

Controle para o estabelecimento de colônias de *Anastrepha obliqua* e *A. fraterculus* (Diptera: Tephritidae) com base em características morfológicas externas



ISSN 1809-5003

Janeiro, 2015

*Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Embrapa Mandioca e Fruticultura
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento*

Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento 64

**Controle para o estabelecimento
de colônias de *Anastrepha
obliqua* e *A. fraterculus*
(Diptera: Tephritidae) com base
em características morfológicas
externas**

Alzira Kelly Passos Roriz

Maiara Alexandre Cruz

Iara Sordi Joachim Bravo

Denise Selivon

Antonio Souza do Nascimento

Embrapa Mandioca e Fruticultura
Cruz das Almas, BA
2015

Embrapa Mandioca e Fruticultura

Rua Embrapa - s/n, Caixa Postal 007
44380-000, Cruz das Almas, Ba
Fone: (75) 3312-8048
Fax: (75) 3312-8097
www.embrapa.br/mandioca-e-fruticultura

Unidade responsável pelo conteúdo e edição:

Embrapa Mandioca e Fruticultura

Comitê de Publicações da Unidade

Presidente: *Aldo Vilar Trindade*

Secretária-executiva: *Maria da Conceição Pereira Borba dos Santos*

Membro: *Antonio Alberto Rocha Oliveira*

Áurea Fabiana Apolinário de Albuquerque

Cláudia Fortes Ferreira

Herminio Souza Rocha

Jacqueline Camolese de Araujo

Marcio Eduardo Canto Pereira

Tullio Raphael Pereira Pádua

Léa Ângela Assis Cunha

Lucidalva Ribeiro Gonçalves Pinheiro

Supervisão editorial: *Aldo Vilar Trindade*

Revisão de texto: *Antonio Alberto Rocha Oliveira, Marilene*

Fancelli, Nilton Fritzens Sanches

Normalização bibliográfica: *Lucidalva Ribeiro Gonçalves Pinheiro*

Editoração e tratamento de imagem: *Maria da Conceição Pereira Borba dos Santos*

Fotos da Capa: *Alzira Kelly Passos Roriz*

1ª edição

Versão online (2015).

Todos os direitos reservados

A reprodução não autorizada desta publicação, no todo ou em parte, constitui violação dos direitos autorais (Lei nº 9.610).

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Embrapa Mandioca e Fruticultura

Controle para o estabelecimento de colônias de *Anastrepha obliqua* e *A. fraterculus* (Diptera: Tephritidae) com base em características morfológicas externas. / Alzira Kelly Passos Roriz... [et al.]. – Dados eletrônicos. – Cruz das Almas: Embrapa Mandioca e Fruticultura, 2015. – (Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento / Embrapa Mandioca e Fruticultura, ISSN 1809-5003; 64).

Sistema requerido: Adobe Acrobat Reader.

1. Mosca das frutas; 2. *Anastrepha*. 3. *Anastrepha fraterculus*. I. Roriz, Alzira Kelly Passos. II. Cruz, Maiara Alexandre. III. Bravo, Iara Sordi Joachim. IV. Selivon, Denise. V. Nascimento, Antonio Souza do. VI. Título. VII. Série.

CDD 634.049 (21 ed.)

© Embrapa 2015

Sumário

Resumo	5
Abstract	7
Introdução	9
Material e Métodos	10
Resultados e Discussão	11
Considerações Finais	17
Referências	18

Controle para o estabelecimento de colônias de *Anastrepha obliqua* e *A. fraterculus* (Diptera: Tephritidae) com base em características morfológicas externas

