,05$; *df*: 1; Qui-quadrado: 0,58; *tail probability*: 0,445) não foi rejeitada (Figura 7).

Walder e Calkins (1993) demonstraram que 50 Gy de raios gama induziam 100% de esterilidade em machos de *A. suspensa* (Loew). Toledo et al. (2004) verificaram 99,5% de esterilidade em fêmeas férteis de *A. obliqua* com 40 Gy de raios gama (pupas dos machos irradiados 48 h antes da emergência). Rull et al. (2007), trabalhado com *A. ludens*, demonstraram que doses entre 40-80 Gy induziam 95% ou mais de esterilidade nos machos irradiados 2 dias antes da emergência.

Na Tabela 2, deve-se chamar a atenção para o fato de que os baixos valores das doses estimadas para machos de *A. fraterculus* não eram esperados. Esses valores deveriam estar mais próximos ou acima dos calculados para as fêmeas irradiadas. Apesar de haver exceções, fêmeas de artrópodes são, de maneira geral, mais radiosensíveis que os machos. Em fêmeas de *C. capitata*, por exemplo, quando as pupas são irradiadas dois ou mais dias antes da emergência do adulto, a produção de ovos cessa com doses bem menores do que as necessárias para a esterilização dos machos (BAKRI et al., 2005a).

Outro ponto para o qual se deve chamar atenção na Tabela 2, é que, apesar de a DE_{99} estimada para fêmeas de *A. fraterculus* com raios-X ter sido de 88,4 Gy, na prática, as fêmeas não ovipositaram quando irradiadas com 70 Gy das duas radiações. Resultados semelhantes foram encontrados por Allinghi et al. (2007).

5.2 Fecundidade e Parâmetros de Controle de Qualidade

As variáveis fecundidade e de controle de qualidade (médias±erro padrão) para as diferentes doses de raios-X e gama estão resumidas nas Tabelas 3 e 4.

Os parâmetros de fecundidade (de cruzamentos entre machos irradiados e fêmeas férteis), emergência de adultos, voadoras e sobrevivência não foram afetadas significativamente pelas doses dos dois tipos de radiação tanto em *C. capitata* quanto em *A. fraterculus* ($p<0,01$).

Tabela 3 - Parâmetros de controle de qualidade (média±erro padrão) para *Ceratitis capitata*.

Dose (Gy)	Fecundidade	Emergência (%)	Voadores (%)	Sobrevivência (%)
Testemunha	344,58±44,49 a (n=4135)	91,2±1,47 a	82,4±2,68 a	84±4,99 a
15 - raios -X	361,58±37,97 a (n=4339)	92,2±0,69 a	85,6±2,55 a	85,5±2,63 a
30 - raios -X	316,08±36,81 a (n=3793)	92,2±2,03 a	82,4±2,62 a	85±4,78 a
60 - raios -X	435,5±48,04 a (n=5226)	89,6±1,95 a	83,6±1,63 a	92±3,27 a
90 - raios -X	403,25±40,1 a (n=4839)	89±1,98 a	78±3,44 a	83,5±4,48 a
120 - raios -X	323,08±32,9 a (n=3877)	87,4±2,27 a	79,2±2,52 a	81±4,34 a
15 – raios γ	427,33±27,7 a (n=5128)	87,8±1,5 a	85,2±1,98 a	87,5±3,44 a
30 – raios γ	342,67±47,9 a (n=4112)	91±1,59 a	83,6±1,83 a	83±3,67 a
60 – raios γ	394,67±39,1 a (n=4736)	90,6±2,0 a	80±2,67 a	83,5±4,95 a
90 – raios γ	413,08±28,9 a (n=4957)	92,8±1,61 a	81,6±2,25 a	81±3,79 a
120 – raios γ	464,63±52,7 a (n=5024)	90,4±1,95 a	77,6±3,54 a	86±4,52 a
C.V. (%)	34,14	6,23	9,98	15,45

* n= número total de ovos coletados.
** Não há diferença entre médias seguidas pela mesma letra (Tukey, 1%).

Tabela 4 - Parâmetros de controle de qualidade (média±erro padrão) para *Anastrepha fraterculus*.

Dose (Gy)	Fecundidade (macho irradiado x fêmea fértil)	Fecundidade (macho fértil x fêmea irradiada)	Emergência (%)	Voadores (%)	Sobrevivência (%)
Testemunha	1428,67±173,3 a (n=8572)	2216,17±169,4 a (n=13297)	78±1,27 a	59,3±1,61a	74±4,62 a
10- raios -X	1579,5±235,2 a (n=9477)	791,7±164,3 a (n=4750)	79,3±2,8 a	53,3±5,23 a	78,3±4,01 a
20- raios -X	1044,33±312,7 a (n=6266)	320,3±30,01 b (n=1922)	84,7±3,3 a	72±3,72 a	76,7±2,11 a
35- raios -X	1724,67±266,2 a (n=10348)	71,33±13,1 d (n=428)	83,3±1,69 a	62,3±7,63 a	78,3±6,01 a
70- raios -X	1539±240,5 a (n=9234)	0 e (n=0)	85,3±1,76 a	54,7±5,63 a	71,7±3,07 a
10– raios γ	1049±169,7 a (n=6294)	1532,7±278,1 a (n=9196)	83,7±3,28 a	62,7±6,17 a	67,3±4,81 a
20– raios γ	781,5±154,1 a (n=4689)	892,2±160,2 a (n=5353)	87,7±3,81 a	65,7±3,59 a	71,7±3,07 a
35– raios γ	1843±326,6 a (n=11058)	137,83±7,9 c (n=827)	82±3,43 a	64,7±4,18 a	83,3±3,33 a
70– raios γ	1615,33±171,4 a (n=9692)	0 e (n=0)	86,7±2,82 a	58±4,82 a	66,7±4,22 a
C.V. (%)	42,24	14,2	8,26	19,96	13,42

* n= número total de ovos coletados.
** Não há diferença entre médias seguidas pela mesma letra (Tukey, 1%).
*** Médias originais nesta tabela.
**** Os valores de fecundidade de fêmeas irradiadas precisaram ser transformados por $(x+k)^{-1.5}$ antes das análises.

Para estudar a fecundidade, foi analisado o número de ovos acumulados nos 4 dias de coleta. Tanto para a moscamed (F=1,55; p=0,129) e *A. fraterculus* (machos irradiados x fêmeas férteis) (F=2,32; p=0,035), não houve evidência estatística significativa de efeito das diferentes doses de radiação sobre a fecundidade de fêmeas férteis. O número médio estimado de ovos colocados diariamente por cada fêmea em todos os tratamentos foi de 32,02±1,24 e 11,7±3,89 ovos/fêmea/dia para moscamed e *A. fraterculus* respectivamente.

Entretanto, em fêmeas irradiadas de *A. fraterculus*, a oviposição foi severamente reduzida com o aumento da dose de radiação (F=206,57; p<0,001). A dose de 35 Gy de

raios-X e gama induziram 96,8% e 93,8% de redução na colocação de ovos respectivamente.

Allinghi et al. (2007) também encontraram que 40-70 Gy de radiação gama foram suficientes para induzir a esterilidade completa ao impedirem a oviposição em *A. fraterculus* (vale ressaltar que os procedimentos dosimétricos não foram relatados). Segundo Walder e Calkins (1993), fêmeas de *A. suspensa* não ovipositam depois de expostas a 25 Gy, devido ao fato dos ovários ficarem atrofiados. Em *A. ludens*, 40 Gy é suficiente para deixar as fêmeas infecundas, quando irradiadas 48 h antes da emergência (RULL et al., 2007).

5.2.1 Emergência e Voadores

Nem a emergência de adultos de moscamed (F=1,0; p=0,45) e *A. fraterculus* (F=1,29; p=0,27), nem a porcentagem de voadoras (F=1,13 e p=0,35 para moscamed; F=1,35 e p=0,245 para *A. fraterculus*) foram significativamente afetadas pelas doses (Tabelas 3 e 4). Os valores de emergência e voadoras foram maiores que 77% e 52% respectivamente.

As porcentagens mínimas pós-irradiação que são aceitáveis segundo a FAO/IAEA/USDA (2003) são de 70% de emergência e 60% de voadoras para *genetic sexing strains* (GSS) de *C. capitata*, 90 e 80% para *A. suspensa*, 80 e 72% para *A. obliqua*. Na colônia de *A. fraterculus* da Argentina, a emergência média é em torno de 88% (VERA et al., 2007). Toledo et al. (2004), trabalhando com *A. obliqua*, verificaram valores de emergência maiores ou iguais a 90% entre as doses de 15 a 100 Gy, e voadoras de 67 a 90% para pupas irradiadas 48 antes da emergência do adulto.

5.2.2 Longevidade sob estresse

Depois do período teste de 48 h, a sobrevivência no ensaio de longevidade sob estresse para moscamed e *A. fraterculus* foram maiores que 50%, com médias de 84±0,94% (F=0,57; p=0,84) e 74,2±1,83 (F=1,82; p=0,098) para a primeira e última respectivamente.

As porcentagens mínimas especificadas pela FAO/IAEA/USDA (2003) são de 40% para GSS de *C.capitata*, 40% para *A. obliqua* (período de 72 h) e 55% para *A. ludens* (também depois de 72 h).

5.2.3 RBE para os parâmetros de controle de qualidade

Os valores de RBE para emergência, voadoras e sobrevivência também foram ao redor de 1 para as duas espécies. Por exemplo, observando apenas os resultados de moscamed (Tabela 3) e trabalhando com as doses reais (obtidas pela leitura dos filmes Gafchromic), no grupo de 120 Gy, para se obter uma emergência de 89%, as doses reais recebidas pelas moscas foram de 131,65 Gy de raios-X e 147,63 Gy de raios γ, e, portanto, a RBE foi de 1,12. Na dose de 90 Gy e para uma porcentagem de voadoras de 79%, a RBE foi de 1,09 (112,32 Gy de raios γ / 103,32 Gy de raios-X). E para uma sobrevivência de 85% no grupo dos 15 Gy (doses reais de 8,51 Gy de raios-X e 9,46 Gy de γ), a RBE foi de 1,11.

5.3 Índices Sexuais

Também não foi encontrada diferença significativa entre raios-X e radiação gama com relação aos índices sexuais de compatibilidade e competitividade (Tabela 5 e Figuras 8 a 11) (ANOVA, $p<0,05$).

O índice de esterilidade relativa (RSI) serve como indicador da competitividade sexual entre duas amostras ou populações, e seu valor pode variar de 0 (significa que apenas fêmeas selvagens acasalam-se apenas com machos selvagens) a +1 (fêmeas selvagens acasalam-se apenas com machos estéreis). Os índices de esterilidade relativa (RSI) foram 0,46±0,03 para moscamed irradiada com 90 Gy de raios-X e 0,35±0,06 para machos irradiados com a mesma dose de radiação γ ($F=2,73$; $p=0,129$). Como esses resultados foram próximos de +0,5, isto indica que as fêmeas acasalaram-se indiscriminadamente com machos férteis e estéreis.

