

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
CENTRO DE ENERGIA NUCLEAR NA AGRICULTURA

BRUNO AGUIAR MASET

Eficiência de dietas larvais para produção massal de
***Ceratitis capitata* e *Anastrepha fraterculus* (Diptera: Tephritidae)**

Piracicaba

2019

BRUNO AGUIAR MASET

**Eficiência de dietas larvais para produção massal de
Ceratitis capitata e *Anastrepha fraterculus* (Diptera: Tephritidae)**

Versão revisada de acordo com a Resolução CoPGr 6018 de 2011

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 no Ambiente

Orientador: Prof. Dr. Thiago de Araújo Mastrangelo

Piracicaba

2019

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

Maset, Bruno Aguiar

Eficiência de dietas larvais para produção massal de *Ceratitidis capitata* e *Anastrepha fraterculus* (Diptera: Tephritidae) / Bruno Aguiar Maset; orientador Thiado de Araújo Mastrangelo. - - versão revisada de acordo com a Resolução CoPGr 6018 de 2011. - - Piracicaba, 2019.

82 p. : il.

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. Cobalto 60 2. Controle de insetos 3. Entomologia agrícola 4. Esterilização 5. Fitossanidade 6. Fruticultura 7. Insetos (Criação) 8. Irradiação 9. Radiação gama 10. Radiação ionizante I. Título

CDU 595.773.4 : 632.939.1

Elaborada por:

Marília Ribeiro Garcia Henyei

CRB-8/3631

Resolução CFB Nº 184 de 29 de setembro de 2017

Ao meu Deus, pela sua boa, perfeita e agradável vontade. À minha família e amigos, por todo o apoio. A todos que acreditam e lutam pela ciência.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, ao meu Deus Trino, eterno soberano, a quem devo todas as coisas.

Aos meus pais, Bruno Maset Filho e Sandra M. S. de Aguiar Maset, por todas as formas de apoio.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Thiago Mastrangelo, pelo seu fundamental auxílio.

Ao Centro de Energia Nuclear na Agricultura (CENA/USP), instituição pela qual conquisto com grande orgulho o grau de Mestre, por todo o conhecimento agregado.

Ao Prof. Dr. Walter Arthur, por toda sua contribuição no meu ingresso ao curso de mestrado.

Aos técnicos, Maria de Lourdes Z. Costa e Luís Anselmo Lopes, os quais tiveram essencial contribuição na execução do trabalho devido ao vasto conhecimento e experiência de ambos.

Ao Laboratório de Irradiação de Alimentos e Radioentomologia (LIARE), por toda a estrutura fornecida.

A toda a equipe da CPG do CENA, por toda a ajuda e disposição.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES), pelo apoio na realização do presente trabalho - Código de Financiamento 001.

À Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz (ESALQ/USP) e Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto (FFCLRP/USP), pelas disciplinas por mim cursadas nas respectivas instituições.

À Universidade de São Paulo (USP).

À *International Atomic Energy Agency (IAEA), Insect Pest Control Laboratory (IPCL)*, Carlos Caceres, Guy J. Hallman e Elena I. Cancio Martínez, por todo o conhecimento agregado, além do auxílio antes do início do curso de mestrado.

À Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias (FCAV/UNESP), onde obtive o grau de Engenheiro Agrônomo.

À minha querida namorada, Thaísa Carvalho de Oliveira, por todo o carinho, compreensão e apoio.

Ao amigo, Jose Salvador M. Hernández e sua esposa, Flor de María.

A todos da minha segunda família, República Agrotóxico.

À minha avó Cármen e tios Sílvia, Carlos, Silmara, Aldano, Duca e Verinha.

À Igreja Presbiteriana do Brasil Central de São José do Rio Preto – SP, pela comunhão e auxílio bíblico, fundamentais em todas as áreas da vida.

A todos os amigos, pelo apoio e incentivo.

RESUMO

MASET, BRUNO AGUIAR. **Eficiência de dietas larvais para produção massal de *Ceratitis capitata* e *Anastrepha fraterculus* (Diptera: Tephritidae)**. 2019. 82 p. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2019.

Várias espécies de moscas-das-frutas têm sido alvo de investigações visando sua criação massal, incluindo *Ceratitis capitata* (Wiedemann) (mosca-do-Mediterrâneo ou *medfly*) e, mais recentemente, *Anastrepha fraterculus* (Wiedemann) (mosca-das-frutas sul americana), sendo as espécies de maior importância econômica e quarentenária em várias áreas produtoras de frutas do Brasil, Uruguai, Argentina e Peru. Um dos fatores determinantes para que a Técnica do Inseto Estéril (TIE) seja aplicada contra uma determinada praga é a existência de métodos de criação massal da espécie. Para se alcançar a criação em larga escala dessas espécies de moscas-das-frutas, é necessário, inicialmente, o preparo de uma dieta larval adequada. Como a dieta de criação pode oferecer uma quantidade enorme de substâncias nutritivas, as larvas criadas artificialmente amadurecem mais cedo do que as selvagens, o que acelera a sucessão de gerações. Essas mudanças detectadas durante o estágio larval podem formar adultos com maiores reservas nutritivas, atingindo a maturidade sexual mais cedo. Existem várias biofábricas de mosca-das-frutas no mundo capazes de produzir machos estéreis que são utilizados para a erradicação ou supressão populacional em área-ampla. Visando-se diminuir os custos de produção dos insetos, pesquisas voltadas para a otimização e desenvolvimento de novas dietas não podem parar. Portanto, os objetivos deste trabalho foram determinar a adequação e densidade larval ideal das moscas *C. capitata* e *A. fraterculus* em novas dietas à base de farinha de milho (FM), bagaço de cana-de-açúcar (BC), pó de cenoura liofilizada (PC) e carragenina (MC), escolhendo a dieta mais eficiente e viável economicamente para produção de cada uma dessas espécies com base na quantidade e qualidade de insetos produzidos e no custo de produção. As densidades larvais ideais para a criação de *C. capitata* nas dietas larvais FM, BC e PC foram, respectivamente, 0,5; 2,0; e 1,0 mL de ovos/kg de dieta. A dieta larval com maior produtividade foi a dieta BC, produzindo uma média de 6.514 pupas/kg de dieta, seguida das dietas FM e PC, que produziram, respectivamente, uma média de 5.018 e 4.135 pupas por kg de dieta. A ordem decrescente de viabilidade econômica entre as três dietas larvais para *C. capitata* foi a mesma (BC>FM>PC), sendo necessário um investimento médio de R\$ 471,29; R\$ 482,26; e R\$ 1.085,85, respectivamente, para a produção de 1 milhão de pupas. Os resultados com *A. fraterculus* mostraram que as

densidades larvais ideais nas dietas FM e MC foram de 2,0/kg de dieta e 1,5 mL de ovos/L de dieta, respectivamente. A dieta larval PC foi considerada inviável devido à baixa produtividade e peso de pupas. Em termos de produtividade, a dieta larval MC (produção média de 22.451 pupas/L de dieta), foi mais eficiente do que a FM (6.688 pupas/kg de dieta). Quanto à viabilidade econômica, a dieta larval MC foi mais vantajosa, demandando um investimento médio de R\$ 312,67 para a produção de 1 milhão de pupas, enquanto que a dieta FM custou R\$ 1.266,36 para produzir a mesma quantidade de pupas.

Palavras-chave: Mosca-do-Mediterrâneo. Mosca-das-frutas sul americana. Técnica do Inseto Estéril (TIE). Produtividade. Viabilidade econômica. Dieta artificial.

ABSTRACT

MASET, B. A. **Efficiency of larval diets for mass rearing of *Ceratitis capitata* and *Anastrepha fraterculus* (Diptera: Tephritidae)**. 2019. 82 p. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2019.

Several species of fruit flies have been the subject of research for their mass rearing, including *Ceratitis capitata* (Wiedemann) (Mediterranean fruit fly or medfly) and, more recently, *Anastrepha fraterculus* (Wiedemann) (South American fruit fly), being these species the ones with most economic and quarantine importance in several fruit producing areas of Brazil, Uruguay, Argentina and Peru. One of the requirements for the Sterile Insect Technique (SIT) is the existence of mass rearing methods of the target species. In order to achieve the large-scale rearing of these species of fruit flies, it is necessary initially to develop a suitable larval diet. As the rearing diet can offer a huge amount of nutrients, artificially reared larvae mature earlier than wild ones, what accelerates the succession of generations. These changes during the larval stage may form adults with higher nutritional reserves and they can reach sexual maturity earlier. There are several mass-rearing facilities for fruit flies in the world capable of producing sterile males that are used for population eradication and suppression in area-wide. In order to reduce insect production costs, the optimization or development of new diets cannot stop. Therefore, the objectives of this study were to determine the adequacy and optimal larval density of *C. capitata* and *A. fraterculus* flies in new diets based on corn flour (FM), sugarcane bagasse (BC), lyophilized carrot powder (PC) and carrageenan (MC), choosing the most efficient and less costly diet for the production of each of the species, based on the quantity and quality of insects reared and production costs. The optimal larval densities for *C. capitata* in larval diets FM, BC and PC were, respectively, 0.5; 2.0 and 1.0 mL of eggs/kg of diet. The larval diet that reached the highest productivity was the BC diet, giving an average of 6,514 pupae/ kg of diet, followed by FM and PC diets, which produced an average of 5,018 and 4,115 pupae per kg of diet, respectively. The decreasing order of economic viability among the three larval diets used was the same (BC>FM>PC), requiring a mean investment of R\$ 471.29; R\$ 482.26; and R\$ 1,085.85, respectively, for the production of 1 million pupae. The results with *A. fraterculus* showed that the ideal larval densities in FM and MC diets were 2.0 eggs/kg of diet and 1.5 mL of eggs/L of diet, respectively. The PC larval diet was considered infeasible based on the low production and weight of pupae. In terms of productivity, the MC larval diet, which resulted in an average of 22,451 pupae

produced per L of diet, was more efficient than FM, which produced a mean of 6,688 pupae per kg of diet. Considering the economic costs, the MC larval diet was also superior, requiring R\$ 312,67.00 for the production of 1 million pupae, while the FM diet required R\$ 1,266.36 to produce the same amount of pupae.