*Alzira Kelly Passos Roriz*¹

*Maiara Alexandre Cruz*²

*Iara Sordi Joachim Bravo*³

*Denise Selivon*⁴

*Antonio Souza do Nascimento*⁵

Resumo

As espécies *Anastrepha obliqua* e *A. fraterculus* são prevalentes nos polos de fruticultura do Brasil, e causam danos econômicos a fruticultura nacional. A criação destas espécies de moscas-das-frutas em laboratório se faz necessária para aprofundamento do conhecimento para fins práticos. O objetivo deste trabalho foi criar uma padronização metodológica para o controle na implementação de colônias puras de *A. obliqua* e *A. fraterculus*. Com esse intuito, foram eleitas, com base em bibliografias taxonômicas de moscas-das-frutas, características morfológicas externas que possam favorecer a purificação dos parentais das colônias. O protocolo foi criado a partir da implementação de colônias no laboratório de entomologia da Embrapa Mandioca e fruticultura e no Laboratório de Ecologia e Nutrição de Insetos (LENI-UFBA).

Palavras-chave: Moscas-das-frutas, taxonomia, criação de insetos

¹Bióloga, mestre em Ecologia e Biomonitoramento, Bolsista CAPES, vinculada ao Laboratório de Ecologia Nutricional de Insetos (LENI-UFBA), Salvador, BA.

²Engenheira-agrônoma, Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Cruz das Almas, BA.

³Bióloga, doutora em Psicobiologia, professora associada da Universidade Federal da Bahia, Salvador, BA.

⁴Bióloga, doutora em Biologia Genética, professora associada 2 do Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo, São Paulo, SP.

⁵Engenheiro-agrônomo, Doutor em Ciências Agronômicas, pesquisador da Embrapa Mandioca e Fruticultura, Cruz das Almas, BA.

Standardized procedure for controlling the implementation of pure colonies of *Anastrepha obliqua* and *A. fraterculus* (Diptera: Tephritidae) based on external morphological characteristics

Abstract

The *Anastrepha obliqua* and *A. fraterculus* are species that cause economic damage to national fruit production. The creation of these species in the laboratory is necessary to deepen our knowledge of these pests and for practical purposes. The objective was to create a standardized procedure for controlling the implementation of pure colonies of *A. obliqua* and *A. fraterculus*. With this proposal, external morphological characteristics, were elected based on taxonomic bibliographies of the fruit flies, that may facilitate the purification of parental colonies. The protocol was created from the implementation of colonies in the Entomology Laboratory of the Embrapa Cassava & Fruits and Ecology and Insects Nutrition Laboratory (LENI-UFBA).

Keywords: Fruit fly pests, taxonomy, insect rearing

Introdução

O gênero *Anastrepha* é um amplo táxon de tefritídeos de distribuição tropical e subtropical (Aluja, 1994). Trata-se de um gênero que contém espécies que causam grandes prejuízos à fruticultura nacional (Malavasi et al., 1980). Dentre essas, quatro destacam-se quanto à importância econômica no Brasil: *A. obliqua* Macquart (1835), *A. fraterculus* (Wied., 1830), *A. zenildae* Zucchi, 1979 e *A. sororcula* Zucchi, 1979 (Nascimento et al., 1993). As fêmeas ovipositam no fruto e quando as larvas eclodem se alimentam da polpa deste, prejudicando sua viabilidade de comercialização (Fletcher, 1989). Na Bahia, *A. obliqua* se destaca quanto à grande abundância na região, atacando frutos da família Anacardiaceae (Nascimento et al, 2000).

As recentes estratégias de manejo integrado de moscas-das-frutas necessitam de uma criação massal para a implementação do controle biológico. A colonização de uma determinada espécie em laboratório pode servir a vários propósitos que vão desde pesquisa básica até extensos programas de controle, como por exemplo, a técnica do inseto estéril (TIE).

Alguns frutos são hospedeiros de várias espécies de *Anastrepha* (Zucchi, 2013), especialmente frutos das famílias Anacardiaceae e Myrtaceae, para as espécies *A. obliqua* e *A. fraterculus*, respectivamente. Por conseguinte, a introdução de espécimes a partir de frutos infestados coletados no campo pode trazer espécies indesejadas para a instalação de colônias dessas espécies, resultando em colônias mistas.