Tabela 5 - Índices sexuais (média±erro padrão) para *Ceratitis capitata* e *Anastrepha fraterculus*.

TRATAMENTO		RSI	RII	ISI	MRPI	FRPI
C. capitata	raios-X	0.46±0.027 a	---	---	---	---
	raios γ	0.35±0.059 a	---	---	---	---
A. fraterculus	raios-X	---	1.12±0.3 a	-0.0058±0.09 a	-0.2±0.09 a	-0.11±0.09 a
	raios γ	---	2.03±1.53 a	0.063±0.16 a	-0.043±0.14 a	0.079±0.21 a
	C.V. (%)	8.18	36.8	15.5	15.5	13.4

* Não há diferença entre médias seguidas pela mesma letra (Tukey, 5%).

O índice de isolamento relativo (RII) dá uma indicação da compatibilidade sexual entre duas populações, sendo que o valor +1 indica que os acasalamentos são ao acaso e valores maiores indicam acasalamentos com alguma tendência. Esse índice pode ser

interpretado como o número de machos estéreis que devem ser liberados para equivalerem a 1 macho selvagem, sendo que os valores geralmente estão entre +1,5 e +5, mas com valores constantemente acima de 3 representando causa de preocupação para o programa (CALKINS; PARKER, 2005). As médias dos índices de isolamento relativo (RII) foram 1,12±0,3 e 2,03±1,53 para os insetos irradiados com raios-X e γ (F=2,18; p=0,173). Um RII ao redor do valor 1 também indica acasalamento aleatório para *A. fraterculus*.

O índice de isolamento reprodutivo (ISI) serve de medida da compatibilidade sexual entre duas populações. Esse índice considera o número de casais obtidos para cada combinação possível, com valores variando de -1 (todos os acasalamentos são com membros da população oposta), passando por 0 (acasalamentos ao acaso) e indo até +1 (total isolamento entre as duas populações). Os valores de ISI de -0,0058±0,09 e 0,063±0,16 para raios-X e gama, respectivamente, demonstraram níveis satisfatórios de compatibilidade entre as moscas estéreis e as não irradiadas. Não houve diferença significativa entre as amostras (F=0,14; p=0,714).

O índice de performance relativa dos machos (MRPI) é uma medida da capacidade dos machos estéreis em acasalar com as fêmeas selvagens, e seus valores vão de -1 (indica que todos os acasalamentos foram feitos pelos machos selvagens) a +1 (todos os casais foram formados pelos machos estéreis). Pela Tabela 5, percebeu-se que os machos estéreis de *A. fraterculus* foram tão eficientes em formar casais quanto os machos não-irradiados (F=0,88; p=0,369), apresentando médias de MRPI iguais a -0,2±0,09 e -0,043±0,14 para moscas irradiadas com raios-X e gama respectivamente.

O índice de performance relativa das fêmeas (FRPI), como o MRPI, é uma medida da capacidade das fêmeas estéreis em acasalar com os machos selvagens, e seus valores também variam de -1 a +1. Os índices de performance relativa das fêmeas (FRPI) foram

próximos de zero, indicando que fêmeas irradiadas e não-irradiadas com os dois tipos de radiação de *A. fraterculus* participaram igualmente na formação de casais (F=0; p=0,99).

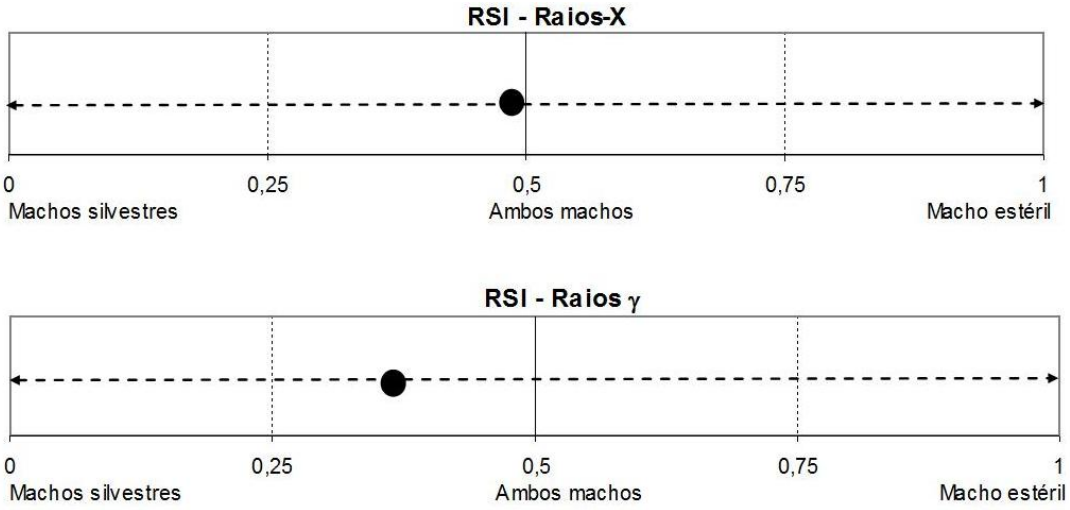


Figura 8. Índice de esterilidade relativa para machos de *C. capitata*.

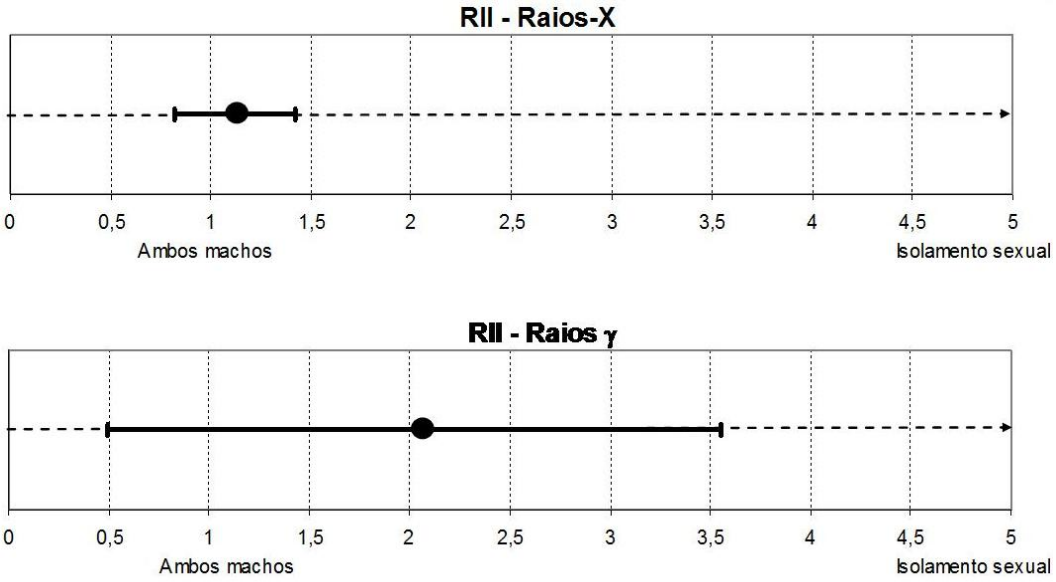


Figura 9. Índice de isolamento relativo para *A. fraterculus*.

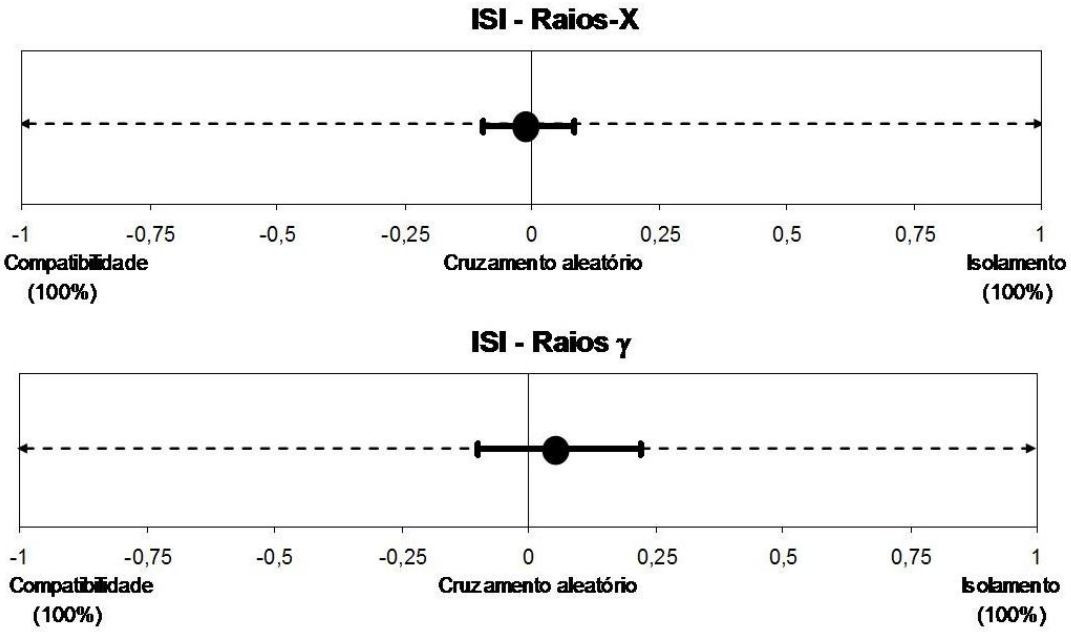


Figura 10. Índice de isolamento reprodutivo para *A. fraterculus*.