Keywords: Medfly. South American fruit fly. Sterile Insect Technique (SIT). Productivity. Economic viability. Artificial diet.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	13
2 OBJETIVOS	15
3 REVISÃO DE LITERATURA	16
3.1 Dietas artificiais para criação de moscas-das-frutas	16
3.2 Produção massal de <i>Ceratitis capitata</i> para a Técnica do Inseto Estéril	18
3.3 Dietas larvais para <i>Ceratitis capitata</i>	21
3.4 Criação de <i>Anastrepha fraterculus</i> para a Técnica do Inseto Estéril	23
4 MATERIAL E MÉTODOS	27
4.1 Bioensaios para determinação da densidade larval ideal em diferentes dietas artificiais	29
4.1.1 <i>Ceratitis capitata</i>	29
4.1.2 <i>Anastrepha fraterculus</i>	34
4.2 Determinação das melhores dietas para criação das moscas-das-frutas	38
4.2.1 Análises estatísticas	39
4.2.2 Análise econômica	40
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	41
5.1 <i>Ceratitis capitata</i>	41
5.1.1 Seleção de densidade larval ótima	41
5.1.2 Definição da dieta mais eficiente	46
5.1.3 Avaliação da viabilidade econômica das dietas	52
5.2 <i>Anastrepha fraterculus</i>	56
5.2.1 Seleção de densidade larval ótima	56
5.2.2 Definição da dieta mais eficiente	62
5.2.3 Avaliação da viabilidade econômica das dietas	68
6 CONCLUSÕES	72
REFERÊNCIAS	73

1 INTRODUÇÃO

Várias espécies de moscas-das-frutas [família Tephritidae] têm sido alvo de investigações visando sua criação massal, podendo-se citar: *Bactrocera tryoni* [Froggatt] [mosca-da-fruta de Queensland], *Bactrocera dorsalis* [Hendel], *Zeugodacus cucurbitae* [Coquillett], *Anastrepha suspensa* [Loew] [mosca-do-Caribe], *Anastrepha ludens* [Loew] [mosca-mexicana], *Anastrepha obliqua* [Macquart] [mosca-da-fruta das Índias Ocidentais], *Ceratitis capitata* [Wiedemann] [mosca-do-Mediterrâneo ou *medfly*] e, mais recentemente, *Anastrepha fraterculus* [Wiedemann] [mosca-da-fruta sul americana]. Todas essas espécies são de origem tropical ou sub-tropical, sendo polífagas e multivoltinas, características que têm favorecido a adaptação a dietas artificiais em comparação a *Bactrocera oleae* [Gmelin] [mosca-da-azeitona] ou *Rhagoletis* spp., as quais são monófagas ou muito específicas (MALAVASI; ZUCCHI, 2000). Em várias áreas produtoras de frutas do Brasil, Uruguai, Argentina e Peru, as únicas espécies de mosca-das-frutas de importância econômica e quarentenária são a mosca-do-mediterrâneo, *C. capitata*, e mosca sul americana, *A. fraterculus* (MANSO; LIFCHITZ, 1992).

Para que haja sucesso na proteção de áreas de fruticultura contra a infestação das moscas-das-frutas, a Técnica do Inseto Estéril (TIE) tem sido usada há décadas em vários países (HENDRICHS et al., 2002). Para que essa técnica seja aplicada contra uma determinada praga, é necessária a existência de métodos de criação massal da espécie-alvo (KNIPLING, 1955).

A dieta é provavelmente o componente mais importante da criação massal (PARKER, 2005). As dietas holídicas podem tornar-se importantes, mas os ingredientes altamente refinados tendem a ser muito caros, e as dietas merídicas e oligídicas, que utilizam matérias-primas locais muito mais baratas, são mais prováveis de serem utilizadas (FAY; WORNOAYPORN, 2002). O desenvolvimento de dietas adequadas para a produção de grandes quantidades de larvas de *C. capitata*, por exemplo, permitiu o surgimento, no mundo, de vários programas de manejo integrado desta praga em área-ampla, com machos estéreis (IDIDAS, 2017). Na biofábrica de El Piño, na Guatemala, um dos principais componentes do maior programa de erradicação/contenção de *medfly* no mundo, são produzidos mais de 2 bilhões de machos estéreis por semana, sendo utilizadas cerca de 31 toneladas de dieta por dia para se atingir esse número (MASTRANGELO et al., 2010).

A TIE também tem sido aplicada contra moscas de *Anastrepha* spp. No México, por exemplo, após o sucesso da erradicação da *medfly* em 1982 (ENKERLIN et al., 2015), uma biofábrica foi construída em Metapa de Dominguez para controlar moscas do gênero *Anastrepha* de importância econômica, produzindo quase 1 bilhão de insetos por semana [700 milhões de *C. capitata*, 100 milhões de *A. ludens*, 65 milhões de *A. obliqua* e 25 milhões do parasitóide *Diachasmimorpha longicaudata*] (RULL; REYES; ENKERLIN, 1996; OROZCO-DÁVILA et al., 2017). Esforços estão sendo feitos para a aplicação da TIE contra *A. fraterculus*, mas ainda são poucos os trabalhos voltados para o desenvolvimento de dietas larvais para essa espécie (WALDER et al., 2014). Pesquisas, portanto, são necessárias para otimização e elaboração de dietas mais eficientes e baratas para essa espécie.

Os trabalhos com dietas artificiais para a criação massal de mosca-das-frutas raramente mostram os custos das dietas testadas ou a viabilidade econômica das mesmas. Um dos maiores exemplos de impacto econômico de um estudo com dieta artificial para a produção massal de moscas estéreis foi conduzido por Chaudhury, Alvarez e Velazquez (2000) para a mosca da bicheira, *Cochliomyia hominivorax* [Coquerel]. Segundo a análise de custo conduzida por esses autores, a substituição da carne de cavalo por ovo *spray dried* na dieta de adultos, e metade da quantidade de mel por melaço, reduziu os gastos da biofábrica em mais de US\$ 100 mil/ano.

Na busca por dietas larvais mais baratas e eficientes para a produção em larga escala de moscas-das-frutas, o presente estudo objetivou avaliar e comparar novas dietas para larvas de *C. capitata* e *A. fraterculus*, determinando a mais eficiente e viável economicamente para a produção de cada uma dessas espécies em laboratório.

2 OBJETIVOS

Na busca por dietas larvais mais baratas e eficientes para a produção em larga escala de moscas-das-frutas, o presente estudo teve como objetivos:

a) determinar a adequação e densidade larval ideal das moscas *C. capitata* e *A. fraterculus* em diferentes tipos de dietas já existentes à base de farinha de milho, bagaço de cana-de-açúcar, pó de cenoura liofilizada e carragenina;

b) determinar a dieta mais eficiente para produção de cada uma dessas espécies, com base nos parâmetros estabelecidos pela FAO/IAEA/USDA (2014), como a quantidade e qualidade de larvas, pupas e adultos e razão sexual.

c) determinar a dieta economicamente mais viável com base no preço dos ingredientes utilizados, bem como na proporção de cada um deles nas dietas.

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 Dietas artificiais para criação de moscas-das-frutas

Insetos em geral podem ser criados para muitas finalidades, como para permitir a realização de diversos tipos de bioensaios, pesquisa de fisiologia, criação de parasitoides, testes para tratamento pós-colheita, etc (SINGH; ASHBY, 1985). Apesar de Singh (1985) ter listado mais de 1.300 espécies que são criadas em dieta artificial em laboratório, considerando todo ou apenas parte do seu ciclo de vida, relativamente poucas espécies foram criadas massalmente para a Técnica do Inseto Estéril (TIE) (IDIDAS, 2017).

Para se alcançar a criação massal de uma espécie de mosca-das-frutas, é necessário, inicialmente, o preparo de uma dieta larval adequada. Para isso, deve ser feita a identificação de produtos agrícolas locais e subprodutos industriais [como levedura de cerveja e bagaço de cana-de-açúcar, por exemplo] ou produtos comerciais baratos (CHAUDHURY; ALVAREZ; WELCH, 1998; CHAUDHURY; ALVAREZ; VELAZQUEZ, 2000; COHEN, 2000; SHIMOJI; YAMAGISHI, 2004) que possam fornecer a nutrição e as propriedades físicas necessárias para o desenvolvimento larval.

Componentes utilizados em menores quantidades na dieta larval frequentemente contribuem para um custo desproporcional. Por exemplo, muitas dietas são gelificadas com ágar, mas este produto é extremamente caro e vários substitutos parciais ou totais do ágar têm sido estudados (LEPPLA, 1976; SPENCER; LEPPLA; PRESSER, 1976; HARRIS et al., 1984; TAYLOR; BRUCE; GARCIA, 1991; HONDA; HAN; LEPPLA, 1996; CHAUDHURY; ALVAREZ, 1999).

As espécies de moscas-das-frutas diferem em suas necessidades nutricionais e necessitam de meios de crescimento larval variando em consistência e textura (VERA et al., 2007; HERNÁNDEZ et al., 2010). Atualmente, as larvas de moscas-das-frutas são basicamente criadas em dietas sólidas, modificadas a partir da dieta original de Tanaka et al. (1969), contendo ingredientes moídos, além de outros componentes, tais como produtos à base de levedura, açúcar, agentes antimicrobianos [nipagin, benzoato de sódio ou estreptomicina] e água (TANAKA et al., 1969). Além do ágar como agente gelificante, existe também um ingrediente chamado goma de guar, que pode melhorar a consistência das dietas, transformando o alto teor de água em um gel para que os insetos possam se alimentar e locomover adequadamente (COHEN, 2004).

Além de mortalidade, eventuais contaminações microbianas de dietas larvais podem levar a mudanças no desenvolvimento e composição corporal (SIKOROWSKI; GOODWIN, 1985). O controle da contaminação na criação das moscas em laboratório começa com a prevenção de infecções por técnicas adequadas de manuseio e esterilização de ingredientes, bem como a esterilização da superfície de ovos e pupas (LEPPLA; CARLYLE; CARLYSLE, 1974). Uma ampla gama de compostos anti-microbianos para dietas de insetos tem sido testada (GIFAWESEN; FUNKE; PROSHOLD, 1975; LUDEMANN; FUNKE; GOODPASTURE, 1979; HARTLEY et al., 1982; FUNKE, 1983; BATHON, 1997), mas muitos são inadequados e, praticamente, nenhum é adequado para todas as espécies de insetos.

Alguns dos inibidores microbiológicos utilizados são os subprodutos de propionatos e sorbatos. Os ácidos clorídrico e cítrico são normalmente usados para se obter um pH ótimo para a ação anti-microbiana de inibidores microbiológicos e para o desenvolvimento larval [comumente entre 3,5 e 5,5] (FUNKE, 1983).

Insetos alimentados com uma dieta pouco calórica e/ou uma fonte de alimentação desequilibrada costumam destinar a maioria de seus recursos adquiridos para a formação e criação de estruturas corporais, e a menor parte, para o acúmulo de energia. Pelo contrário, quando alimentados com uma dieta bem equilibrada, espera-se que a energia adquirida seja acumulada. As reservas são importantes para as fases de vida posteriores, ou para fins de manutenção e sobrevivência durante períodos de escassez de alimentos (GORDON, 1972; DOWNER; MATTHEWS, 1976).

Com relação às proteínas, a sua principal função é a construção e regeneração de células e órgãos (FAY, 1989). A quantidade de proteína requerida em uma dieta larval é influenciada por sua qualidade nutricional, que, por sua vez, é determinada pela composição de aminoácidos e pela digestibilidade in vivo (VANDERZANT, 1973; CHANG, 2004). Ácidos graxos e proteínas na dieta larval de moscas-das-frutas podem contribuir para a habilidade de voo dos adultos e competitividade sexual dos machos (SLANSKY; SCRIBER, 1985; MARDEN, 2000). Estudos anteriores descobriram que a eliminação completa da levedura de cerveja da dieta larval, que é uma das fontes de proteína mais comumente utilizada para moscas-das-frutas, impede a emergência dos adultos (ECONOMOPOULOS; AL-TAWEEL; BROZZONE, 1990).

A importância dos aminoácidos para o desenvolvimento ideal das larvas de moscas-das-frutas também pode ser inferida a partir do resultado da associação conhecida entre bactérias simbióticas e larvas, uma vez que simbiontes podem enriquecer os substratos do

alimento larval, tanto em quantidade como em qualidade de aminoácidos (WHITE, 1993). A ausência de glicina na dieta dos insetos pode ser mais prejudicial do que a remoção dos 8 aminoácidos não-essenciais, sugerindo que o complexo metabólico dos simbiossomas das moscas-das-frutas é capaz de lidar melhor com a falta de todos os aminoácidos não essenciais do que com a ausência de apenas um que seja possivelmente significativo (NESTEL; NEMNY-LAVY; CHANG, 2004).