A identificação taxonômica de espécies de *Anastrepha* é feita mediante eversão do ovipositor da fêmea (Zucchi, 2000). Entretanto, como esse procedimento resulta na morte do indivíduo, não pode ser utilizado para purificação de colônias de moscas-das-frutas.

Assim, o objetivo deste trabalho foi implementar uma padronização metodológica para a manutenção da pureza de criações de *A. obliqua* ou *A. fraterculus*, mantidas em laboratório a partir de coletas de frutos infestados.

Material e Métodos

A padronização metodológica foi realizada com moscas coletadas em goiabas infestadas do campo, da região de Conceição do Almeida-BA. Foram eleitas, com base em bibliografias taxonômicas de moscas-das-frutas (Aluja & Norrbom, 1994; Malavasi & Zucchi, 2000), características morfológicas externas que poderiam favorecer a purificação dos parentais das colônias. O protocolo de controle foi criado a partir da implementação de colônias de *Anastrepha* no laboratório de entomologia da Embrapa Mandioca e fruticultura e no laboratório de Ecologia Nutricional de Insetos-UFBA. Para a purificação dos parentais, tomou-se por base os aspectos morfológicos que caracterizam a família Tephritidae/espécie, como coloração, manchas no subscutellum e/ou o mediotergito, e características nas asas.

Para aplicar e validar o protocolo metodológico as moscas coletadas em campo com idade média de cinco dias, foram individualizadas em tubos de ensaios e analisadas de acordo com o protocolo desenvolvido para a padronização no estabelecimento de colônias puras de *Anastrepha obliqua* e *A. fraterculus*.

Resultados e Discussão

O protocolo para o estabelecimento de colônias puras de *Anastrepha obliqua* e *A. fraterculus* se baseou em três etapas: (1) implementação da colônia; (2) verificação da purificação; (3) manutenção da purificação. As características apontadas como diagnóstico para identificação das espécies estão descritas na Tabela 1.

Tabela 1. Principais caracteres morfológicos para identificação taxonômica de moscas-das-frutas.

Classificação Taxonômica	Sinapomorfias	Referência
Família: Tephritidae	- Nervura Sc termina apicalmente em ângulo reto	- McAlpine (1989)
Gênero: <i>Anastrepha</i>	- Faixas no mesonoto, mediotergito e/ou subescutelo com ou sem manchas escuras; - Asas com faixa costal, "S" e faixa "V" invertidas, as quais variam formando padrões alares que distinguem espécies (Fig. 1)	- Zucchi (2000)
Grupo: <i>Fraterculus</i>	- Maior parte do corpo amarela ou laranja; o subescutelo e/ou o mediotergito pode ter uma mancha característica castanha escura lateral (Fig. 2).	- Norrbom, et al. (1999)

Implementação da colônia

Todos os frutos, infestados, oriundos do campo, foram separados em sala independente da criação já estabelecida no laboratório. Após emergência dos adultos selvagens, estes foram sexados antes de atingirem a maturação sexual, evitando assim a formação de indesejados híbridos. Todos os adultos emergidos foram identificados antes do estabelecimento dos indivíduos fundadores da colônia (parentais). Os espécimes a serem avaliados foram individualizados

em tubos de ensaio e colocados sob gelo, visando imobilizá-los, e só então se iniciou a identificação dos caracteres, com o auxílio de um estereomicroscópio. Após a triagem e separação dos exemplares por família Tephritidae, gênero *Anastrepha* e grupo *fraterculus* (Tabela 1), foi realizada a identificação das espécies para separação entre *A. obliqua* e *A. fraterculus* (Tabela 2) (Figuras 1, 2, 3, 4, 5 e 6). Os indivíduos do mesmo sexo que foram caracterizados como de uma determinada espécie eram colocados em uma gaiola com outros espécimes semelhantes, para posteriormente compor os parentais da colônia.

Tabela 2. Caracteres morfológicos distintos entre *A. obliqua* e *A. fraterculus*.