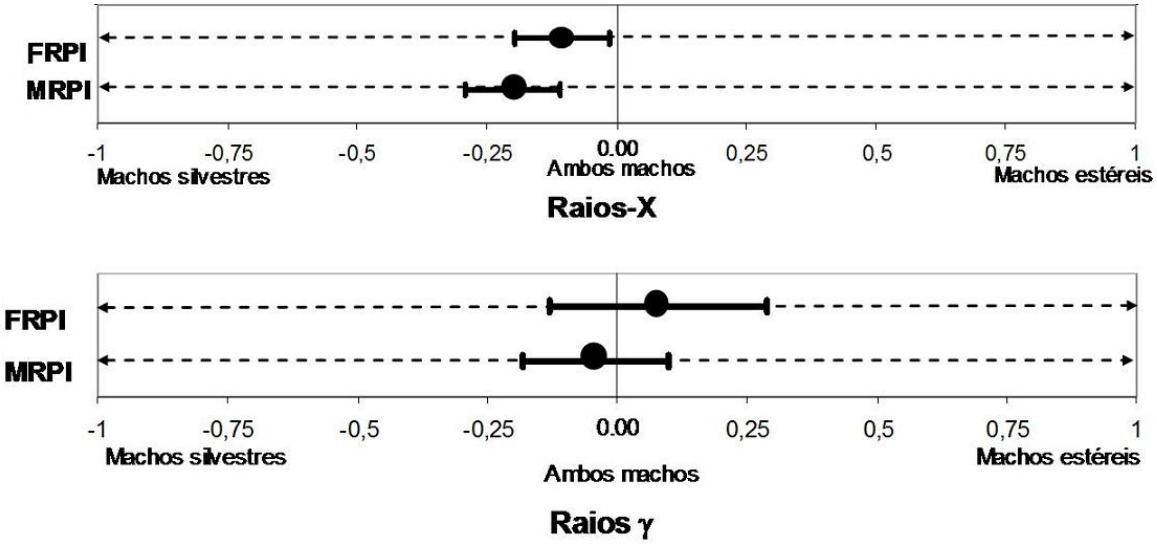


Figura 11. Índices de performance relativa para *A. fraterculus*.

5.4 Discussão sobre a Eficiência Biológica Relativa (RBE)

A International Commission on Radiological Protection (ICRP) na sua 60ª publicação designou, para propósitos de radioproteção, o valor de 1 para o fator de qualidade (*Q*) e o fator de peso radiobiológico (*weighting factor* ou *wR*) de raios-X, radiação gama, elétrons e outras partículas ionizantes que têm uma transferência linear de energia (*linear energy transfer* ou LET) menor que 3,5 $keV\mu m^{-1}$. A suposição implícita, determinada por dados obtidos dos sobreviventes das bombas atômicas de Hiroshima e Nagasaki e de mulheres que receberam fluoroscopias múltiplas, era de que raios-X de baixa energia teriam a mesma eficiência biológica que raios γ de alta energia (predominantemente na faixa de 2 a 5 MeV). A maioria das estimativas de risco atuais ainda se baseia nessa suposição.

Entretanto, existem diferenças na RBE para fótons de diferentes energias, e ela tende a aumentar com a diminuição da energia fotônica devido aos diferentes padrões de deposição de energia (HILL, 2004). Enquanto fótons de alta energia interagem com as células predominantemente através dos efeitos fotoelétrico e Compton, fótons de baixa energia interagem principalmente pelo efeito fotoelétrico. Em energias mais elevadas ($\geq$5 MeV) a Produção de Pares começa a ser mais importante (KELLERER, 2002; MESTRES et al., 2008).

Diversos estudos têm mostrado que é esperado de raios-X de baixa energia uma maior RBE, por unidade de dose absorvida, do que raios-X de alta energia ou raios γ, por causa da produção de elétrons secundários de baixa energia, com uma correspondente maior LET (HILL, 2004). Underbrink et al. (1976) encontraram uma RBE de 2 a 0,04 Gy para raios-X (200-500 keV) em comparação com raios γ de ^{60}Co, para indução de mutações de cor rosa nos estames de *Tradescantia*.

Borek et al. (1983), utilizando como *endpoint* transformações malignas *in vitro* em células de mamífero, demonstraram que a baixas doses a freqüência de transformação oncogênica de raios-X de 300 kV era quase o dobro que a de radiação gama proveniente de ^{60}Co a 0,03 Gy. Brenner e Amols (1989) calcularam teoricamente a resposta relativa de raios-X para mamografia em relação a raios-X e γ de alta energia. Estes dois autores, por resultados microdosimétricos, calcularam, a baixas doses, valores de RBE ao redor de 1,3 (entre raios-X provenientes de molibdênio e raios-X de 80 e 250 kV) e de 2 (entre raios-X de molibdênio e raios γ). Brenner et al.(2002) demonstraram, para o mesmo tipo de células utilizadas por Borek et al. (1983), uma RBE de 1,96±0,78 a baixas doses de raios-X monoenergéticos de 15,2 keV (similar à energia média de raios-X para mamografia) em relação a radiação gama de ^{137}Cs.

Resultados semelhantes foram obtidos para mutações e aberrações cromossômicas em outras células humanas, como linfócitos e óvulos (SCHMID et al., 1974; VIRSIK et al., 1980; LITTLEFIELD et al., 1989; NIKJOO et al., 1991; MILL et al., 1996; FRANKENBER-SCHWAGER et al., 2002; LUDWIKOW et al., 2002; SLONINA et al., 2003; KRUMREY et al., 2004).

Mestres et al. (2008) realizaram uma avaliação citogenética de FISH (fluorescence *in situ* hybridization) da RBE de raios-X de 30, 80 e 120 kVp, irradiando amostras de sangue com doses de 0,05 a 3 Gy. Analisando diferentes parâmetros biológicos, para raios-X de 30 kVp, os valores estimados de RBE variaram de 1 a 8.

Entretanto, em virtude das diferenças existentes entre as células de mamíferos e de artrópodes e da faixa de doses usualmente aplicada nos programas que integram a TIE, é de se esperar que valores de RBE não unitários entre raios-X e radiação γ, como os citados anteriormente, não sejam encontrados nos procedimentos rotineiros de irradiação para TIE.

As células de dípteros são 3 a 9 vezes e de lepidópteros, 52 a 104 vezes mais radioresistentes que células de mamíferos a irradiação por raios-X (KOVAL, 1983) devido a vários mecanismos. Células de lepidópteros, por exemplo, possuem mecanismos superiores de reparo da fita de DNA e síntese não-programada de DNA (induzida por raios-X) quando comparadas a células de mamíferos (KOVAL et al., 1978; KOVAL et al., 1979). A radioresistência também aumenta com a idade do inseto. A indução de não-emergência de adultos, por exemplo, exige que os discos imaginais tenham sido danificados nos estágios anteriores de ovo ou larva (NATION et al., 1995). Com exceção das células das gônadas e algumas do trato digestivo, praticamente não ocorre mitose celular em moscas adultas (BOZUCK, 1972).

Em relação às doses, de acordo com a base de dados IDIDAS, as doses de radiação necessárias para indução de esterilidade em *Diptera* variam de 20 a 150 Gy (BAKRI et al., 2005b). Nas biofábricas de criação massal de moscas-das-frutas ao redor do mundo, a dose aplicada para indução da esterilidade varia entre 90 e 140 Gy para *C. capitata*, 70 e 80 Gy para *A. ludens*, e é de 80 Gy para *A. obliqua* no México (BAKRI et al., 2005a).

Portanto, é por isso que, no caso particular de insetos, a maioria dos estudos têm sugerido que radiação gama, elétrons de alta energia e raios-X podem ser usados nos programas que têm a TIE como componente (BUSHLAND; HOPKINS, 1951, 1953; BAUMHOVER et al., 1955; LINDQUIST, 1955; BAKRI et al., 2005a). Vários estudos também não encontraram diferença significativa entre elétrons e raios gama quanto aos efeitos letais produzidos para certas doses e estágios de desenvolvimento (HOOPER, 1971a; ADEM et al., 1978; WATTERS, 1979; DOHINO et al., 1994).

Os estudos radiobiológicos descritos neste trabalho demonstraram que não existe diferença significativa na eficiência biológica entre raios-X e γ na faixa usual de doses empregada nos programas que liberam insetos estéreis.

É necessário ressaltar que a dose absorvida é um parâmetro-chave na Técnica do Inseto Estéril e deve ser monitorada constantemente, especialmente para *A. fraterculus*. Isto porque ainda não existem linhagens sexuais genéticas para essa espécie que permitam a liberação apenas de macho estéril. A prerrogativa, neste caso, é de que deve-se escolher uma dose de radiação mínima tal que provoque 100% de esterilidade nas fêmeas. A fertilidade residual nos machos é de menor importância, porque ela simplesmente reduz a velocidade na qual a população está sendo suprimida. Já para as fêmeas irradiadas, uma fertilidade residual de 2%, por exemplo, seguindo uma razão de liberação de 100 insetos estéreis para 1 selvagem, na verdade dobraria o número de insetos da próxima geração (ROBINSON, 2005). Os diretores dos programas também devem ser encorajados a encontrar um equilíbrio entre esterilidade e competitividade, visando-se evitar uma redução na indução de esterilidade na população selvagem.

Apesar de haver algumas questões pendentes como a calibração de um sistema dosimétrico mais adequado, essa nova geração de irradiadores de raios-X pode agora atender à demanda de expansão dos programas nacionais de controle de moscas-das-frutas dos países-membros da ONU. Além disso, tais irradiadores possuem uma série de vantagens sobre os de radioisótopos, tais como melhor aceitação pública, exigências mais simples por parte das legislações nacionais, não é produzida radiação enquanto o aparelho está desligado, inexistência de rejeito radioativo, irradiação de maior quantidade de pupas (quase 20 L, enquanto que no Gammacell-220 o máximo é de 2 L), e menor custo de transporte (o transporte de uma fonte radioativa custa aproximadamente US$ 50.000, contra US$ 6.000 de um aparelho de raios-X) (IAEA, 2007).

Na Argentina, é esperada uma expansão do programa federal (PROCEM) para as áreas de citrus nos próximos anos, e Paquistão e Costa Rica já declararam interesse por esta tecnologia (PARKER et al., 2008). Uma unidade do irradiador de raios-X RS-2400 já foi adquirida pelo Brasil e deve entrar em operação no primeiro semestre de 2009 na Biofábrica MOSCAMED Brasil, a qual foi estabelecida na fronteira agrícola do semi-árido no Nordeste brasileiro com o objetivo inicial de suprimir as populações de moscas-das-frutas no Vale do rio São Francisco.

6 CONCLUSÕES

Com base nos resultados obtidos nos bioensaios de radiobiologia deste trabalho, pode-se concluir que:

1) Não existe diferença significativa na eficiência biológica relativa (RBE) entre raios-X e γ na faixa usual de doses empregada nos programas que liberam moscas-das-frutas estéreis.
2) Os parâmetros de fecundidade (de fêmeas férteis cruzadas com machos irradiados), emergência de adultos, voadores e sobrevivência não são afetados pelos dois tipos de radiação, quando as pupas de *C. capitata* e *A. fraterculus* são irradiadas de um a dois dias antes da emergência dos adultos.
3) Para moscas de uma mesma linhagem e colônia, insetos férteis e estéreis participam igualmente na formação de casais e não há indicação de diferença significativa entre raios-X e γ.

REFERÊNCIAS

ADEM, E.; WATTERS, F.L.; URIBE-RENDON, R.; DE LA PIEDAD, A. Comparison of Co-60 gamma radiation and accelerated electrons for suppressing emergence of *Sitophilus* spp. in stored maize. **Journal of Stored Products Research**, Elmsford, v. 14, p. 135-142, 1978.