Os carboidratos contribuem para a funcionalidade e estrutura dos tecidos dos insetos e podem ser encontrados nos núcleos, citoplasma e membrana celular, bem como na hemolinfa, servindo para os tecidos (FAY, 1989).

Os lipídios são componentes fundamentais para as membranas celulares e agem como precursores da ecdisona, além de serem constituintes essenciais da epiderme, formando uma camada impermeável que evita a desidratação dos insetos (DADD, 1973). Lipídios dietéticos também podem desempenhar um papel importante no aumento do peso das pupas através da sua incorporação na cutícula do inseto e nas membranas celulares (RICHARDS, 1978).

De modo geral, as larvas de moscas-das-frutas são capazes de sobreviver em dietas artificiais sem carboidratos ou com a adição de lipídios como fonte energética. Porém, essa privação reduz o desenvolvimento larval e se reflete na performance e no comportamento dos adultos, que podem desenvolver mecanismos de compensação (CANATO; ZUCOLOTO, 1998).

Os insetos requerem quantidades substanciais de potássio, fósforo e magnésio, e pequenas quantidades de cálcio, componentes férricos como cloretos e fosfatos, zinco e cobre, que atuam como cofatores enzimáticos para as reações que ocorrem em seus metabolismos (SCHWARZ, 1989).

Como a dieta de criação pode oferecer uma quantidade enorme de substâncias nutritivas, as larvas criadas artificialmente se desenvolvem mais rapidamente do que as selvagens, o que acelera a sucessão de gerações. Essas mudanças durante o estágio larval podem também interferir nas estratégias dos adultos, os quais podem emergir com altas reservas nutritivas, atingindo a maturidade sexual mais cedo (CAYOL, 2000).

3.2 Produção massal de *Ceratitis capitata* para a Técnica do Inseto Estéril

Um dos principais fatores determinantes para que a TIE seja aplicada contra uma determinada praga é a existência de métodos de criação massal da espécie-alvo (KNIPLING,

1955). A espécie *C. capitata* é a única do gênero ocorrendo no Brasil, sendo sua presença constatada pela primeira vez em 1901 por Ihering (MARICONI; IBA, 1955). Também é conhecida como mosca-do-Mediterrâneo [ou *medfly*], por ser originária da África Ocidental segundo o relato inicial, e a possibilidade de se utilizar a TIE para o seu controle tem sido explorada desde a década de 1960 (OHINATA; ASHRAF; HARRIS, 1977). O desenvolvimento de dietas adequadas para a criação em grande quantidade de larvas de *C. capitata* permitiu o surgimento de vários programas de manejo integrado desta praga em área-ampla (IDIDAS, 2017).

O Programa de Erradicação da Mosca-do-Mediterrâneo [Programa MOSCAMED], por exemplo, foi criado a partir de um acordo de cooperação firmado entre México e Guatemala em 1975, um Memorando de Entendimento entre México e EUA em 1976, e um Acordo de Cooperação entre Guatemala e EUA em 1981 (ENKERLIN et al., 2015). Esse programa iniciou os esforços de erradicação de *C. capitata* no México em 1977 usando uma abordagem de manejo integrado em toda a área infestada (KLASSEN, 2005). Os esforços incluíram a TIE (KNIPLING, 1979; PATTON, 1980; SCHWARZ; LIEDO; HENDRICHS, 1989) para a qual foi construída, em Metapa, Chiapas, uma biofábrica para produzir 500 milhões de moscas estéreis por semana (SCHWARZ et al., 1985). Depois de 5 anos [1978-1982] de esforços intensivos de erradicação em toda a área, combinando ferramentas de vigilância [captura e amostragem de frutos], *sprays* de isca aérea e terrestre, TIE e medidas regulatórias, a *medfly* foi considerada erradicada de Chiapas, México (LaBRECQUE, 1982; HENDRICHS et al., 1983; SZYNISZEWSKA; TATEM, 2014). Mas o programa não parou com esse resultado.

A construção em 1996 da unidade de criação massal em El Piño, na Guatemala, com capacidade de produção de mais de 2 bilhões de moscas-das-frutas estéreis por semana, aumentou consideravelmente a disponibilidade de insetos estéreis para ajudar a manter a barreira de contenção na Guatemala com um uso mínimo de inseticida (TWEEN, 2002). Entre 1978 e 2008, o índice mais alto de população de moscas capturadas por dia (MAD) já registrado foi de 0,00023 no estado de Chiapas em 2007, ano com maior número histórico de entradas transitórias de *medflies* no México. Esse nível populacional foi 43 vezes menor do que o nível estabelecido para uma área de baixa prevalência para a *medfly* [MAD = 0,01] (IAEA, 2003; FAO, 2006). Os únicos estados mexicanos onde já foi detectada a *medfly* são Campeche [2 entradas transitórias, sendo uma em 1998 e outra em 2005] e Baja California [1 entrada transitória em 2004]. Esta última entrada foi caracterizada como um surto extenso e ocorreu na cidade de Tijuana ao longo da fronteira entre o noroeste do México e a Califórnia,

EUA. O surto foi eliminado em 2005 depois de um amplo trabalho de erradicação de 9 meses feito pela Organização Mexicana Nacional de Proteção Fitossanitária (SENASICA SAGARPA) em colaboração com o Departamento de Agricultura dos Estados Unidos (USDA), Departamento de Alimentos e Agricultura (CDFA) e o Governo do estado de Baja California (GUTIÉRREZ-RUELAS et al., 2013).

Nenhuma *medfly* foi detectada nos outros 28 estados mexicanos. Em resumo, desde 1982, foram efetivamente eliminadas todas as entradas transitórias de *C. capitata* [detecções e surtos] ocorridas no México [Chiapas e Tabasco] e as poucas que ocorreram em Campeche e Baja California foram erradicadas com moscas estéreis (FAO, 2006; 2014; PROGRAMA REGIONAL MOSCAMED, 2010). Utilizando a terminologia da *International Plant Protection Convention* (IPPC), o status fitossanitário da praga para os estados mexicanos de fronteira de Chiapas, Tabasco, Campeche e Baja California pode ser definido como “Praga Transitória” [entrada de pragas que não resulta em estabelecimento após a aplicação de medidas fitossanitárias apropriadas para sua erradicação], e “Praga ausente” para o resto do México [sem registros da presença da praga confirmados por pesquisas] (FAO, 1998).

Por uma análise retrospectiva dos custos e benefícios do Programa MOSCAMED para o período de 1978 a 2008, um estudo da IICA (2009) revelou que o investimento feito pelo Governo mexicano, juntamente com os Governos dos EUA e da Guatemala, na proteção da área livre de pragas (ALP) nos 3 países resultou em um retorno econômico substancialmente positivo. A relação custo-benefício para o México durante este período foi de 1 para 112, indicando claramente que o governo mexicano tomou a decisão correta ao apoiar um programa de manejo integrado da *medfly* em área-ampla, visando impedir o estabelecimento dessa praga devastadora no país. De 1978 a 2008, a área plantada no México com culturas consideradas hospedeiras da mosca-do-Mediterrâneo aumentou de 745.080 para 1.081.975 ha e a produção aumentou de 7,8 para 19,1 milhões de toneladas, equivalentes a US\$ 4,3 bilhões em 2008, apenas em exportações (IICA, 2009). Somente para a Califórnia, foi projetado um custo de mais de US\$ 1,5 bilhão por ano se a *medfly* pudesse se estabelecer, bem como um aumento dramático no uso de inseticidas, chegando talvez a mais de 640 toneladas de ingrediente ativo anualmente (SIEBERT; COOPER, 1995). A atual situação da espécie *C. capitata* no México é "Ausente", com a praga tendo sido erradicada em 1982, e a vigilância sendo feita regularmente com base na manutenção de 24.760 armadilhas em todo o país [14.710 em Chiapas e 10.050 no restante do território mexicano] (ENKERLIN et al., 2015). Isso permitiu que o México mantivesse seu status de “livre da mosca-do-Mediterrâneo” e

continuasse as exportações sem restrições de quarentena para outros países livres dessa mosca (ENKERLIN et al., 2015).

Em geral, a produção massal da *medfly* tem o custo reduzido com o aumento da escala de produção, e isso pode ser facilmente visto na biofábrica MOSCAMED localizada em El Piño, na Guatemala (HENDRICHS et al., 2002). O custo de produção de pupas macho de *C. capitata* foi reduzido para menos de US\$ 300 por 1 milhão na biofábrica da Guatemala (ENKERLIN, 2003). Caceres et al. (2004) compararam os custos de criação massal de linhagens sexuais separadas geneticamente e bissexuais, verificando que as diferentes características da linhagem sexual *tsl* levavam a um pequeno aumento nos custos de criação, mas reduziam significativamente os custos do programa na fase de liberação dos machos estéreis em campo.

3.3 Dietas larvais para *Ceratitidis capitata*

Mesmo com o sucesso do Programa MOSCAMED na fronteira México-Guatemala, pesquisas com dietas larvais para *C. capitata* continuam e investigações foram feitas, inclusive, com dietas totalmente líquidas, que aumentam a eficiência da utilização, diminuem as perdas e oferecem a possibilidade de reciclagem da dieta através da remoção de resíduos e da substituição somente dos nutrientes que foram consumidos (FAY; WORNOAYPORN, 2002). A dieta líquida pode ser composta por um ou vários produtos à base de levedura, incluindo levedura de células inteiras (LBI2240), levedura hidrolisada (FNI LS65 e FNI200), levedura fortificada com vitamina (RDA) e levedura rica em glutamina (GSH), além de açúcar, benzoato de sódio, nipagin, estreptomocina agrícola, óleo de germe de trigo (WGO) e água (CHANG; CACERES; JANG, 2004).

Uma das dietas larvais mais utilizadas para a criação da *medfly* em laboratórios menores ao redor do mundo ainda se baseia na espiga de milho como um agente volumoso que, apesar de alguns traços de nutrientes, é basicamente uma substância nutricionalmente inerte (CHANG; KURASHIMA; ALBRECHT, 2001). Uma das dietas larvais com milho utilizada para essa espécie é composta de 7,5% de farelo de milho, 7,5% de bagaço de cana-de-açúcar, 4% de farelo de trigo, 12% de açúcar, 9% de levedura, 1,7% de ácido cítrico, 0,3% de benzoato de sódio, 0,4% de nipagin e 57,6% de água (MUÑOZ-BARRIOS; VILLARREAL; BRAVO, 2015). Há, também, uma dieta caracterizada por um meio gelificado em ágar, originalmente desenvolvida por Srivastava, Anand e Pant (1989) e

Srivastava e Pant (1981) para *B. dorsalis* [Hendel] e *Z. cucurbitae* [Coquillett], a qual também pode ser utilizada para as larvas de *C. capitata*.