	<i>A. obliqua</i>	<i>A. fraterculus</i>	Referências
Asa	- Ramo distal da banda "V" geralmente descontínuo e presença de curvatura na base do ramo proximal (Fig. 3).	- Ramo distal da banda "V" geralmente contínuo (Fig. 4).	Zucchi (2000)
Subescutelo	- Sem mancha (Fig. 5).	- Com mancha escura (Fig. 6).	
Mediotergito	- Presença de mancha "desbotada" ou com contornos maldefinidos	- Presença de mancha bem definida	Figueiredo et al. (2013)
Ovos	- Possui, em seu polo anterior, a projeção coriônica com aeropilas agrupadas no ápice, que é chamado de apêndice respiratório (Fig. 7) (Murillo e Jiron 1994).	- Pode ou não possuir uma pequena extensão do córion no polo anterior, conhecido como "pequena papila" (Fig. 7).	Selivon e Perondini (1998) Figueiredo et al. (2013)

Foto: Alzira Kelly Passos Roriz



Foto: Alzira Kelly Passos Roriz



Figura 1. Fêmea de *Anastrepha fraterculus*. **Figura 2.** Fêmea de *Anastrepha obliqua*.

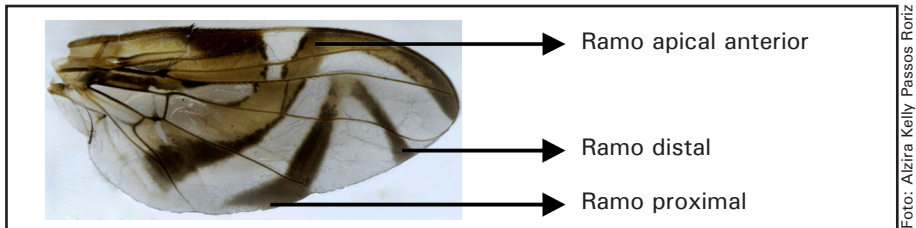


Foto: Alzira Kelly Passos Roriz

Figura 3. Padrão da asa de *Anastrepha fraterculus*. Ramo distal da banda "V" geralmente contínuo.

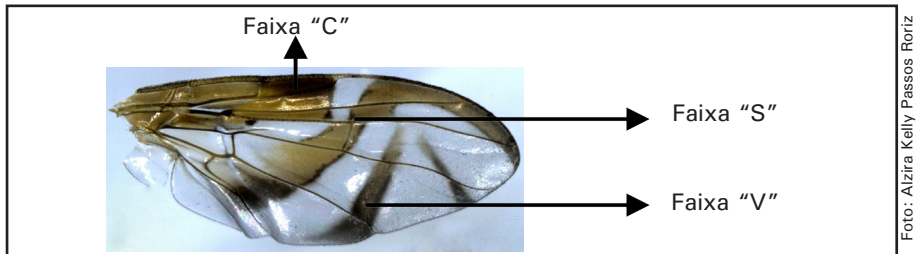


Foto: Alzira Kelly Passos Roriz

Figura 4. Padrão da asa de *Anastrepha obliqua*. Ramo distal da banda "V" geralmente descontínuo e presença de curvatura na base do ramo proximal.