ALLINGHI, A.; CALCAGNO, G.; PETIT-MARTY, N.; CENDRA, P.G.; SEGURA, D.; VERA, T.; CLADERA, J.; GRAMAJO, C.; WILLINK, E.; VILARDI, J.C. Compatibility and competitiveness of a laboratory strain of *Anastrepha fraterculus* (Diptera: Tephritidae) after irradiation treatment. **Florida Entomologist**, Gainesville, v. 90, n. 1, p. 27-32, 2007.

ALONSO, M.; PALOU, L.; RÍO, M.A. DEL; JACAS, J.A. Effect of X-ray irradiation on fruit quality of clementine mandarin cv. 'Clemenules'. **Radiation Physics and Chemistry**, Oxford, v. 76, p. 1631-1635, 2007.

BAKRI, A.; MEHTA, K.; LANCE, D.R. Sterilizing insects with ionizing radiation. In: DYCK, V.A.; HENDRICHS, J.; ROBINSON, A.S. (Ed.). **Sterile insect technique**: **principles and practice in area-wide integrated pest management**. Springer, 2005a. p. 233-269.

BAKRI, A.; HEATHER, N.; HENDRICHS, J.; FERRIS, I. Fifty Years of radiation biology in entomology: lessons learned from IDIDAS. **Annals of Entomological Society of America**, Columbus, v. 98, n. 1, p. 1-12, 2005b.

BALDEZ, L.C.G. Moscas das frutas. **Boletim de Campo**, Rio de Janeiro, v. 35, n. 247, p. 5-9, 1972.

BARNES, B.N.; EYLES, D.K. Feasibility of eradicating *Ceratitis* spp. Fruit flies from the western cape of South Africa by the sterile insect technique. In: TAN, K.H. (Ed.). **Area-wide management of fruit flies and other major insect pests**. Penang, Malaysia: University Sains, 2000. p. 449-455.

BARNES, B.N.; EYLES, D.K.; FRANZ, G. South Africa's fruit fly SIT programme: the Rex River Valley pilot project and beyond. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON

FRUIT FLIES OF IMPORTANCE ECONOMIC, 6., 2004, Stellenbosch, South Africa. **Proceedings…** Stellenbosch, South Africa, 2004. p. 131-141.

BAUMHOVER, A.H.; GRAHAM, A.J.; BITTER, B.A.; HOPKINS, D.E.; NEW, W.D.; DUDLEY, F.H.; BUSHLAND, R.C. Screwworm control through release of sterilized flies. **Journal of Economic Entomology**, College Park, v. 48, n. 4, p. 462-466, 1955.

BENTO, F. de M.M. **Influência da umidade em quatro tipos de solo no desenvolvimento pupal de *Ceratitis capitata* (Wiedemann, 1824), *Anastrepha fraterculus* (Wiedemann, 1830), do parasitóide *Diachasmimorpha longicaudata* (Ashmed, 1905) e de *Gymnandrosoma aurantianum* Lima, 1927**. 2008. 78 f. Dissertação (Mestrado) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2008.

BORECK, C.; HALL, E.J.; ZAIDER, M. X-rays may be twice as potent as g rays for malignant transformation at low doses. **Nature**, London, v. 301, p. 156-158, 1983.

BOZUCK, A. DNA synthesis in the absence of somatic cell division associated with ageing in *Drosophila subobscura*. **Experimental Gerontology**, Amsterdam, v. 7, p. 147-156, 1972.

BRENNER, D.J.; AMOLS, H.I. Enhanced risk from low-energy screen-film mammography X-rays. **British Journal of Radiology**, London, v. 62, p. 910-914, 1989.

BRENNER, D.J.; SAWANT, S.G.; HANDE, M.P.; MILLER, R.C.; ELLISTON, C.D.; FU, Z.; RANDERS-PEHRSON, G.; MARINO, S.A. Routine screening mammography: how important is the radiation-risk side of the benefit-risk equation? **International Journal of Radiation Biology**, London, v. 78, p. 1065-1067, 2002.

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

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

CACERES, C. Mass rearing of temperature sensitive genetic sexing strains in the Mediterranean fruit fly (*Ceratitis capitata)*. **Genetica**, Gravenhage, v. 116, p. 107-116, 2002.

CACERES, C.; FISHER, K.; RENDON, P. Mass rearing of the medfly temperature sensitive lethal genetic sexing strain in Guatemala. In: TAN, K.H. (Ed.). **Area-wide management of fruit flies and other major insect pests**. Penang, Malaysia: University Sains, 2000. p. 551-558.

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

CALIFORNIA DEPARTMENT OF FOOD AND AGRICULTURE. **Mediterranean fruit fly preventive release program**. Sacramento, CA: CDFA, 2002.

CALKINS, C.O.; PARKER, A.G. Sterile insect quality. In: DYCK, V.A.; HENDRICHS, J.; ROBINSON, A.S. **Sterile insect technique**: principles and practice in area-wide integrated pest management. Berlin: Springer, 2005. p. 269-296.

CARLSON, J.G. Effects of X-radiation on grasshopper chromosomes. **Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology**, New York, v. 9, p. 104-111, 1941.

CAUSE, R.; FERRON, M.; PEREAV-LEROY, P. Effects compers d´irradiations aux rayons gamma et aux Neutrons sur les organs reproducteurs de la mouche Méditerranéenne des Fruits, *Ceratitis capitata*. In: IAEA. **Isotopes and radiation in entomology**. Vienna, 1968. p. 355-363.

CAVALLORO, R.; DELRIO, G. Studi sulla radioestelizzazione de *Ceratitis capitata* e sul comportamento dell´inseto normale e sterile. **Rédia**, Firenze, v. 52, p. 511-547, 1970.

CROUSE, H.V. The differential response of male and female germ cells of *Sciara coprophila* (Diptera) to irradiation. **American Naturalist**, Chicago, v. 84, p. 195-202, 1950.

CURTIS, C.F. Induced sterility in insects. **Advances in Reproductive Physiology**, London, v. 5, p. 120-165, 1971.

DA SILVA, N.M.; SILVEIRA NETO, S.; ZUCCHI, R.A. The natural host plant of *Anastrepha* in the state of Amazonas, Brasil. In: MCPHERON, B.A.; STECK, G. (Ed.). **Fruit fly pest**: a world assessment of their biology and management. Boca Raton: St. Lucie Press, 1996. p. 353-357.

DEMEREC, M.; KAUFMANN, B.P. Time required for *Drosophila* males to exhaust the supply of mature sperm. **American Naturalist**, Chicago, v. 75, p. 366-379, 1941.

DEY, S.K.; MANNA, G.K. Differential stage sensitivity to x-rays in a bug *Physopelta schlanbuschi*. **National Academy Science Letters**, Allahabad, v. 16, p. 101-103, 1983.

DIRECCION GENERAL DE SANIDAD VEGETAL. **Campana Nacional Contra Moscas de la Fruta**. Internal report of campaign achievements. México: DGSV, SENASICA, 2002.

DOHINO, T.; TANABE, K.; HAYASHI, T. Comparison of lethal effects of electon beams and gamma rays on egg of two spotted spider mites, *Tetranychus urticae* Koch. **Research Bulletin of the Plant Protection Service**, Tokyo, v. 30, p. 69-73, 1994.

DOHINO, T.; TANABE, K. Electron beam irradiation of immature stages and adult males of two spotted spider mite, Tetranychus urticae Koch (Acari: Tetranychidae). **Research Bulletin of the Plant Protection Service**, Tokyo, v. 30, p. 27–34, 1994.

DOHINO, T.; MASAKI, S.; TAKANO, T.; HAYASHI, T. Effect of electron beam irradiation on eggs and larvae of Spodoptera litura (Fab.) (Lepidoptera: Noctuidae **Research Bulletin of the Plant Protection Service**, Tokyo, v. 32, p. 31-37, 1996.

DOHINO, T.; MATSUOKA, I.; TAKANO, T.; HAYASHI, T. Effects of electron beam irradiation on Myzus persicae (Sulzer) (Homoptera: Aphididae). **Research Bulletin of the Plant Protection Service**, Tokyo, v. 34, p. 15-22, 1998.

DYCK, V.A.; HENDRICHS, J.; ROBINSON, A.S. **Sterile insect technique: principles and practice in area-wide integrated pest management**. Berlin: Springer, 2005. 787 p.

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

ENKERLIN, D.; GARCIA, R.L.; LOPEZ, F.M. Mexico, Central and South America. In: ROBINSON, A.S.; HOOPER, G. (Ed.). **Fruit flies**: their biology, natural enemies and control. Amsterdam: Elsevier Science Publishers, 1989. chap. 2.7, p. 83-90. (World Crop Pests, 3A).

ENKERLIN, W.R. Impact of Fruit Fly Control Programmes. In: DYCK, V.A.; HENDRICHS, J.; ROBINSON, A.S. **Sterile insect technique**: principles and practice in area-wide integrated pest management. Berlin: Springer, 2005. p. 651-700.

ENKERLIN, W.R.; LOPEZ, L.; CELEDONIO, H. Increased accuracy in discrimination between captured wild unmarked and released dye-marked adults in fruit-fly sterile released programs. **Journal of Economic Entomology**, College Park, v. 89, p. 946-949, 1996.

ENTOMOLOGY UNIT ANNUAL REPORT, 2006. Effect of Methoprene and Protein on *Anastrepha fraterculus* males. Vienna: IAEA, 2006. p. 13-20.

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

FAO. **Glossary of phytosanitary terms**. Provisional additions. Rome: FAO/IPPC, 2005.

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

FDA. Irradiation in the production, processing and handling of food: final rule. **Federal Register**, Washington, v. 51, p. 13375–13399, 1986.

FDA. Irradiation in the production, processing and handling of food: final rule. **Federal Register**, Washington, v. 69, p. 76844–76847, 2004.

FLETCHER, B.S. Life history strategies of Tephritid fruit flies. In: ROBINSON, A.S.; HOOPER, G. (Ed.). **Fruit flies**: their biology, natural enemies and control. Amsterdam: Elsevier Science Publishers, 1989. chap. 8.1, p. 195-208. (World Crop Pests, 3A).

FINNEY, D.J. Probit Analysis. 3rd edition. **Cambridge University Press**., Cambridge, U.K., 1971, 315p.

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, Malaysia: University Sains, 2000. p. 543-550.

FOLLETT, P.A.; ARMSTRONG, J.W. Revised irradiation doses to control melon fly, Mediterranean Fruit Fly, and Oriental Fruit Fly (Diptera: Tephritidae) and a generic dose for Tephritid Fruit Flies. **Journal of Economic Entomology**, College Park, v. 97, n. 4, p. 1254-1262, 2004.