Conhecidamente, frutas hospedeiras são bastante pobres em proteínas ou compostos nitrogenados, de modo que em estudos de laboratório foi demonstrado para várias espécies que as larvas preferem dietas contendo uma fonte proteica em detrimento de outras mais ricas em açúcar (CRESONI-PEREIRA; ZUCOLOTO, 2009). Larvas de *C. capitata* não sobrevivem em dietas constituídas apenas de carboidratos (CRISCI, 1998), mas são capazes de completar o desenvolvimento se alimentadas em dietas exclusivamente proteicas, embora com performance reduzida. Achala-Paripurna e Srivastava (1989) relataram que a ausência de 2.000 mg de açúcar em 50 g de dieta resultou em desenvolvimento larval lento e na perda de peso das pupas. Joachim-Bravo e Zucoloto (1997; 1998) relataram que a sacarose e o ácido cítrico na dieta influenciaram a preferência de oviposição.

Canato e Zucoloto (1993) demonstraram que, em concentrações que variaram de 6,5 g até 25 g de levedura/100 mL de dieta, as larvas de *C. capitata* não apresentaram diferenças na performance, o que pode demonstrar que não regularam a ingestão pela quantidade de açúcares na dieta, que foi constante, e toleraram com sucesso dietas que foram basicamente proteicas. Entretanto, na concentração de 30g de levedura/100 mL de dieta, o desenvolvimento foi levemente reduzido.

Cangussu e Zucoloto (1997) relataram que a deficiência proteica durante a fase larval reduziu a emergência do adulto, o tamanho da fêmea adulta, a maturação do oocito e aumentou a duração da fase larval da *medfly*. Também foi realizado um experimento onde duas dietas larvais para essa mosca continham somente sacarose, não contendo levedura de cerveja, e tendo apenas farelo de trigo como agente volumoso, apesar desse ingrediente conter certa quantidade de proteína (KASPI et al., 2002).

Os efeitos dietéticos sobre o tamanho do corpo podem ser mediados por alterações na quantidade de nutrientes armazenados como lipídios e proteínas antes da pupação (NESTEL; NEMNY-LAVY; CHANG, 2004; NESTEL; NEMNY-LAVY, 2008). É possível que as vitaminas, especialmente do complexo B, atuem sinergicamente com proteínas para afetar a capacidade das larvas de incorporar proteínas e aumentar o peso pupal (NESTEL; NEMNY-LAVY, 2008).

Zucoloto (1993) demonstrou que as larvas de *C. capitata* podem se desenvolver em dietas à base de farinha de carne e de larvas mortas da mesma espécie, embora a performance seja reduzida nas primeiras gerações nesse tratamento.

As leveduras comumente utilizadas nas dietas larvais de *C. capitata*, com algumas variações, contêm os mesmos aminoácidos, porém é necessário determinar se existem diferenças na disponibilidade e digestibilidade, pois os aminoácidos digeríveis constituem uma estimativa mais adequada do nitrogênio disponível, já que o nitrogênio total superestima a proteína utilizável e implica que o seu uso pode levar a uma fórmula não equilibrada (PERDOMO; VARGAS; CAMPOS, 2004). Friend, Backs e Cass (1957) relataram que todas as larvas do ensaio morreram no primeiro ínstar quando foram criadas em dietas que não possuíam um dos seguintes aminoácidos: l-arginina, l-histidina, l-isoleucina, l-triptofano ou l-valina. Também descobriram que larvas criadas em dietas que não tinham l-fenilalanina ou l-treonina morreram antes do terceiro instar, e aquelas alimentadas com dietas sem leucina, l-lisina ou l-metionina morreram antes de atingir o estágio pupal. Por outro lado, altos níveis gerais de aminoácidos livres na dieta larval [por exemplo, duas vezes a concentração recomendada] parecem, como demonstrado para outras moscas-das-frutas (MANOUKAS, 1981), ser prejudiciais para o desenvolvimento do inseto. Estudos anteriores sugeriram que o excesso de proteína na dieta larval de *C. capitata* provavelmente não contribui em nada para o adulto e, provavelmente, é depositado na exúvia pupal (NESTEL; NEMNY-LAVY; CHANG, 2004). Kanthi e Pant (1988) mostraram que o colesterol sozinho, na dieta larval da *medfly*, sem interação com ácidos graxos, mostrou-se importante para a formação de pupas.

3.4 Criação de *Anastrepha fraterculus* para a Técnica do Inseto Estéril

Com relação às moscas do gênero *Anastrepha*, é no México que se pode encontrar o maior número de espécies desse gênero sendo criadas massalmente em laboratório. A primeira espécie a ser criada foi *A. ludens* na década de 1950. Na década de 1990, o México iniciou um ambicioso projeto fitossanitário através da Campanha Nacional Contra as Moscas-das-Frutas (CNCMF) após o sucesso da erradicação da *medfly* em 1982 (ENKERLIN et al., 2015). Vendo a necessidade de controlar o complexo de moscas de importância econômica do gênero *Anastrepha*, as quais ocasionavam perdas de US\$ 710 milhões/ano, além de gastos com o controle e a perda de mercados internacionais, uma biofábrica foi construída em 1993 em Metapa de Dominguez, com capacidade para produzir inicialmente 300 milhões de moscas estéreis por semana, formando o maior complexo bioindustrial do mundo, produzindo atualmente quase 1 bilhão de insetos por semana [700 milhões de *C. capitata*, 100 milhões de

A. ludens, 65 milhões de *A. obliqua* e 25 milhões do parasitoide *D. longicaudata*] (RULL; REYES; ENKERLIN, 1996; OROZCO-DÁVILA et al., 2017).

A mosca-da-fruta sul americana, *A. fraterculus*, é de grande importância econômica no Brasil, ocorrendo do Texas (EUA) à Argentina e ataca mais de 80 espécies de plantas, incluindo manga, citros, goiaba, maçã e café (DA SILVA; SILVEIRA NETO; ZUCCHI, 1996; STECK, 1998). Nas últimas décadas, foram poucas as tentativas para se estabelecer as necessidades básicas, materiais e procedimentos de criação massal dessa espécie.

No Workshop da FAO/IAEA sobre criação massal de *A. fraterculus* sediado em Viña Del Mar [Chile], em 1996, vários participantes da Argentina, Brasil, Colômbia e Peru relataram seus esforços em criar essa espécie sob condições de laboratório (ORTIZ, 1999). De modo geral, chegou-se ao consenso de que os maiores problemas residiam em encontrar uma técnica que promovesse uma oviposição efetiva, sem perda de fertilidade, uma forma mais eficiente de coleta dos ovos e dietas mais baratas.

Nuñez e Guzman (1999) relataram uma criação artificial dessa mosca na Colômbia [1994-1996] a partir de exemplares originários de *Coffea arabica*. As condições da sala de adulto eram 24°C, 70-80% de UR e fotoperíodo de 10 horas. As gaiolas [70 x 50 x 50 cm] de acrílico e malha na frente comportavam 6.700 adultos, contendo também água e dieta de adulto [40% de proteína hidrolisada da Bioserve Inc., 56% de açúcar, 2% de mistura fortificante de Vanderzant e 2% de sais de Wesson]. A oviposição era feita em esferas de parafina com tela de algodão, vaselina [1 de parafina:1 de vaselina] de cor amarela ou vermelha, mais uma esponja umedecida por dentro. Os ovos eram separados com uma solução de BeNa, sendo incubados em placas de Petri por 3-4 dias. A dieta larval era feita a partir de *Torula* tipo B [Bioserve Inc.] [6%], açúcar [6%], germe de trigo [6%], colesterol [0,05%], ágar [3%], Nipagin [0,1%], benzoato de sódio [0,1%], água [70-80%] e HCl [0,5 mL] para manter o pH entre 3,7-4, permitindo-se 5 larvas/mg de dieta. Depois de 10 dias, as larvas eram separadas do meio por lavagens e colocadas para pupar em vermiculita [13 dias de maturação]. Entretanto, a viabilidade ovo-adulto foi apenas de 9,5±4,9%, sendo baixa a oviposição e ocorrendo altas perdas durante a incubação dos ovos e nos dois primeiros instares larvais.

Salles (1999) descreveu os procedimentos de criação de *A. fraterculus* adotados em Pelotas, Brasil. Como substrato de oviposição, utilizavam-se “frutas artificiais” [8,5g de ágar, 350 mL de água, 75 mL de suco de blueberry e 4 mL de Nipagin] com parafilme. Coletados os ovos, estes eram incubados por 2 dias [±26°C] ou colocados imediatamente

sobre a dieta larval: açúcar [6,0%], germe de trigo [6,0%], levedura de cerveja [6,0%], benzoato de sódio [0,1%], metilparabeno [0,8%], ácido clorídrico [0,6%], ágar [1,0%] e água. Como as variações demográficas eram muito grandes [por uma série de problemas], os resultados eram inconsistentes.

Jaldo, Gramajo e Willink (2001) descreveram um método potencial de criação massal de *A. fraterculus* na Argentina. A dieta de adulto era composta de proteína hidrolisada [10g], proteína de milho [10g], açúcar [40g], água [50 mL], vitaminas [500 mg] [Dayamineral, Abbot] e aminoácidos [1 mL] [Aminocefa 5%, Roux Ocefa]. A dieta larval era a mesma de Salles (1992), com a adição de estreptomicina [1g:1 L], sendo composta de 60g de germe de trigo, 60g de levedura de cerveja, 60g de açúcar, 1g de benzoato de sódio, 400 mL de água, 6 mL de ácido clorídrico 37%, 8 mL de nipagin 10% e 10g de ágar em 400 mL de água quente. O controle de qualidade seguiu o padrão da FAO/IAEA/USDA (1998). A viabilidade total média foi de 44%.

Vera et al. (2007) adicionaram bagaço de cana-de-açúcar à dieta larval da mosca sul americana para permitir a saída das pré-pupas 5 dias após a oviposição. No sistema de criação descrito pelos autores, a viabilidade dos ovos era de aproximadamente 84%, a viabilidade total era de 56%, peso pupal de 13 mg [2 dias antes da emergência dos adultos] e razão sexual de 0,93 (fêmea/macho).

Walder, Costa e Mastrangelo (2006) estabeleceram uma colônia da mosca sul americana no estado de São Paulo a partir de frutos de uvaia [*Eugenia pyriformis*]. As primeiras três gerações ocorreram em frutos de mamão. A partir dos adultos F₃, foram introduzidos o dispositivo de oviposição [painel de voile com cera de abelha vermelha e vaselina, 7:3] e a dieta larval de Salles (1992).

Walder et al. (2014) desenvolveram um método de criação em larga escala de *A. fraterculus* com menor custo no CENA/USP. Foram avaliadas 54 gerações de criação massal da referida praga. Até a 10^a geração, as larvas foram criadas com base na mesma dieta de Salles (1992). A partir dessa geração, a dieta foi modificada pela redução da concentração de ágar. A 11^a geração foi selecionada para redefinir a concentração de ágar apropriada para dietas de criação massal [0,30; 0,32; 0,34; 0,36; 0,40; e 0,70%], que foram, então, comparadas com a de Salles (1992) com relação aos parâmetros de controle de qualidade. Dentre as concentrações de ágar avaliadas, o nível de 0,34% resultou em melhores valores em quase todos os parâmetros avaliados. A diminuição de 1 para 0,34% de ágar melhorou o peso de pupas em 5%, a habilidade de voo em 25% e a recuperação de ovos e pupas em 31%. A taxa de eclosão aumentou em dois intervalos generacionais: a primeira entre as gerações 13 e 18, e

a segunda entre as gerações 25 e 30. Valores de parâmetros de controle de qualidade acima de 75% foram alcançados somente após a 43ª geração. O peso e emergência das pupas foram superiores aos valores obtidos por Vera et al. (2007). A FAO (2003) não especificava valores mínimos para *A. fraterculus*, no entanto, ambos os valores foram muito próximos aos recomendados para *A. obliqua* e *A. suspensa*. A proporção entre os sexos também atingiu os padrões da FAO (2003). Assim, tanto os parâmetros de peso pupal quanto a alta emergência de adultos demonstraram que a dieta é nutricionalmente adequada, pois produz larvas e pupas de alta qualidade. O método de coleta das larvas favoreceu a homogeneização do desenvolvimento do inseto na criação e pareceu selecionar os insetos mais vigorosos, uma vez que a qualidade das pupas foi maior.