Foto: Alzira Kelly Passos Roriz

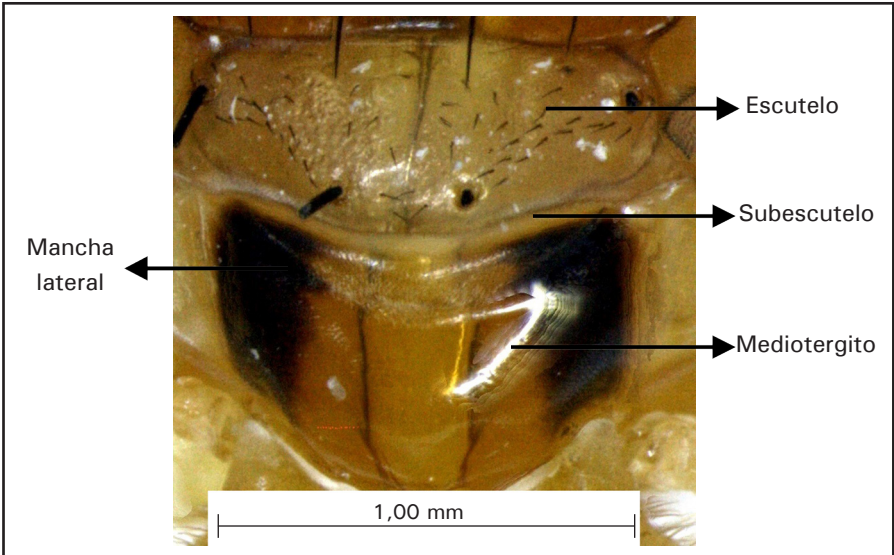


Figura 5. Subcutellum de *Anastrepha fraterculus*. Mancha lateral negra sob o mediotergito e subescutelo.

Foto: Alzira Kelly Passos Roriz

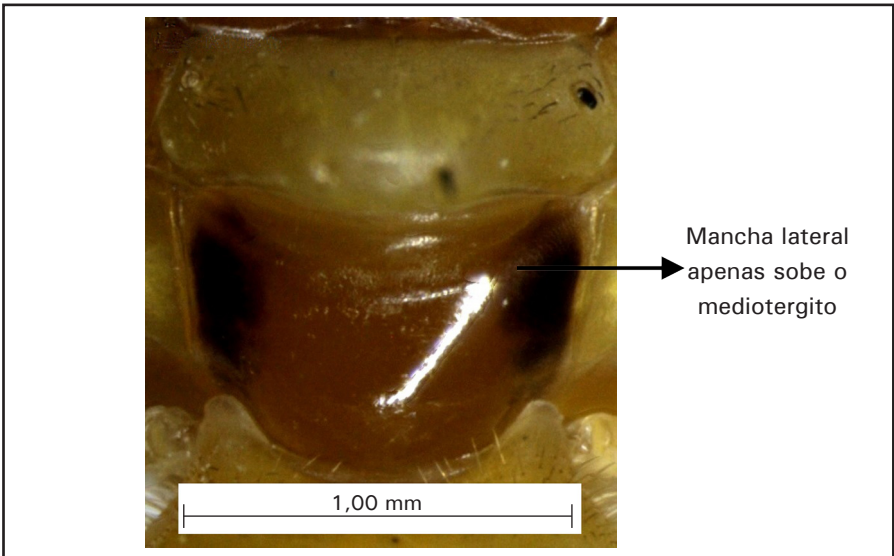


Figura 06. Subcutellum de *Anastrepha obliqua* sem macha lateral.

Foto: Alzira Kelly Passos Roriz

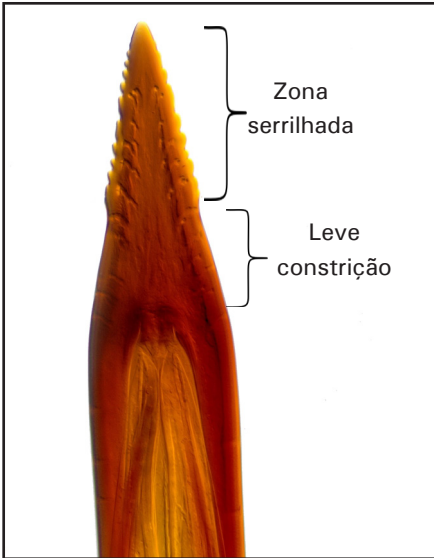


Figura 07. Genitália de *Anastrepha fraterculus*. Ápice do acúleo com distinta constrição antes das serras, dentes sobre metade do ápice do acúleo.