FRANZ, G. 'The Combi Fly Concept' Revised: how much radiation is required to sterilize males of a genetic sexing strain? In: TAN, K.H. (Ed.). **Area-wide management of fruit flies and other major insect pests**. Penang, Malaysia: University Sains, 2000. p. 511–516.

FRANZ, G. Genetic sexing strains in Mediterranean fruit fly, an example for other species amenable to large-scale rearing for the sterile insect technique. In: DYCK, V.A.; HENDRICHS, J.; ROBINSON, A.S. **Sterile insect technique**: principles and practice in area-wide integrated pest management. Berlin: Springer, 2005. p. 427-451.

FRANKENBER-SCHWAGER, M.; GARG, I.; FRANKENBERG, D.; GREVE, B.; SEVERIN, E.; UTHE, D.; GOHDE, W. Mutagenicity of low-filtered 30 kVp X-rays, mammography X-rays and conventional X-rays in cultured mammalian cells. **International Journal of Radiation Biology**, London, v. 78, p. 781-789, 2002.

GALLO, D.; NAKANO, O.; SILVEIRA NETO, S.; CARVALHO, R.P.L.; BATISTA, G.C. DE; BERTI FILHO, E.; PARRA, J.R.P.; ZUCCHI, R.A.; ALVES, S.B.; VENDRAMINI, J.D.; MARCHINI, L.C.; LOPES, J.R.S.; OMOTO, C. **Entomologia agrícola.** Piracicaba: FEALQ, 2002. 920 p.

GUILLÉN, D.; SÁNCHEZ, R. Expansion of the National Fruit Fly Control Programme in Argentina. In: VREYSEN, M.J.B.; ROBINSON, A.S.; HENDRICHS, J. **Area-wide control of insect pests, from research to field implementation**. Vienna: FAO/IAEA Programme of Nuclear Techniques in Food and Agriculture, 2007. p. 653-660.

GUTIÉRREZ, J. **La Mosca del Mediterráneo *Ceratitis capitata* (Wied.) y los factoresecológicos que favorecerian su establecimiento y su propagacion en México**. México, D.F.: Secretaría de Agricultura y Recursos Hidráulicos, Dirección General de Sanidad Vegetal, 1976. 233 p.

HENDRICHS, J.; ORTIZ, G.; LIEDO, P.; SCHWARZ, A. Six years of successful medfly program in Mexico and Guatemala. In: CAVALLORO, R. (Ed.). **Fruit flies of economic importance**. Rotterdam: A.A. Blakema, 1983. p. 353-365.

HILL, M.A. The variation in biological effectiveness of X-rays and gamma rays with energy. **Radiation Protection Dosimetry**, Ashford, v. 112, n. 4, p. 471-481, 2004.

HOOPER, G.H.S. Sterilization of the Mediterranean fruit fly: a review of laboratory data. In: IAEA. **Sterile-male technique for control of fruit flies**. Vienna, 1970. p.3-12.

HOOPER, G.H.S. Competitiveness of gamma-sterilized males of the Mediterranean fruit fly: effect of irradiating pupal or adult stages and of irradiating pupae in nitrogen. **Journal of Economic Entomology**, College Park, v. 64, p. 1364-1368, 1971a.

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

HOUSTON, W.W.K. Fluctuations in numbers and the significance of the sex ratio of *Anastrepha ludens* caught in MacPhail traps. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, Amsterdam, v. 30, p. 140-150, 1981.

HUNTER, W.D. Results of experiments to determine the effect of Roentgen rays upon insects. **Journal of Economic Entomology**, College Park, v. 5, n. 1, p. 188-192, 1912.

IAEA. **Economic evaluation of three alternative methods for control of the Mediterranean fruit fly (Diptera: Tephritidae) in Israel, Jordan, Lebanon, Syrian Arab Republic and Territories under the jurisdiction of the Palestinian Authority**. Vienna, 2001. (IAEA-TECDOC, 1265).

IAEA. **Natural and induced radioactivity in food**. Vienna, 2002. (IAEA-TECDOC, 1287).

IAEA. **Dosimetry system for SIT**: Standard operating procedure for Gafchromic film. Vienna, 2004. Disponível em: http://www.iaea.org/programmes/nafa/d4/public/d4_pbl_5_2.html. Acesso em: 10 nov. 2008.

IAEA. **Quantification of environmental benefits of medfly SIT in Madeira and their inclusion in a cost-benefit analysis**. Vienna, 2005. 63 p. (IAEA-TECDOC, 1475).

IAEA. To Our Readers. **Insect Pest Control Newsletter**, Vienna, n. 68, p. 1-3, 2007. Disponível em: http://www-pub.iaea.org/MTCD/publications/PDF/Newsletters/IPC-NL-68.pdf. Acesso em: 09 nov. 2008.

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

IHERING, H. VON. Laranjas bichadas. **Revista Agrícola**, Maceió, v. 6, p. 179-181, 1901.

INTERNATIONAL COMMISSION ON RADIOLOGICAL PROTECTION. **Recommendations of the International Commission on Radiological Protection** - Oxford: Pergamon Press, 1990. (ICRP, 60).

INTERNATIONAL IRRADIATION ASSOCIATION. Experts tackle shipment issues for beneficial radiation sources. **IIA eNewsletter**, Vienna, p.2-9, May 2008. Disponível: http://www.iiaglobal.org//index.php?mact=News,cntnt01,detail,0&cntnt01articleid=553&cntnt01returnid=182&hl=en_US. Acesso em: 10 set. 2008.

IMAMURA, T.; MIYANOSHITA, A.; TODORIKI, S.; HAYASHI, T. Usability of a soft-electron (low-energy electron) machine for disinfestation of grains contaminated with insect pests. **Radiation Physics and Chemistry**, Oxford, v. 71, p. 213-215, 2004.

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

KELLERER, A.M. Electron spectra and the RBE of X-rays. **Radiation Research**, New York, v. 158, p. 13-22, 2002.

KNIPLING, E.F. Present status and future trends of the SIT approach to the control of arthropod pests. In: IAEA. **Sterile Insect Technique and radiation in insect control**. Vienna, 1982. p. 3-23.

KOLLER, P.C.; AHMED, I.A.R.S. X-ray induced structural changes in chromosomes of *Drosophila pseudo-obscura*. **Journal of Genetics**, London, v. 44, p. 53-72, 1942.

KOVAL, T.M. Intrinsic resistance to the lethal effects of X-irradiation in insect and arachnid cells. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA**, Washington, v. 80, n. 15, p. 4752-4755, 1983.

KOVAL, O.A.; VAISERMAN, A.M.; KOSHEL, N.M.; VOITENKO, V.P. Radiation aging of *Drosophila melanogaster*. **Probl Aging Longevity,** Russia, v. 4, p. 193-202, 1994.

KOVAL, T.M.; MYSER, W.C.; HART, R.W.; HINK, W.F. Comparison of survival and unscheduled DNA synthesis between an insect and a mammalian cell line following X-ray treatments. **Mutation Research**, Amsterdam, v. 49, n. 3, p. 431-435, 1978.

KOVAL, T.M.; HART, R.W.; MYSER, W.C.; HINK, W.F. DNA single-strand break repair in cultured insect and mammalian cells after X-irradiation. **International Journal of Radiation Biology and Related Studies in Physics, Chemistry and Medicine**, London, v. 35, n. 2, p. 183-188, 1979.

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

KRUMREY, M.U.G.; SCHMID, E. Dicentric chromosomes in monolayers of human lymphocytes produced by monochromatized synchrotron radiation with photon energies from 1.83 to 17.4 keV. **Radiation and Environmental Biophysics**, Berlin, v. 43, p. 1-6, 2004.

KUMAGAI, M.; DOHINO, T. Electron beam irradiation of immature stages of leaf miner, Liriomyza trifolii (Burgess) (Diptera: Agromyzidae). **Research Bulletin of Plant Protection of Japan**, Tokyo, v. 31, p. 83-88, 1995.

LACHANCE, L.E. The induction of DLM in insects by ionizing radiation and chemicals-as related to the sterile male technique of insect control. In: WRIGHT, J.W.; PAL, R. (Ed.). **Genetics of insect vectors of disease**. Amsterdam: Elsevier, 1967. p. 617-650.

LeOra SOFTWARE. PoloPlus: **Probit and Logit Analysis. User's Guide**. Berkeley, California, 36 p., 2003.

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

LINDQUIST, D.; ENKERLIN, W. **The Chile medfly programme: a review of the programme to prevent the medfly from becoming established in Chile**. Report on expert mission. Roma: FAO, 2000. (FAO TCP CHI9066).

LITTLEFIELD, L.G.; JOINER, E.E.; HUBNER, K.F. Cytogenetic techniques in biological dosimetry: overview and example of dose estimation in 10 persons exposed to gamma radiation in the 1984 Mexican 60Co accident. In: METTLER JUNIOR, F.A.; KELSEY, C.A.; RICKS, R.C. (Ed.). **Medical management of radiation accidents**. Boca Raton: CRC Press, 1989. p. 109-126.

LUCE, W.M.; CHASE, H.B.; QUASTLER, H. Effects of graded dosage of X-rays on the production of eye facets in the bar-eyed race of *Drosophila melanogaster*. **Genetics**, Bethesda, v. 33, p. 115, 1948.

LUDWIKOW, G.; XIAO, Y.; HOEBE, R.A.; FRANKEN, N.A.P.; STAP, F.; VAN OVEN, C.H.; VAN NOORDEN, C.J.F.; ATEN, J.A. Induction of chromosme aberrations in unirradiated chromatin after partial irradiation of a cell nucleus. **International Journal of Radiation Biology**, London, v. 78, p. 239-247, 2002.

MACHADO, A.E.; SALLES, L.A.B.; LOECK, A.E. Exigências térmicas de Anastrepha fraterculus (Wied.) e estimativa do número de gerações em Pelotas, RS. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Jaboticabal, v. 24, p. 573-579, 1995.

MAMÁN, E.; CÁCERES, C. A protocol for storage and long-distance shipment of mediterranean fruit fly (Diptera: Tephritidae) eggs. II. Assessment of the optimal temperature and substrate for male-only production. **Florida Entomologist**, Gainesville, v. 90, n. 1, p. 110–114, 2007.

MANSO, F.; LIFCHITZ. Nueva metodologia genética para el mejoramiento de la eficiencia de la técnica del macho estéril en el control de la mosca Del mediterrâneo *Ceratitis capitata*. **Ciencia e Investigación**, Lima, v. 44, n. 4, p. 225-228, 1992.