Esse sistema de criação artificial para *A. fraterculus* sp.1, desenvolvido no Brasil, vem permitindo a produção de uma grande quantidade de insetos de excelente qualidade utilizando ingredientes locais e pouco ágar na composição da dieta. Ao reduzir o intervalo de coleta de ovos, o sistema pode ser otimizado em termos de rendimento de insetos e, portanto, suprir as exigências da *A. fraterculus* sp.1 para fins de MIP. Entretanto, pesquisas para otimização dessa dieta e elaboração de dietas mais eficientes e baratas devem continuar.

4 MATERIAL E MÉTODOS

Os espécimes de *C. capitata* e *A. fraterculus* que foram utilizados neste trabalho foram obtidos das populações estabelecidas no Laboratório de Irradiação de Alimentos e Radioentomologia (LIARE) do Centro de Energia Nuclear na Agricultura da Universidade de São Paulo (CENA/USP), o qual foi a instituição sede para a manutenção das colônias e para a realização dos experimentos. A população de *C. capitata* era oriunda do município de Petrolina – PE, enquanto que a de *A. fraterculus* foi obtida originalmente de Vacaria – RS, pertencendo ao morfotipo *Brazilian 1* segundo Dias et al. (2016).

As colônias de *C. capitata* foram mantidas em salas climatizadas específicas sob condições controladas a $25 \pm 2^\circ\text{C}$ e UR de $75 \pm 5\%$ durante todo o ciclo de vida, e fotofase 12 h para adultos e tempo total de escuro para pupas. Os adultos foram mantidos em gaiola modelo *sandwich* da biofábrica de El Piño, Guatemala [Figura 1], contendo tecido do tipo voile nas laterais. A alimentação consistiu de açúcar refinado *Caravelas*[®] [Usina Colombo S/A, Ariranha, SP] combinado ao extrato de levedura de cerveja liofilizada *Bionis*[®] YE MF [Biorigin, Lençóis Paulista, SP] [3:1] e água *ad libitum*. A oviposição ocorria nas telas da gaiola. Os ovos eram coletados a cada 24 h em bandejas contendo água, sendo distribuídos em papel de filtro umedecido para posterior transferência para as dietas artificiais, segundo cada tratamento.

As colônias de *A. fraterculus* foram mantidas a $24 \pm 2^\circ\text{C}$ e UR de $75 \pm 5\%$ durante todo o ciclo de vida, e fotofase 12 h para adultos e tempo total de escuro para larvas e pupas. As gaiolas para os adultos tinham dimensões 30 x 75 x 150 cm [Figura 2]. A alimentação consistiu de açúcar refinado *Caravelas*[®] [Usina Colombo S/A, Ariranha, SP] combinado ao extrato de levedura de cerveja liofilizada *Bionis*[®] YE MF [Biorigin, Lençóis Paulista, SP] [3:1] e água *ad libitum*. As fêmeas ovipositavam em telas de tecido voile vermelho siliconadas [Figura 3]. Os ovos eram coletados a cada 24 h em bandejas contendo água, sendo distribuídos em papel de filtro umedecido para posterior transferência para as dietas artificiais, segundo cada tratamento.

Figura 1. Gaiola *sandwich* para adultos de *C. capitata*: a) Visão frontal; b) Visão lateral



Fonte: Laboratório de Radioentomologia e Irradiação de Alimentos (LIARE), CENA/USP (2018).

Figura 2. Gaiola para adultos de *Anastrepha fraterculus*



Fonte: Laboratório de Radioentomologia e Irradiação de Alimentos (LIARE), CENA/USP (2018).

Figura 3. Tela de oviposição de tecido voile siliconada



Fonte: Laboratório de Radioentomologia e Irradiação de Alimentos (LIARE), CENA/USP (2018).

4.1 Bioensaios para determinação da densidade larval ideal em diferentes dietas artificiais

4.1.1 *Ceratitia capitata*

Foram testados três diferentes tipos de dieta artificial para a criação das larvas desta espécie:

- a) dieta à base de farinha de milho [dieta FM]. Para preparo de 1 kg de dieta, eram utilizados 300 g de farinha de milho amarela *Yoki*[®] [*General Mills Brasil Alimentos Ltda.*, Cambará, PR], 50 g de levedura de cerveja liofilizada *Brewcell*[®] [*Biorigin*, Lençóis Paulista, SP], 30 g de açúcar cristal *Caravelas*[®] [*Usina Colombo S/A*, Ariranha, SP], 1.120 mL de água filtrada, 2 g de benzoato de sódio, 2 mL de solução alcoólica de nipagin [10 g de nipagin para 100 mL de álcool] e 6 g de ácido cítrico, sendo o pH inicial entre 4,2 e 4,5 [Figura 4a];

b) dieta com bagaço de cana-de-açúcar [dieta BC]. Para preparo de 1 kg de dieta, eram utilizados 99 g de bagaço de cana-de-açúcar, 99 g de levedura de cerveja liofilizada *Brewcell*[®] [*Biorigin*, Lençóis Paulista, SP], 64,98 g de farinha de trigo branca, 29,9 g de germe de trigo, 119,9 g de açúcar cristal *Caravelas*[®] [*Usina Colombo S/A*, Ariranha, SP], 573,8 mL de água filtrada, 9,9 g de ácido cítrico, 0,299 g de antibiótico e 2,99 g de benzoato de sódio, sendo o pH inicial entre 3,5 e 3,7 [Figura 4b];

c) dieta à base de pó de cenoura liofilizada [dieta PC]. Para preparo de 1 kg de dieta, eram utilizados 150 g de pó de cenoura liofilizada [*Aloe Química Fina*, Palhoça, SC], 70 g de levedura de cerveja liofilizada *Brewcell*[®] [*Biorigin*, Lençóis Paulista, SP], 330 mL de água filtrada, 2,5 g de benzoato de sódio, 2 g de nipagin e 8 g de ácido cítrico, sendo o pH inicial de 3,5 [Figura 4c].

Figura 4a. Dieta à base de farinha de milho (dieta FM); Figura 4b. Dieta com bagaço de cana-de-açúcar (dieta BC); Figura 4c. Dieta à base de pó de cenoura liofilizada (dieta PC)



Fonte: Laboratório de Radioentomologia e Irradiação de Alimentos (LIARE), CENA/USP (2018).

Foram testadas cinco diferentes densidades larvais em cada dieta. Para isso, foram inoculados separadamente diferentes volumes de ovos [0,3; 0,5; 0,8; 1,0 e 2,0 mL de ovos/1 kg de dieta larval, correspondendo a 23.500 ovos cada mL]. Cada alíquota de ovos foi semeada [Figura 6], após aeração em água por 48 h em banho-maria a 24 °C [Figura 5], para avaliação do desenvolvimento em cada tratamento de dieta artificial.

Figura 5. Aeração de ovos em banho-maria



Fonte: Laboratório de Radioentomologia e Irradiação de Alimentos (LIARE), CENA/USP (2018).

Figura 6. Ovos semeados em papel filtro sobre a dieta larval



Fonte: Laboratório de Radioentomologia e Irradiação de Alimentos (LIARE), CENA/USP (2018).

A preparação das dietas ocorreu imediatamente antes do teste e 1 kg de cada dieta [2 cm de espessura] foi colocado em bandejas de polietileno de dimensões 27,3 x 17,5 cm. A tampa de cada bandeja tinha um furo [7% da área] para permitir a respiração, além de ser coberta por uma tela de poliéster [com furos de 105 μm , 52% da área] para evitar a entrada de *Drosophila* spp. Os diferentes volumes de ovos foram semeados separadamente nas

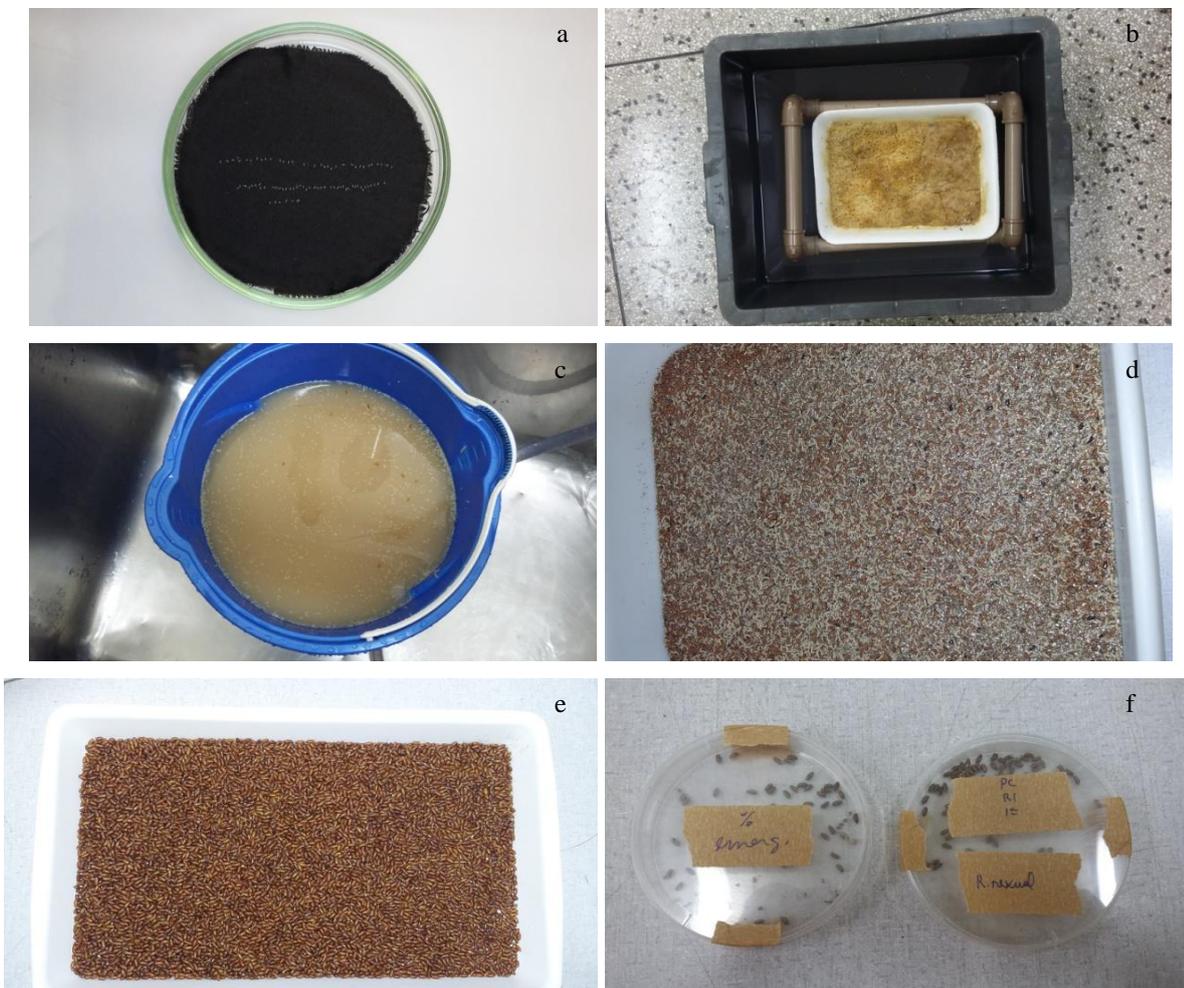
três dietas, após cada dieta ter sido arrefecida. Cada bandeja foi selada após a semeadura dos ovos e todas foram armazenadas na sala de criação [24 ± 2 °C, UR $75 \pm 5\%$ e tempo total de escuro]. Foram realizadas quatro repetições para cada dieta. Após as larvas atingirem o 3º instar e abandonarem a dieta, as mesmas foram recuperadas para pupação, sendo acondicionadas em potes plásticos contendo vermiculita seca, dispostos em sala climatizada [24 ± 2 °C, UR $75 \pm 5\%$ e tempo total de escuro] [Figura 7d].