Foto: Alzira Kelly Passos Roriz

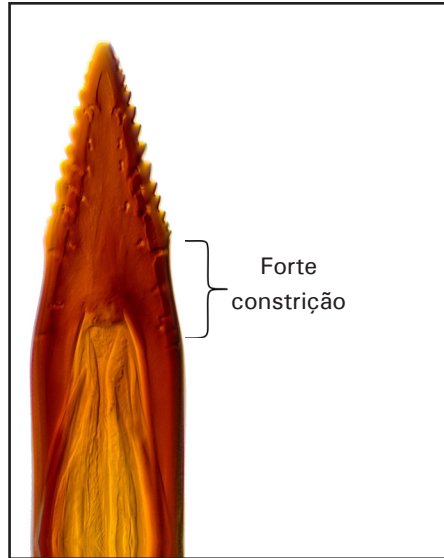


Figura 08. Genitália de *Anastrepha obliqua*. Ápice do acúleo com constrição moderada antes das serras, dentes agudos sobre mais da metade do ápice do acúleo.



Figura 09. Ovo de *Anastrepha obliqua* mostrando apêndice respiratório (direita), ovo de *Anastrepha fraterculus* mostrando ausência do apêndice respiratório (esquerda) - (Aumento de 35x).

Foto: Maiara Alexandre Cruz

Verificação da purificação

Para confirmar a caracterização, foi realizada a análise do ápice do ovipositor (ver Zucchi, 2000) de pelo menos cinco fêmeas (Figuras 7 e 8). Além disso, para confirmar a caracterização das colônias, ao atingirem idade de maturação, foi fornecido as fêmeas substratos artificiais confeccionados em ágar 2% corados com corante alimentício (anilina) vermelha para a coleta de ovos (Boller, 1968). Os ovos coletados foram analisados sob estereomicroscópio (Figura 9).

Após a verificação da uniformidade de espécimes dentro de cada grupo formado, os machos e fêmeas das respectivas espécies foram utilizados para a formação da colônia parental.

Manutenção da purificação

Para manter a purificação da colônia faz-se necessário que não ocorra contaminação com outras populações de espécies distintas. Devendo assim se ter muito cuidado. Porém para verificar se a população se mantém pura, a cada geração deve-se fazer, por amostragem, de cinco a dez indivíduos, o exame da genitália, visando comprovar a “pureza” da colônia. Diversos critérios são utilizados para essa finalidade, entretanto, os mesmos são apresentados de maneira isolada.

Nas colônias estabelecidas que utilizem a oviposição em frutos como meio para a criação de imaturos, deve-se adquirir frutos que apresentam certificado de qualidade e sanidade. Todavia, faz-se necessário implementar no laboratório um controle da infestação dos mesmos. A cada lote de frutos que sejam oferecidos para a oviposição deve-se retirar quatro frutos para o “controle do lote”. Esses frutos devem receber os mesmos cuidados que os fornecidos para a oviposição em substrato artificial. Antes da inserção dos adultos de um determinado lote na gaiola de criação, deve-se verificar se no

“controle” daquele lote emergiu algum exemplar do gênero *Anastrepha*, que possa favorecer o aparecimento de híbridos na colônia purificada. Se no controle do lote emergir alguma mosca do gênero *Anastrepha*, todos os adultos emergidos deste lote devem ser descartados.

Nas colônias estabelecidas que utilizem a oviposição em frutos como meio para a criação de imaturos, deve-se adquirir frutos que apresentem certificado de qualidade e sanidade. Todavia, faz-se necessário implementar no laboratório um controle da infestação dos mesmos. A cada lote de frutos que sejam oferecidos para a oviposição deve-se retirar quatro frutos para o “controle do lote”. Esses frutos devem receber os mesmos cuidados que os fornecidos para a oviposição em substrato artificial. Antes da inserção dos adultos de um determinado lote na gaiola de criação, deve-se verificar se no “controle” daquele lote emergiu algum exemplar do gênero *Anastrepha*, que possa favorecer o aparecimento de híbridos na colônia purificada. Se no controle do lote emergir alguma mosca do gênero *Anastrepha*, todos os adultos emergidos deste lote devem ser descartados.