MESTRES, M.; CABALLIN, M.R.; BARRIOS, L.; RIBAS, M.; BARQUINERO, J.F. RBE of X Rays of different energies: A citogenetic evaluation by FISH. **Radiation Research**, New York, v. 170, p. 93-100, 2008.

MILL, A.J.; WELLS, J.; HALL, S.C.; BUTLER, A. Micronucleus induction in human lymphocytes: comparative effects of x rays, alpha particles, beta particles and neutrons and implications for biological dosimetry. **Radiation Research**, New York, v. 145, p. 575-585, 1996.

MILWARD-DE-AZEVEDO, E.M.V.; PARRA, J.R.P. Influência da umidade em dois tipos de solo na emergência de *Ceratitis capitata* (Wied.). **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 24, n. 3, p. 321-327, 1989.

MINISTÉRIO DE AGRICULTURA Servicio Agrícola y Ganadero. **Chile**: a medfly-free country. Santiago: Government of Chile, MAG/SAG, 1995.

MORGAN, A.C.; RUNNER, G.A. Some experiments with Roentgen rays upon the cigarette beetle, *Lasioderma serricorne* Fabr. **Journal of Economic Entomology**, College Park, v. 6, p. 226-230, 1913.

MORGANTE, J.S.; MALAVASI, A.; BUSH, G.L. Biochemical systematics and evolutionary relationships of some Neotropical Anastrepha. **Annals of the Entomological Society of America**, Columbus, v. 73, p. 622-630, 1980.

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

MULLER, H.J. Artificial transmutation of the gene. **Science**, Washington, v. 66, p. 84-87, 1927.

NATION, J.L.; SMITTLE, B.J.; MILNE, K.; DYKSTRA, T.M. Influence of irradiation on development of caribbean fruit fly (Diptera: Tephritidae) larvae. **Annals of the Entomological Society of America**, Columbus, v. 88, n. 3, p. 348-352, 1995.

NIKJOO, H.; GOODHEAD, D.T. Track structure analysis illustrating the prominent role of low energy electrons in radiobiolical effects of low-LET radiations. **Physics in Medicine and Biology**, Bristol, v. 36, p. 229-238, 1991.

PAIVA, P.E.B. **Moscas-das-frutas em citros: densidade de armadilhas para monitoramento, efeito de pH na atração e determinação do nível de controle**. 2004. 48 f. Dissertação (Mestrado em Entomologia) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2004.

PARKER, A.G. Mass-rearing for Sterile Insect Release. In: DYCK, V.A.; HENDRICHS, J.; ROBINSON, A.S. **Sterile insect technique**: principles and practice in area-wide integrated pest management. Berlin: Springer, 2005. p. 209-233.

PARKER, A.G.; MEHTA, K. Sterile insect technique: A model for dose optimization for improved sterile insect quality. **Florida Entomologist,** Gainesville, v. 90, n. 1, p. 88-95, 2007.

PARKER, A.G.; JESSUP, A.; MEHTA, K.; MEMON, R.; MASTRANGELO, T.; RUI PEREIRA, R.; HENDRICHS, J. Assessment of X-ray irradiation for fruit fly sterilization. In: MEETING OF THE WORKING GROUP ON FRUIT FLIES OF THE WESTERN HEMISPHERE, 7., 2008, Mazatlán, Sinaloa, Mexico. **Presentation…** Mazatlán, Sinaloa, Mexico, 2008.

PRATES, H.S. Importância das moscas dos frutos na citricultura. **Correio Agrícola**, São Paulo, v. 2, p. 254-257, 1980.

REDDY, P.V.R.; TODORIKI, S.; MIYANOSHITA, A.; IMAMURA, T.; HAYASHI, T. Effect of soft electron treatment on adzuki bean weevil, *Callosobruchus chinensis* (L.) (Col., Bruchidae). **Journal of Applied Entomology**, Hamburg, v. 130, n. 6/7, p. 393-399, 2006.

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

ROBINSON, A.S. Genetic basis of the Sterile Insect Technique. In: DYCK, V.A.; HENDRICHS, J.; ROBINSON, A.S. **Sterile insect technique**: principles and practice in area-wide integrated pest management. Berlin: Springer, 2005. p. 95-114.

RULL, J.; REYES, J.; ENKERLIN, W. The Mexican fruit fly eradication campaign: Largest fruit fly industrial complex in the world. In: MCPHERON, B.A.; STECK, G. (Ed.). **Fruit fly pests**: a world assessment of their biology and management. Delray Beach, Florida: St. Lucie Press, 1996. p. 561-563.

RULL, J.; DIAZ-FLEISCHER, F.; ARREDONDO, J. Irradiation of *Anastrepha ludens* (Diptera: Tephritidae) Revisited: Optimizing Sterility Induction. **Journal of Economic Entomology**, College Park, v. 100, n. 4, p. 1153-1159, 2007.

RUNNER, G.A. Effect of Roentgen rays on the tobacco, or cigarette, beetle, and the results of experiments with a new form of Roentgen tube. **Journal of Agricultural Research**, Washington, v. 6, n. 2, p. 383-388, 1916.

SACCHI, L.; GRIGOLO, A.; CAPROTTI, M.; PINELLI, T.; GASPERI, G.; ALTIERI, S. Mortality and Sterility induced in *Piophila casei* by X-ray and neutron irradiation. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, Amsterdam, v. 22, p. 60-70, 1977.

SALLES, L.A.B. Metodologia de criação de *Anastrepha fraterculus* (Wied., 1830) (Diptera: Tephritidae) em dieta artificial em laboratório. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Jaboticabal, v. 21, n. 3, p. 479-486, 1992.

SCHMID, E.; RIMPL, G.; BAUCHINGER, M. Dose-response relation of chromosome aberrations in human lymphocytes after in vitro irradiation with 3-MeV electrons. **Radiation Research**, New York, v. 57, n. 2, p. 228-238, 1974.

SECRETARIA DE AGRICULTURA GANADERIA Y DESAROLLO RURAL /Instituto Interamericano de Cooperacion para la Agricultura**. Campana Nacional Contra Moscas de la Fruta**. Ciudad de Mexico, Mexico: Government of México, SAGAR/IICA, 2001.

SECRETARIA DE AGRICULTURA, GANADERIA, DESAROLLO RURAL, PESCA Y ALIMENTACION. **Diário Oficial de la Federación**, Ciudad de México, D.F., México 17 de abril de 2001. 1ª seccion.

STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM. **SAS Version 9.1**. Cary, NC: SAS Institute Inc., 2003.

SHIVAGI, S.; RASTOGI, S.C. X-ray induced changes in the activities of acid and alkaline phosphatase in *Periplaneta americana*. **Current Science**, Bangalore, v. 43, p. 757-758, 1974.

SLONINA, D.; SPEKL, K.; PANTELEEVA, A.; BRANKOVIC, K.; HOINKIS, C.; DORR, W. Induction of micronuclei in human fibroblasts and keratinocytes by 25 kV x-rays. **Radiation and Environmental Biophysics**, Berlin, v. 42, p. 55-61, 2003.

SOUZA, H.M.L.; CYTRYNOWICZ, M.; MORGANTE, J.S.; PAVAN, O.H.O. Occurrence of *Anastrepha fraterculus* (Wied.), *Ceratitis capitata* (Wied.) and *Silba* spp. eggs in oviposition bores on three host fruit. **Revista Brasileira de Entomologia**, Curitiba, v. 27, p. 191-195, 1983.

SOUZA, H.M.L.; MATIOLI, S.R.; SOUZA, W.N. The adaptation process of *Ceratitis capitata* to the laboratory: analysis of lifehistory traits. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, Amsterdam, v. 49, p. 195-201, 1988.

STECK, G.J. Taxonomic status of *Anastrepha fraterculus*. In: IAEA. **The South American Fruit Fly, *Anastrepha fraterculus* (Wied.)**; advances in artificial rearing, taxonomic status and biological studies. Vienna: IAEA, 1998. p. 13-20. (IAEA-TECDOC, 1064).

TEN years of NAFTA. **The Economist**, London, 3 January 2004. Disponível em: http://www.economist.com/displayStory.cfm?Story_ID=E1_NPTNJND. Acesso em: 09 ago. 2008.

TOLEDO, J.; RULL, J.; OROPEZA, A.; HERNANDEZ, E.; LEIDO, P. Irradiation of Anastrepha obliqua (Diptera: Tephritidae) revisited: optimising sterility induction. **Journal of Economic Entomology**, College Park, v. 97, p. 383-389, 2004.

UNDERBRINK, A.; KELLERER, A.; MILLS, R.; SPARROW, A. Comparison of x Ray and gamma-ray dose-response curves for RBE determinations at high and low doses in *Tradescantia* clone 02. **Radiation and Environmental Biophysics**, Berlin, v. 13, p. 295-303, 1976.

USDA. Animal and Plant Health Inspection Service. **Risk assessment**: Mediterranean fruit fly. Riverdalle, 1992.

USDA. Treatments for fruits and vegetables: final rule. **Federal Register**, Washington, v. 71, p. 4451-4464, 2006.

VAISERMAN, A.M.; KOSHEL, N.M.; LITOSHENKO, A.Y.; MOZZHUKHINA, T.G.; VOITENKO, V.P. Effects of X-irradiation in early ontogenesis on the longevity and amount of the S1 nuclease-sensitive DNA sites in adult *Drosophila melanogaster*. **Biogerontology**, Berlin, v. 4, p. 9-14, 2003.

VERA, M.T.; ABRAHAM, S.; OVIEDO, A.; WILLINK, E. Demographic and quality control parameters of *Anastrepha fraterculus* (Diptera: Tephritidae) maintained under artificial rearing. **Florida Entomologist**, Gainesville, v. 90, p. 53-57, 2007.

VIRSIK, R.P.; GOODHEAD, D.T.; COX, R.; THACKER, J.; SCHAFER, C.; HARDER, D. Chromosome aberrations induced in human lymphocytes by ultrasoft AlK and CK X-rays. **International Journal of Radiation Biology**, London, v. 38, p. 545-557, 1980.

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

WALDER, J.M.M. Técnica do Inseto Estéril - Controle biológico. In: MALAVASI, A.; ZUCCHI, R.A. (Ed.). **Moscas-das-frutas de importância econômica no Brasil**. Conhecimento básico e aplicado. Ribeirão Preto: Holos, 1999. p. 151-158.

WALDER. J.M.M.; COSTA, M.L.Z.; MASTRANGELO, T.A. 2006. Developing mass rearing system for *Anastrepha fraterculus* and *Anastrepha obliqua* for future SIT-AWIPM procedures in Brazil. In: RCM OF FAO/IAEA, 2., 2006, Salvador, Bahia. **Progress Report…** Vienna: IAEA, 2006. 6 p.