Foram avaliados, para cada volume de ovos semeados em cada dieta, os seguintes parâmetros de controle de qualidade recomendados pela FAO/IAEA/USDA (2014) para moscas-das-frutas: número total e peso médio de larvas de 3º instar, porcentagem de recuperação larval, período larval, número total, peso médio e diâmetro médio das pupas, porcentagem de recuperação pupal, porcentagem de recuperação ovo-pupa, período pupal, porcentagem de emergência de adultos e razão sexual. Cada parâmetro foi avaliado da seguinte maneira:

- a) número total de larvas de 3º instar: sete dias após a semeadura dos ovos, foi medido o volume de 1 mL de larvas de 3º instar e, posteriormente, foi contado o número de larvas presentes nesse volume. Depois, foi medido o volume total de larvas de 3º instar, e o número total foi estimado com base na quantidade em 1 mL [Figuras 7c];
- b) peso médio de larvas de 3º instar: sete dias após os ovos terem sido semeados, foi registrado o peso total de 100 larvas de 3º instar, e, então, o valor total foi dividido por 100;
- c) porcentagem de recuperação larval: No momento da semeadura dos ovos, foram colocados 3 lotes, cada um em uma placa de Petri, de ovos e/ou larvas recém-eclodidas, contando-se, em seguida, o número exato de ovos e larvas [Figura 7a]. Depois de 4 dias, foram contados o número de ovos inviáveis, estimando-se, então, o número total de eclosão de larvas na dieta. Por fim, o número total de larvas de 3º instar que saíram da dieta foi dividido pelo número total estimado de eclosão, sendo o resultado multiplicado por 100;
- d) período larval: Correspondeu ao número de dias desde a semeadura dos ovos até que a primeira larva de 3º instar saía da dieta [Figura 7b];

- e) número total de pupas: Após serem formadas todas as pupas [Figura 7e], foi medido o volume de 1 mL de pupas e, posteriormente, foi contado o número de pupas presentes nesse volume. Depois, foi medido o volume total de pupas, e o número total foi estimado com base na quantidade em 1 mL;
- f) peso médio de pupas: dois dias antes da emergência dos adultos, foi registrado o peso total de 100 pupas, e, então, o valor foi dividido por 100;
- g) diâmetro médio de pupas: dois dias antes da emergência dos adultos, foram medidos os diâmetros de 100 pupas com paquímetro de plástico, e, então, o valor total foi dividido por 100;
- h) porcentagem de recuperação pupal: o número total de pupas foi dividido pelo número total de larvas, e o resultado foi multiplicado por 100;
- i) porcentagem de recuperação ovo-pupa: O número total de pupas foi dividido pelo número total estimado de eclosão, e o resultado foi multiplicado por 100;
- j) período pupal: foi contado o número de dias desde a formação das primeiras 20 pupas até a primeira emergência de adulto;
- k) porcentagem de emergência de adultos: dois dias antes da emergência dos adultos, 50 pupas foram colocadas em placas de Petri [Figura 7f]. Passadas 96 h após a emergência, foi calculada a porcentagem de emergência. Foram feitas 10 repetições;
- l) razão sexual: dois dias antes da emergência dos adultos, 100 pupas foram colocadas em placas de Petri. Passadas 96 h após a emergência, o número de fêmeas foi dividido pelo número total de adultos ($F/(M + F)$).

Figura 7a. Placa de eclosão; 7b. Larvas se movendo para fora da dieta e caindo na água; 7c. Larvas sendo coletadas da dieta para posterior pupação; 7d. Larvas empupando em vermiculita; 7e. Pupas nuas; 7f. Placas de emergência e razão sexual



Fonte: Laboratório de Radioentomologia e Irradiação de Alimentos (LIARE), CENA/USP (2018).

4.1.2 *Anastrepha fraterculus*

Foram testados três diferentes tipos de dieta artificial para a criação das larvas desta espécie:

a) dieta à base de farinha de milho [dieta FM]. Para preparo de 1 kg de dieta, eram utilizados 300 g de farinha de milho amarela *Yoki*[®] [*General Mills Brasil Alimentos Ltda.*, Cambará, PR], 50 g de levedura de cerveja liofilizada *Brewcell*[®] [*Biorigin*, Lençóis Paulista, SP], 30 g de açúcar cristal *Caravelas*[®] [*Usina Colombo S/A*, Ariranha, SP], 1.120 mL de água filtrada, 2 g de benzoato de sódio, 2 mL de solução alcoólica de nipagin [10 g de nipagin para 100 mL de álcool] e 6 g de ácido cítrico, sendo o pH inicial entre 4,2 e 4,5 [Figura 4a];

b) dieta à base de farinha de milho com carragenina [dieta MC]. Para preparo de 1 L de dieta, eram utilizados 60 g de farinha de milho amarela *Yoki*[®] [*General Mills Brasil Alimentos Ltda.*, Cambará, PR], 60 g de levedura de cerveja liofilizada *Brewcell*[®] [*Biorigin*, Lençóis Paulista, SP], 60 g de açúcar cristal *Caravelas*[®] [*Usina Colombo S/A*, Ariranha, SP], 800 mL de água filtrada, 6 g de carragenina, 1 g de benzoato de sódio, 8 mL de solução alcoólica de nipagin e 4 mL de ácido clorídrico comercial, ficando o pH inicial entre 3,4 e 3,7 [Figuras 8a e 8b];

c) dieta à base de pó de cenoura liofilizada [dieta PC]. Para preparo de 1 kg de dieta, eram utilizados 150 g de pó de cenoura liofilizada [*Aloe Química Fina*, Palhoça, SC], 70 g de levedura de cerveja liofilizada *Brewcell*[®] [*Biorigin*, Lençóis Paulista, SP], 330 mL de água filtrada, 2,5 g de benzoato de sódio, 2 g de nipagin e 8 g de ácido cítrico, sendo o pH inicial de 3,5 [Figura 4c].

Figura 8a. Dieta à base de farinha de milho com carragenina (MC). Figura 8b. Mix utilizado para preparar a dieta



Fonte: Laboratório de Radioentomologia e Irradiação de Alimentos (LIARE), CENA/USP (2018).

Foram testadas cinco diferentes densidades larvais nas dietas FM e PC, e sete na MC. Para isso, foram inoculados separadamente diferentes volumes de ovos [0,5; 1,0; 2,0; 3,0; e 4,0 mL de ovos/1 kg de dieta larval para as dietas FM e PC; e 0,5; 0,7; 1,0; 1,3; 1,5; 1,7; e 2,0 mL de ovos/1 L de dieta larval para a dieta MC, correspondendo a 11.700 ovos cada mL]. Cada alíquota de ovos foi semeada, após aeração em banho-maria a 24 °C por 72 h, para avaliação do desenvolvimento em cada tratamento de dieta artificial.

A preparação das dietas ocorreu imediatamente antes do teste e 1 kg de cada dieta com até 2 cm de espessura [3 L no caso da dieta MC] foi colocado em bandejas de polietileno de dimensões 27,3 x 17,5 cm [para 1 kg das dietas FM e PC] e 47,2 x 30,2 cm [para 3L da dieta MC]. A tampa de cada bandeja tinha um furo [7% da área] para permitir a respiração, além de ser coberta por uma tela de poliéster [com furos de 105 µm, 52% da área] para evitar a entrada de *Drosophila* spp. Os diferentes volumes de ovos foram semeados separadamente nas três dietas, após cada uma ter sido arrefecida a 24 °C [ou gelificada para a dieta contendo carragenina]. Cada bandeja foi selada após a semeadura dos ovos e todas foram armazenadas na sala de criação [24 ± 2 °C, UR 75 ± 5% e tempo total de escuro]. Foram realizadas quatro repetições para cada dieta. As larvas foram recuperadas para pupação, sendo acondicionadas em potes plásticos contendo vermiculita seca, dispostos em sala climatizada escura [24 ± 2 °C, UR 75 ± 5% e tempo total de escuro].

Foram avaliados, para cada volume de ovos semeados em cada dieta, os mesmos parâmetros de controle de qualidade utilizados para *C. capitata*: número total e peso médio de larvas de 3º instar; porcentagem de recuperação larval; período larval; número total, peso médio e diâmetro médio de pupas; porcentagem de recuperação pupal; porcentagem de recuperação ovo-pupa; período pupal; porcentagem de emergência de adultos e razão sexual. Cada parâmetro foi avaliado da seguinte maneira:

- a) número total de larvas de 3º instar: passados 8-9 dias após a semeadura dos ovos, foi medido o volume de 1 mL de larvas de 3º instar e, posteriormente, foi contado o número de larvas presentes nesse volume. Depois, foi medido o volume total de larvas de 3º instar e o número total foi estimado com base na quantidade em 1 mL [Figuras 9 e 10];
- b) peso médio de larvas de 3º instar: passados 8-9 dias após a semeadura dos ovos, foi registrado o peso total de 100 larvas de 3º instar, e, então, o valor total foi dividido por 100;

c) porcentagem de recuperação larval: No momento da semeadura dos ovos, foram colocados 3 lotes, cada um em uma placa de Petri, de ovos e/ou larvas recém-eclodidas, contando-se, em seguida, o número exato de ovos e larvas [Figura 7a].

Depois de 4 dias, foram contados o número de ovos inviáveis, estimando-se, então, o número total de eclosão de larvas na dieta. Por fim, o número total de larvas de 3º instar que saíram da dieta foi dividido pelo número total estimado de eclosão, sendo o resultado multiplicado por 100;

d) período larval: foi contado o número de dias desde a semeadura dos ovos até que a primeira larva de 3º instar saia da dieta;

e) número total de pupas: após serem formadas todas as pupas, foi medido o volume de 1 mL de pupas e, posteriormente, foi contado o número de pupas presentes nesse volume. Depois, foi medido o volume total de pupas, e o número total foi estimado com base na quantidade em 1 mL;

f) peso médio de pupas: dois dias antes da emergência dos adultos, foi registrado o peso total de 100 pupas, e, então, o valor foi dividido por 100;

g) diâmetro médio de pupas: dois dias antes da emergência dos adultos, foram medidos os diâmetros de 100 pupas com paquímetro de plástico, e, então, o valor total foi dividido por 100;

h) porcentagem de recuperação pupal: o número total de pupas foi dividido pelo número total de larvas, e o resultado foi multiplicado por 100;

i) porcentagem de recuperação ovo-pupa: o número total de pupas foi dividido pelo número total estimado de eclosão, e o resultado foi multiplicado por 100;

j) período pupal: foi contado o número de dias desde a formação das primeiras 20 pupas até a primeira emergência de adulto;

k) porcentagem de emergência de adultos: dois dias antes da emergência dos adultos, 50 pupas foram colocadas em placas de Petri. Passadas 96 h da emergência, foi calculada a porcentagem de emergência. Foram feitas 6 repetições;

l) razão sexual: dois dias antes da emergência dos adultos, 100 pupas foram colocadas em placas de Petri. Passadas 96 h da emergência, o número de fêmeas foi dividido pelo número total de adultos ($F/(M + F)$).