Considerações Finais

Nesse trabalho, foram apontadas características morfológicas externas presentes nos adultos e ovos de ambas as espécies que facilitam a identificação de *A. obliqua* e *A. fraterculus* que possibilitam o estabelecimento e manutenção de colônias puras em laboratório. A utilização do protocolo favoreceu a implementação de colônias puras de no LENI-UFBA e no laboratório de Entomologia da EMBRAPA Mandioca e Fruticultura.

Referências

- ALUJA, M. Bionomics and management of *Anastrepha*. **Annu. Rev. Entomol.** v.39, p.155-178, 1994.
- BOLLER, E. F. An artificial oviposition device for the European cherry fly, *Rhagoletis cerasi*. **J. Econ. Entomol.** v.61, p.1227-1234, 1968.
- FLETCHER, B. S. Life history strategies of tephritid fruit flies. In: ROBINSON, A. S. ;HOOPER , G. (Eds.) **Fruit flies, their biology, natural enemies and control**. Netherlands: Elsevier Science Publishers, 1989. 3B chapter 8.1, p. 195-208.
- FIGUEIREDO, J. V. A.; PERONDINI, A. L. P.; RUGGIRO, E. M.; PREZZOTO, L. F.; SELIVON, D. **Acta Zoologica** Stockholm, v.94, p.125-133, 2013.
- HERNÁNDEZ-ORTIZ, R. A.; V. Phylogeny of the genera *Anastrepha* and *Toxotripana* (Tripetinae: Toxotripanini) based on morphology. In: ALUJA, M. NORRBOM, A. L. (Eds.) **Fruit flies (Tephritidae): phylogeny and evolution of behavior**. Boca Raton, Florida: CRC Press 1999, p. 299-342.
- McALPINE, J. F. Phylogeny and classification of the Muscomorpha. In: McALPINE, J. F, (Ed.) **Manual of Nearctic Diptera**. Canada, Ottawa: Biosystematics Research Centre, p.1397-1518, 1989 1581p. v.3, n. 32.
- MALAVASI, A.; MORGANTE, J. S.; ZUCCHI, R. A. Biologia de moscas-das-frutas (Diptera: Tephritidae). I. Lista de hospedeiros e ocorrência. **Rev. Bras. Biol.**, 40, p. 9-16, 1980.
- NASCIMENTO, A. S.; MORGANTE, J. S.; MALAVASI, A.; URAMOTO, K. Occurrence and distribution of *Anastrepha* in mellon production areas. in Brazil. In: ALUJA, M.; LIEDO, P. (Eds) **Fruit flies: biology and management**. Linton Blvd, Delray Beach, 1993.
- NASCIMENTO, A. S.; CARVALHO, R. S.; MALAVASI, A. Monitoramento populacional. In: MALAVASI, A.; ZUCCHI, R. A. (Eds.) **Moscas-das-frutas de importância econômica no Brasil: conhecimento básico e aplicado**. Ribeirão Preto: Holos, 327p. 2000.
- SELIVON, D.; PERONDINI, A. L. P. Eggshell morphology in two cryptic species of the *Anastrepha fraterculus* complex (Diptera: Tephritidae). **Ann. Ent. Soc. Amer.**, v.91, p. 473-478, 1998.

ZUCCHI, R. A. Taxinonomia. In: MALAVASI ,A.; ZUCCHI , R. A., (Eds.) **Moscas-das-frutas de importância econômica no Brasil: conhecimento básico e aplicado**. Ribeirão Preto: Holos, 2000. p.13-24.

ZUCCHI, R. A. **Fruit Flies in Brazil – *Anastrepha* species their host plants and parasitoids**. Disponível em: <www.lea.esalq.usp.br/anastrepha/> . Acesso em: 13 mai., 2013.



Mandioca e Fruticultura

Ministério da
**Agricultura, Pecuária
e Abastecimento**

GOVERNO FEDERAL
BRASIL
PÁTRIA EDUCADORA

CGPE 11608