WALDER, J.M.M.; ALCARDE, L.D.; COSTA, M.L.Z.; LOPES, L.A.; MASTRANGELO, T.A. Developing mass rearing system for *Anastrepha sp.1 aff. fraterculus f*or future SIT-AWIPM procedures in Brazil. In: RCM OF FAO/IAEA, 3., 2007, Valencia, Espanha. **Progress Report...** Vienna: IAEA, 2007. 8 p.

WALDER, J.M.M.; COSTA, M.L.Z.; ALCARDE, L.D.; COSTA, K.Z.; CANALE, R.A.; MASTRANGELO, T. de A.; LOPES, L.A.; KAMIYA, A.C. Desenvolvimento de sistema de criação massal para *Anastrepha fraterculus* (Diptera: Tephritidae) no Brasil. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENTOMOLOGIA, 22., 2008, Uberlândia. **Resumos…** Uberlândia: SBE, 2008. 1 CD-ROM.

WATTERS, F.L. Potential of accelerated electrons for insect control in stored grain, pp.278-286. In: INTERNATIONAL WORKING CONFERENCE ON STORED-PRODUCT ENTOMOLOGY, 2., 1978, Ibadan, Nigeria. **Proceedings…** Manhattan, KS: IWCSSP, 1979.

WHITE, M.J.D. Effects of X-rays on first meiotic division in three species of Orthoptera. **Proceedings of the Royal Society of London. Series B**, London, v. 124, p.183-196, 1937.

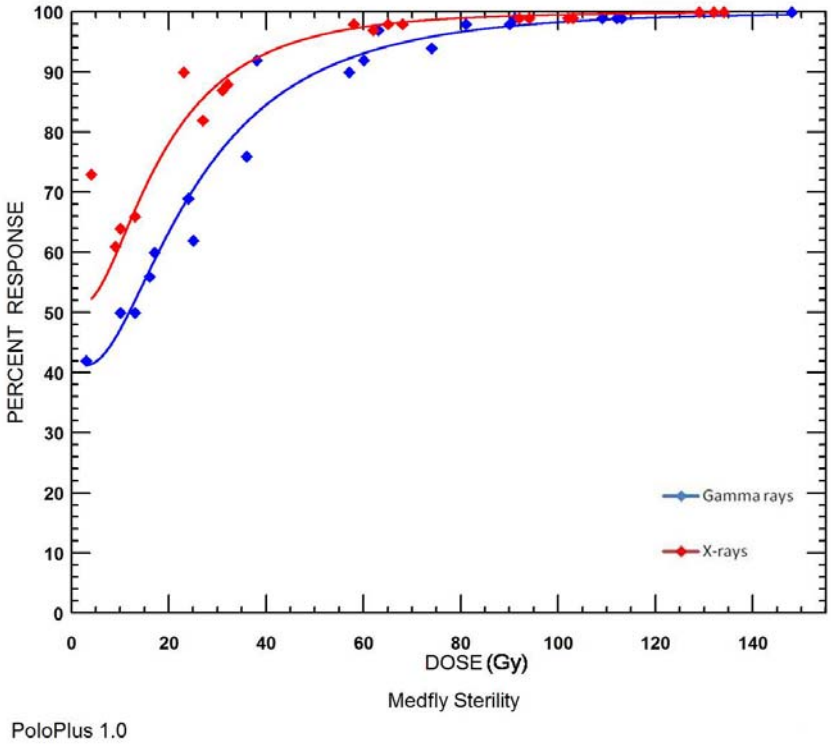
WHITING, P.W. Decrease in biparental males by x-raying sperm in *Habrobracon*. **Proceedings of the National Academy of Science of the USA**, Washington, v. 12, p. 74-76, 1938.

WHO. **High-dose irradiation**: wholesomeness of food irradiated with doses above 10 kGy. Geneva: FAO/IAEA/WHO, 1999. (Technical Report Series, 890).

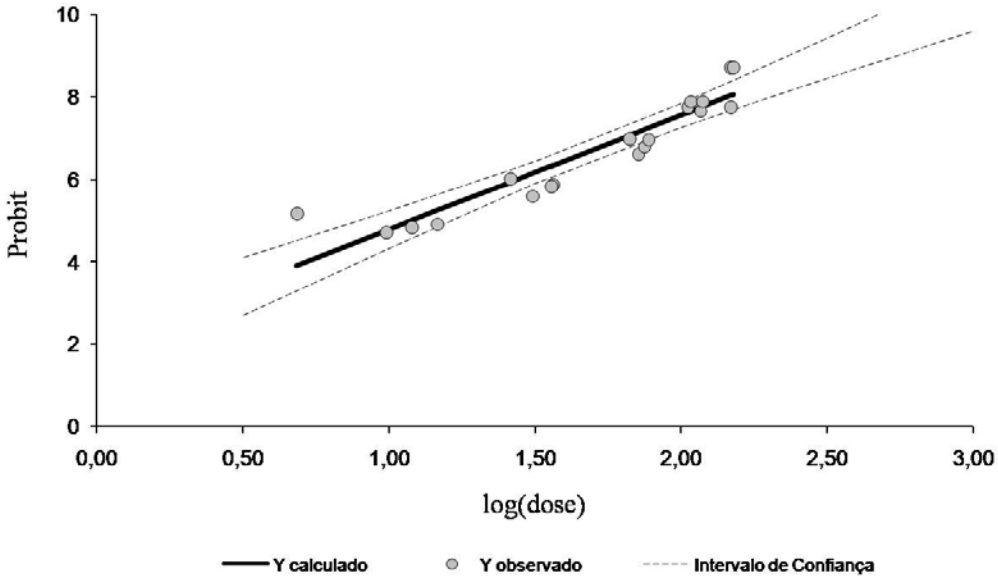
ZUCCHI, R.A. Mosca-do-mediterrâneo, *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae). In: VILELA, E.F.; ZUCCHI, R.A.; CANTOR, F. (Ed.). **Histórico e impacto das pragas introduzidas no Brasil**. Ribeirão-Preto: Holos, 2001. p. 15-23.

ANEXOS

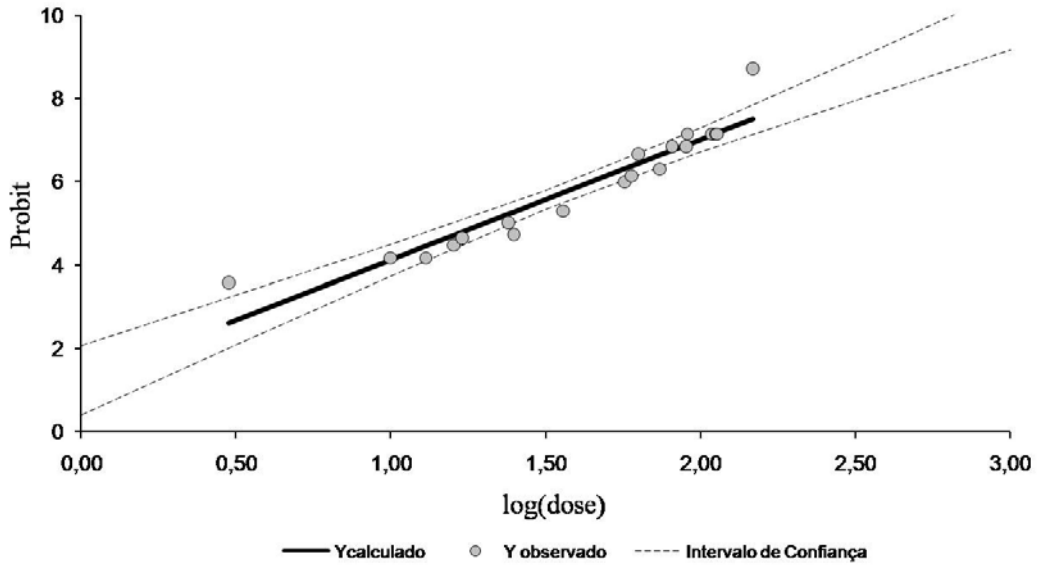
ANEXO A – Curvas estimadas de esterilidade para machos irradiados de *C. capitata.*



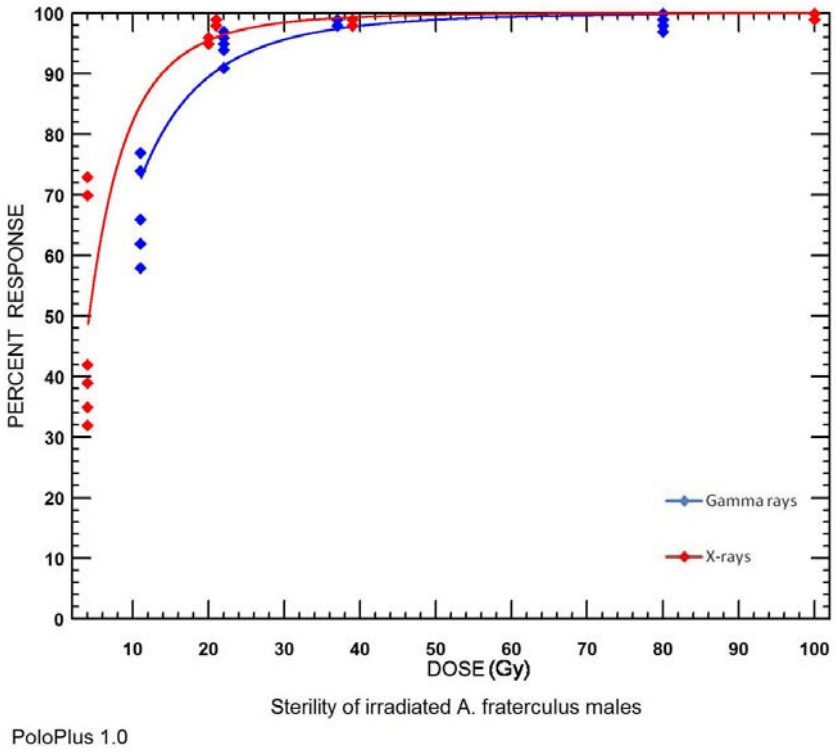
ANEXO B – Próbites estimados e observados da esterilidade de machos de *C. capitata* irradiados com raios-X e o intervalo de confiança (95%).