Figura 9. Larvas saindo da dieta



Fonte: Laboratório de Radioentomologia e Irradiação de Alimentos (LIARE), CENA/USP (2018).

Figura 10. Larvas adormecidas na água, antes de serem colocadas para pupação em vermiculita



Fonte: Laboratório de Radioentomologia e Irradiação de Alimentos (LIARE), CENA/USP (2018).

4.2 Determinação das melhores dietas para criação das moscas-das-frutas

Após a determinação da densidade larval ótima para cada dieta testada para as duas espécies de moscas-das-frutas, as mesmas dietas foram testadas em bandejas de dimensões 47,2 x 30,2 cm, com 3 kg de dieta [até 2 cm de espessura], e foram avaliados os mesmos

parâmetros de controle de qualidade, além da habilidade de voo dos adultos e da viabilidade econômica na cidade de Piracicaba – SP. Os resultados utilizados referentes às moscas criadas na dieta larval MC em sua densidade ótima, inclusive de habilidade de voo, foram os mesmos já obtidos anteriormente a partir de bandejas contendo 3 L da referida dieta.

Para avaliar a habilidade de voo, foi seguida a metodologia descrita no manual da FAO/IAEA/USDA (2014). Cinquenta pupas foram colocadas dentro de um círculo de papel no fundo de uma placa de Petri escura. Depois que as moscas emergidas tinham escapado ou perecido [aproximadamente 72 h após a emergência], o conteúdo do interior dos tubos opacos [moscas que restaram] foi avaliado [Figura 11]. Foram feitas quatro repetições por tratamento.

Figura 11. Teste de habilidade de voo



Fonte: Laboratório de Radioentomologia e Irradiação de Alimentos (LIARE), CENA/USP (2018).

Com relação à viabilidade econômica, foi feita inicialmente a estimativa dos custos dos ingredientes para 1 Kg ou 1 L de dieta e, posteriormente, foi calculado o custo para a produção de 1 milhão de pupas de boa qualidade.

4.2.1 Análises estatísticas

Todos os 12 parâmetros de controle de qualidade avaliados para a espécie *C. capitata* [número total e peso médio de larvas de 3º instar; recuperação larval [%]; período larval; número total, peso médio e diâmetro médio das pupas; recuperação pupal [%]; recuperação ovo-pupa [%]; período pupal; emergência de adultos [%]; razão sexual; e habilidade de voo] e 8 parâmetros avaliados para *A. fraterculus* [recuperação larval [%]; período larval; diâmetro

médio das pupas; recuperação pupal [%]; período pupal; emergência de adultos [%]; razão sexual; e habilidade de voo] foram analisados aplicando-se o teste F à análise de variância [$p < 0,05$] e, quando detectada diferença significativa, o teste de Tukey [$\alpha = 0,05$] foi utilizado para comparar as médias. No caso de comparação entre apenas dois tratamentos, foi utilizado o teste- t de Student [$\alpha = 0,05$]. Essas análises foram efetuadas através do programa estatístico SAS 9.1 [SAS Institute, 2003]. Para os parâmetros número total e peso médio de larvas e pupas [melhor densidade larval] de *A. fraterculus* criadas na dieta MC, foram aplicadas análises de regressão através do programa estatístico Table Curve 2D v5.01 [Systat Software Inc., San Jose, CA].

4.2.2 Análise econômica

Após uma pesquisa de mercado na cidade de Piracicaba – SP, foi calculado o custo de preparo de 1 Kg ou 1 L de dieta com base no preço dos ingredientes e nas quantidades utilizadas de cada um. A partir da quantidade de pupas produzidas por 1 Kg ou 1 L de cada dieta, foi calculada a quantidade de dieta necessária para a produção de 1 milhão de pupas. Por fim, foi calculado o custo de produção de 1 milhão de pupas na biofábrica-piloto do CENA/USP de acordo com as dietas larvais selecionadas.

Uma análise paralela também foi realizada para demonstrar a porcentagem de participação de cada ingrediente no custo total das dietas.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 *Ceratitis capitata*

5.1.1 Seleção da densidade larval ótima

Após avaliação das cinco densidades de ovos de *C. capitata* na dieta FM, a densidade de 2 mL de ovos/kg de dieta resultou no maior número de larvas, enquanto que a densidade de 0,3 mL de ovos/kg de dieta produziu o menor valor [$F_{4,19}=58,58$; $P<10^{-4}$] [Tabela 1]. Entretanto, a densidade de 2 mL de ovos/kg de dieta produziu larvas com peso inferior [$F=13,2$; $P<10^{-4}$] [Tabela 1]. As médias de recuperação larval não diferiram significativamente entre as densidades [$F_{4,19}=1,77$; $P=0,1877$] [Tabela 1]. Quanto ao número de pupas, a densidade de 2 mL de ovos/kg de dieta foi superior às demais, e as médias das densidades de 0,8 e 1 mL de ovos/kg de dieta também foram superiores à de 0,3 mL de ovos/kg de dieta [$F_{4,19}=15,91$; $P<10^{-4}$] [Tabela 1]. As pupas criadas a partir da densidade de 2 mL de ovos/kg de dieta apresentaram baixo peso quando comparadas àquelas provenientes das sementes de 0,3 e 0,5 mL de ovos/kg de dieta [$F_{4,19}=6,63$; $P=0,0028$] [Tabela 1]. A porcentagem de recuperação ovo-pupa resultante da densidade de 0,3 mL de ovos/kg de dieta foi maior do que as das três maiores densidades. A densidade de 2 mL de ovos/kg de dieta ainda foi inferior à de 0,5 mL de ovos/kg de dieta quanto ao mesmo parâmetro [$F_{4,14}=7,61$; $P=0,0044$] [Tabela 1]. Houve menor emergência de adultos oriundos de pupas criadas com a densidade de 2 mL de ovos/kg de dieta [$F_{4,14}=6,17$; $P=0,0091$] [Tabela 1]. A razão sexual dos adultos não diferiu entre os cinco volumes de ovos semeados [$F_{4,18}=0,27$; $P=0,8913$] [Tabela 1].

Com relação à dieta BC, a densidade de 2 mL de ovos/kg de dieta produziu maior número de larvas do que as sementes de 0,3; 0,5; e 0,8 mL de ovos/kg de dieta. Ainda, quando utilizadas as densidades de 0,8 e 1 mL de ovos/kg de dieta, a produção larval foi superior àquela a partir de 0,3 mL de ovos/kg de dieta [$F_{4,14}=17,15$; $P=0,0002$] [Tabela 2]. Quanto ao peso, houve diferença apenas entre as densidades de 0,3 e 2 mL de ovos/kg de dieta, tendo a menor concentração produzido larvas mais pesadas [$F_{4,14}=4,95$; $P=0,0095$] [Tabela 2]. A recuperação larval não diferiu entre as cinco densidades [$F_{4,14}=0,15$; $P=0,9593$] [Tabela 2]. O maior número de pupas foi produzido com a densidade de 2 mL de ovos/kg de dieta. Não houve diferença no peso de pupas entre as cinco densidades larvais testadas [$F_{4,19}=2,44$; $P=0,0922$] [Tabela 2]. As médias de recuperação ovo-pupa

[$F_{4,19}=0,05$; $P=0,9949$], porcentagem de emergência [$F_{4,19}=0,35$; $P=0,8411$] e razão sexual [$F_{4,19}=0,86$; $P=0,5098$] também não diferiram entre as cinco densidades de ovos testadas [Tabela 2].

Na dieta PC, o maior número de larvas foi coletado com o uso da densidade de 2 mL de ovos/kg de dieta. Ao analisar, também, a produção larval, as densidades de 0,8 e 1 mL de ovos/kg de dieta foram superiores à de 0,3 mL de ovos/kg de dieta [$F_{4,16}=33,93$; $P<10^{-4}$] [Tabela 3]. As larvas produzidas a partir das sementes de 0,3; 0,5; e 0,8 mL de ovos/kg de dieta foram mais pesadas do que aquelas provenientes de 2 mL de ovos/kg de dieta [$F_{4,19}=6,16$; $P=0,0039$] [Tabela 3]. Não houve diferença entre as recuperações larvais das cinco densidades de ovos testadas [$F_{4,16}=0,67$; $P=0,6282$] [Tabela 3]. A densidade de 2 mL de ovos/kg de dieta resultou no maior número de pupas. Também pôde ser observada maior produção de pupas com as sementes de 1 mL de ovos/kg de dieta em relação às densidades de 0,3 e 0,5 mL de ovos/kg de dieta [$F_{4,16}=29,43$; $P<10^{-4}$] [Tabela 3]. A densidade de 2 mL de ovos/kg de dieta resultou nas pupas de menor peso [$F_{4,19}=11,48$; $P=0,0002$] [Tabela 3]. Os parâmetros recuperação ovo-pupa [$F_{4,19}=0,61$; $P=0,6618$], porcentagem de emergência [$F_{4,18}=1,77$; $P=0,1912$] e razão sexual [$F_{4,19}=0,27$; $P=0,8914$] não apresentaram diferença significativa entre as cinco densidades larvais testadas [Tabela 3].