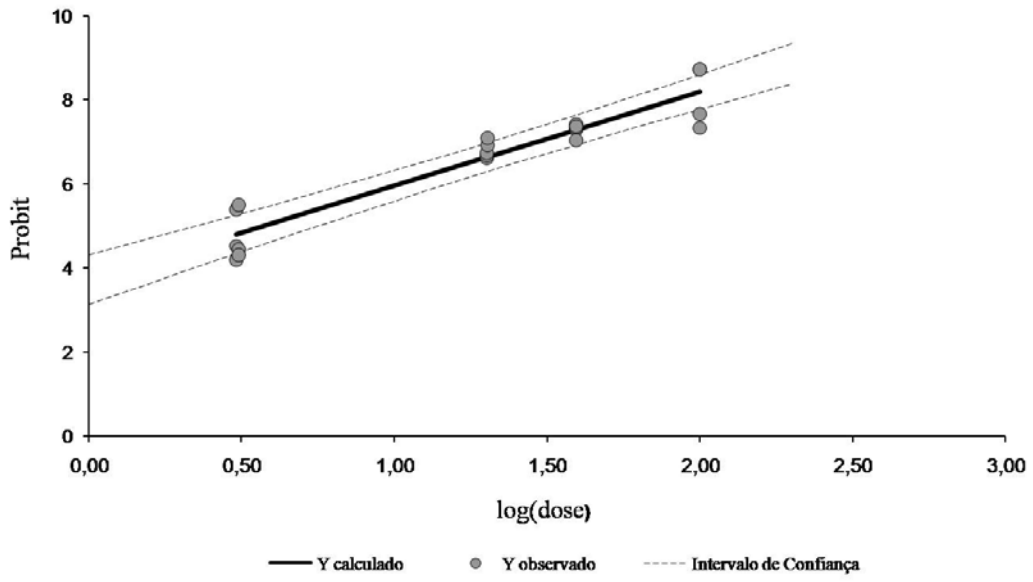
ANEXO C – Próbites estimados e observados da esterilidade de machos de *C. capitata* irradiados com raios γ e o intervalo de confiança (95%).



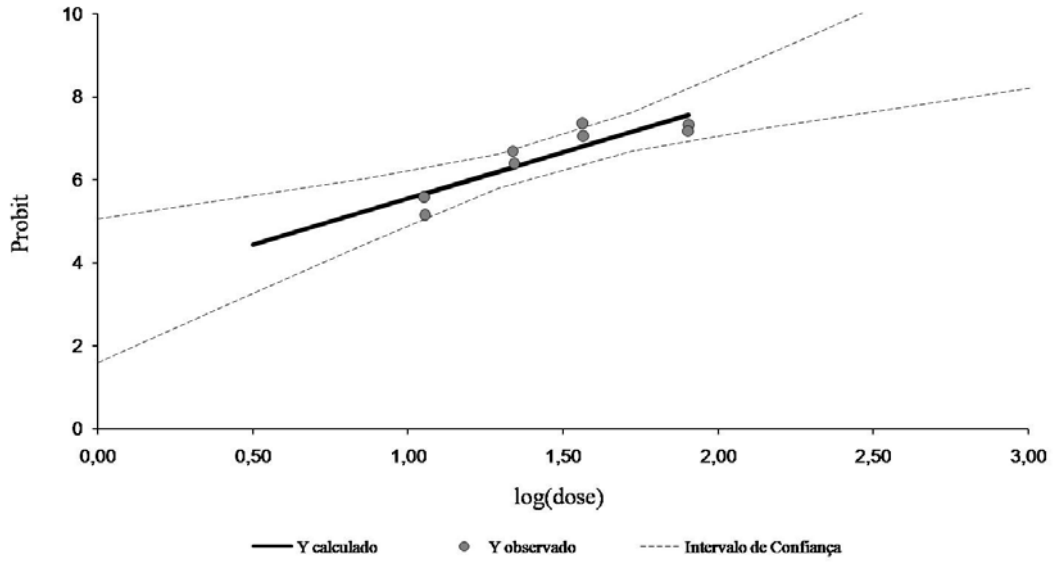
ANEXO D – Curvas estimadas de esterilidade para machos irradiados de *A. fraterculus.*



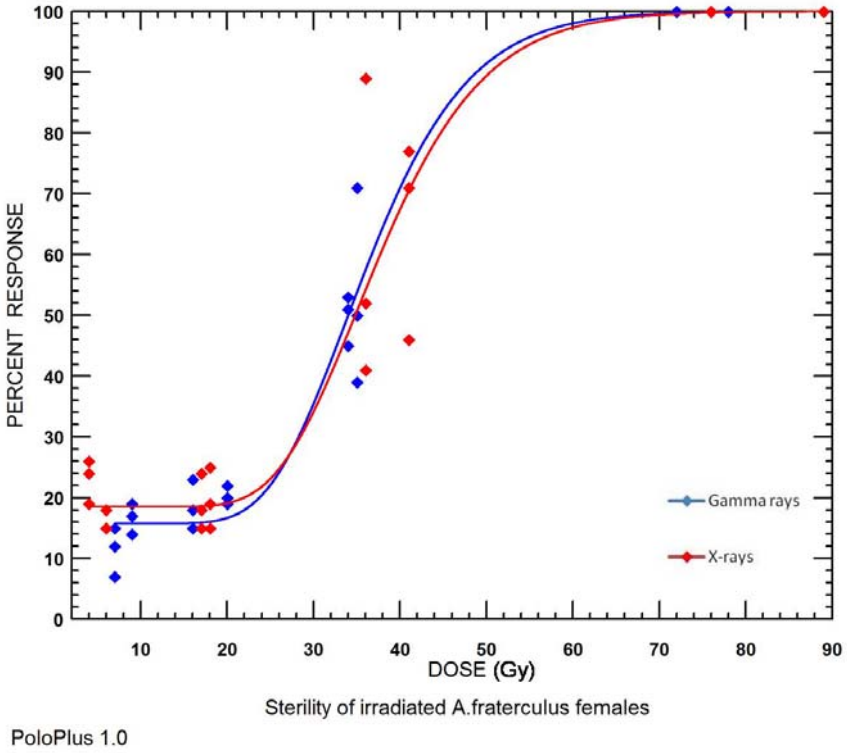
ANEXO E – Próbites estimados e observados da esterilidade de machos de *A. fraterculus* irradiados com raios-X e o intervalo de confiança (95%).



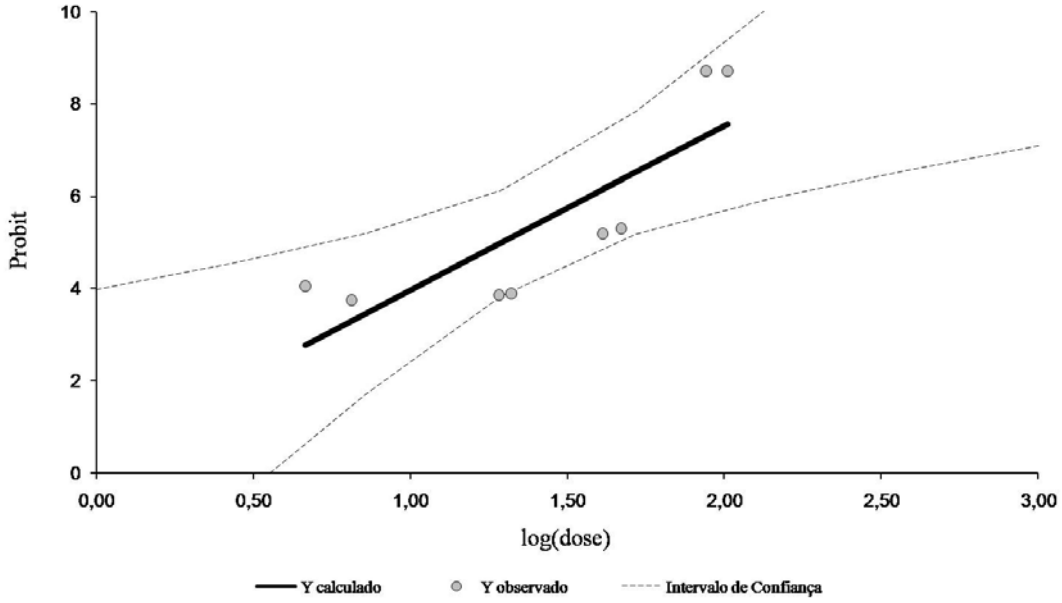
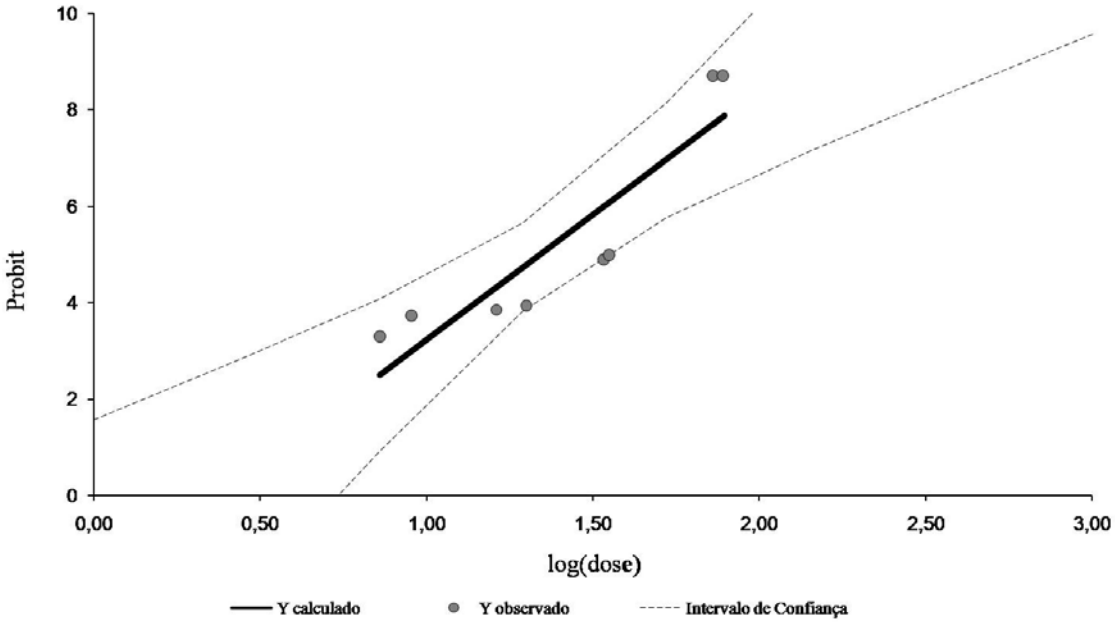
ANEXO F – Próbites estimados e observados da esterilidade de machos de *A. fraterculus* irradiados com raios γ e o intervalo de confiança (95%).



ANEXO G – Curvas estimadas de esterilidade para fêmeas irradiadas de *A. fraterculus.*



ANEXO H – Próbites estimados e observados da esterilidade de fêmeas de *A. fraterculus* irradiadas com raios-X e o intervalo de confiança (95%).



ANEXO I – Próbites estimados e observados da esterilidade de fêmeas de *A. fraterculus* irradiadas com raios γ e o intervalo de confiança (95%).