Tabela 1 - Parâmetros de controle de qualidade (média±erro padrão) para *Ceratitis capitata* criada em dieta larval à base de farinha de milho com diferentes densidades larvais

Parâmetros de Controle de Qualidade	Densidade (mL ovos/kg de dieta)					ANOVA
	0,3	0,5	0,8	1,0	2,0	
Nº de larvas	4.389±398 d	6.408±523 c	9.468±559 b	11.632±784 b	20.657±1.629 a	F _{4,19} =58,58; C.V.=1,7%; P<10 ⁻⁴
Peso larval (mg)	9,2±0,5 a	8,5±0,2 a	7,6±0,6 a	7,4±0,3 a	5,4±0,3 b	F _{4,19} =13,20; C.V.=10,5%; P<10 ⁻⁴
Recuperação larval (%)	73,0±8,2 a	63,7±6,2 a	58,9±4,9 a	58,0±5,3 a	51,4±4,9 a	F _{4,19} =1,77; C.V.=19,8%; P=0,1877
Período larval (dias)	6,0±0,0 a	6,0±0,0 a	6,0±0,0 a	6,0±0,0 a	5,5±0,3 a	F _{4,19} =3,00; C.V.=4,4%; P=0,0528
Nº de pupas	3.884±467 b	6.089±505 ab	7.211±1.156 b	8.599±1.237 b	15.551±2.103 a	F _{4,19} =15,91; C.V.=2,8%; P<10 ⁻⁴
Peso de pupas (mg)	8,1±0,2 a	7,5±0,4 a	6,3±0,6 ab	6,3±0,7 ab	4,9±0,4 b	F _{4,19} =6,63; C.V.=14,8%; P=0,0028
Diâmetro de pupas (mm)	1,7±0,03 a	1,6±0,01 ab	1,5±0,04 bc	1,6±0,03 ab	1,4±0,03 c	F _{4,19} =13,10; C.V.=3,7%; P<10 ⁻⁴
Recuperação pupal (%)	88,0±4,0 ab	95,1±1,8 a	74,9±7,2 ab	72,9±5,2 b	74,3±4,8 ab	F _{4,19} =4,09; C.V.=12,1%; P=0,0194
Recuperação ovo-pupa (%)	64,7±9,2 a	60,6±6,1 ab	45,2±8,4 bc	43,0±7,3 bc	38,9±6,0 c	F _{4,14} =7,61; C.V.=5,6%; P=0,0044
Período pupal (dias)	9,7±0,3 a	10,0±0,0 a	10,0±0,0 a	10,3±0,3 a	10,7±0,3 a	F _{4,14} =2,17; C.V.=4,4%; P=0,1466
Emergência (%)	95,6±0,6 a	96,9±1,2 a	93,1±0,2 a	92,9±4,1 a	78,9±4,8 b	F _{4,14} =6,17; C.V.=5,5%; P=0,0091
Razão sexual	0,45±0,05 a	0,44±0,03 a	0,50±0,03 a	0,47±0,03 a	0,46±0,05 a	F _{4,18} =0,27; C.V.=16,0%; P=0,8913

*Médias na mesma linha seguidas da mesma letra não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey (P>0,05).

Tabela 2 – Parâmetros de controle de qualidade (média±erro padrão) para *Ceratitits capitata* criada em dieta larval com bagaço de cana-de-açúcar com diferentes densidades larvais

Parâmetros de Controle de Qualidade	Densidade (mL ovos/kg de dieta)					ANOVA
	0,3	0,5	0,8	1,0	2,0	
N° de larvas	1.787±198 c	3.573±566 bc	5.212±1.065 b	6.307±1.659 ab	13.550±2.140 a	F _{4,14} =17,15; C.V.=3,5%; P=0,0002
Peso larval (mg)	11,7±0,3 a	11,1±0,2 ab	11,1±0,5 ab	10,9±0,4 ab	9,6±0,4 b	F _{4,14} =4,95; C.V.=6,5%; P=0,0095
Recuperação larval (%)	30,7±3,8 a	36,8±6,3 a	33,6±7,3 a	32,6±9,0 a	34,9±5,9 a	F _{4,14} =0,15; C.V.=9,4%; P=0,9593
Período larval (dias)	7,3±0,3 a	7,0±0,4 a	7,0±0,0 a	7,3±0,3 a	6,5±0,3 a	F _{4,19} =1,25; C.V.=7,8%; P=0,3324
N° de pupas	1.748±190 c	3.068±470 bc	5.023±1.027 b	6.176±1.542 b	13.105±1.874 a	F _{4,14} =19,27; C.V.=3,4%; P<10 ⁻⁴
Peso de pupas (mg)	9,3±0,1 a	9,3±0,1 a	9,3±0,3 a	8,9±0,1 a	8,3±0,5 a	F _{4,19} =2,44; C.V.=6,2%; P=0,0922
Diâmetro de pupas (mm)	1,8±0,03 a	1,8±0,05 a	1,8±0,02 a	1,8±0,02 a	1,7±0,05 a	F _{4,19} =0,96; C.V.=4,1%; P=0,4565
Recuperação pupal (%)	98,2±0,7 a	86,1±0,8 b	95,5±1,0 a	98,9±0,9 a	95,4±2,7 a	F _{4,18} =27,83; C.V.=2,1%; P<10 ⁻⁴
Recuperação ovo-pupa (%)	30,0±3,6 a	31,6±5,3 a	32,4±7,1 a	31,9±8,4 a	33,7±5,2 a	F _{4,19} =0,05; C.V.=33,3%; P=0,9949
Período pupal (dias)	9,8±0,5 a	10,0±0,4 a	9,8±0,5 a	10,0±0,6 a	9,3±0,3 a	F _{4,19} =0,46; C.V.=9,3%; P=0,7645
Emergência (%)	98,5±0,4 a	98,3±0,9 a	98,7±0,5 a	98,3±0,8 a	97,3±0,4 a	F _{4,19} =0,35; C.V.=1,3%; P=0,8411
Razão sexual	0,42±0,05 a	0,40±0,02 a	0,36±0,05 a	0,43±0,04 a	0,45±0,04 a	F _{4,19} =0,86; C.V.=19,0%; P=0,5098

*Médias na mesma linha seguidas da mesma letra não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey (P>0,05).

Tabela 3 – Parâmetros de controle de qualidade (média±erro padrão) para *Ceratitis capitata* criada em dieta larval à base de pó de cenoura liofilizada com diferentes densidades larvais.

Parâmetros de Controle de Qualidade	Densidade (mL ovos/kg de dieta)					ANOVA
	0,3	0,5	0,8	1,0	2,0	
Nº de larvas	3.044±730 c	6.105±872 bc	8.866±1.143 bc	13.098±1.564 b	20.610±1.065 a	$F_{4,16}=33,93$; C.V.=19,9%; $P<10^{-4}$
Peso larval (mg)	10,2±0,4 a	9,7±0,2 a	9,3±0,5 a	8,6±0,7 ab	6,5±0,8 b	$F_{4,19}=6,16$; C.V.=12,9%; $P=0,0039$
Recuperação larval (%)	50,9±12,4 a	61,2±9,2 a	55,5±7,5 a	65,5±8,2 a	51,4±2,6 a	$F_{4,16}=0,67$; C.V.=26,0%; $P=0,6282$
Período larval (dias)	7,5±0,3 a	7,5±0,3 a	7,5±0,3 a	6,8±0,3 a	7,0±0,4 a	$F_{4,19}=1,30$; C.V.=8,5%; $P=0,3129$
Nº de pupas	2.837±796 c	5.726±1.034 c	7.735±1.827 bc	12.508±1.285 b	19.747±1.069 a	$F_{4,16}=29,43$; C.V.=22,0%; $P<10^{-4}$
Peso de pupas (mg)	8,7±0,2 a	8,3±0,1 a	8,3±0,3 a	8,0±0,2 a	6,4±0,4 b	$F_{4,19}=11,48$; C.V.=6,7%; $P=0,0002$
Diâmetro de pupas (mm)	1,7±0,03 ab	1,8±0,03 a	1,8±0,02 a	1,7±0,03 ab	1,6±0,04 b	$F_{4,19}=3,90$; C.V.=4,1%; $P=0,0229$
Recuperação pupal (%)	92,3±2,5 a	92,0±2,9 a	98,8±1,0 a	96,2±2,1 a	95,9±2,4 a	$F_{4,19}=1,60$; C.V.=4,8%; $P=0,2259$
Recuperação ovo-pupa (%)	47,4±13,5 a	57,5±10,8 a	54,5±6,6 a	62,5±6,8 a	49,3±2,6 a	$F_{4,19}=0,61$; C.V.=27,4%; $P=0,6618$
Período pupal (dias)	9,5±0,7 a	9,3±0,9 a	9,0±0,7 a	8,5±0,3 a	8,8±0,5 a	$F_{4,18}=0,47$; C.V.=13,1%; $P=0,7600$
Emergência (%)	99,3±0,4 a	98,8±0,2 a	97,7±1,1 a	98,2±0,5 a	91,7±4,5 a	$F_{4,18}=1,77$; C.V.=1,8%; $P=0,1912$
Razão sexual	0,44±0,03 a	0,40±0,06 a	0,42±0,02 a	0,40±0,06 a	0,47±0,08 a	$F_{4,19}=0,27$; C.V.=25,4%; $P=0,8914$

*Médias na mesma linha seguidas da mesma letra não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey ($P>0,05$).

Para a escolha da densidade de semeadura ótima para cada uma das três dietas, foram considerados os valores médios de parâmetros de controle de qualidade recomendados pela FAO/IAEA/USDA (2014) para *medfly*. Valores acima de 93% para emergência, antes da irradiação, e maiores do que 7,5 mg para peso de pupas são considerados aceitáveis para linhagens bissexuais dessa espécie em biofábricas destinadas à produção de machos estéreis.

Nos testes feitos com a dieta FM, as densidades de 1 e 2 mL de ovos/kg de dieta não superaram os 93% de emergência. Apenas as concentrações de 0,3 e 0,5 mL de ovos/kg de dieta resultaram em pupas com peso maior ou igual a 7,5 mg. Dessa forma, estas foram as únicas densidades aceitáveis para a criação de *C. capitata* com a dieta FM. Sendo assim, entende-se que é mais viável a escolha da concentração de 0,5 mL de ovos/kg de dieta por produzir maior número de pupas quando comparada à densidade de 0,3 mL de ovos/kg de dieta.

Utilizando a dieta BC, todas as densidades resultaram em emergência de adultos acima de 93% e em pupas com mais de 7,5 mg. Assim, foi selecionada a densidade de 2 mL de ovos/kg de dieta por alcançar a maior produção de pupas.

Finalmente, analisando os parâmetros de controle de qualidade de criação de *C. capitata* a partir da dieta larval PC, vimos que apenas a densidade de 2 mL de ovos/kg de dieta produziu pupas com menos de 7,5 mg e não atingiu os 93% de emergência. Assim como para as outras duas dietas, seguindo os valores de controle de qualidade recomendados pela FAO/IAEA/USDA (2014), foi escolhida a densidade que atingiu o maior número de pupas [*i.e.*, 1 mL de ovos/kg de dieta].

5.1.2 Definição da dieta mais eficiente

Comparando as 3 dietas, cada uma com a sua densidade ótima de ovos, a ordem decrescente de produção de larvas entre as dietas foi BC>FM>PC [$F_{2,9}=32,12$; $P=0,0003$] [Tabela 4 e Figura 12]. Este resultado pode ser devido ao maior número de ovos semeados na dieta BC. Ao se analisar os resultados da recuperação larval, a ordem decrescente foi FM>PC>BC, embora não tenha havido diferença significativa entre as dietas BC e PC [$F_{2,9}=363,57$; $P<10^{-4}$] [Tabela 4 e Figura 14]. A partir desses resultados, pode-se lançar a hipótese de que a farinha de milho é um ingrediente que contribui para melhores resultados de recuperação larval. O excesso de levedura pode estar associado à diminuição da produção larval, visto que a dieta FM é a que contém a menor proporção de levedura, enquanto que BC

é a que possui maior quantidade desse ingrediente. Deve-se ressaltar também que a dieta BC é a única que contém germe de trigo. Resultados de Moreno, Zaleta e Mangan (1997) mostraram uma recuperação larval de *A. obliqua* muito inferior quando utilizadas duas dietas contendo germe de trigo em relação às outras dietas, sendo que havia dietas no mesmo trabalho que continham farinha de milho e pó de cenoura. Vera et al. (2014) também mostraram que dietas que continham germe de trigo tendem a ter uma recuperação larval menor para *A. fraterculus*.

Outra importante observação está no pH, que é maior na dieta FM. Dessa forma, pode-se destacar novamente os resultados de Vera et al. (2014), que mostraram que a porcentagem de recuperação de larvas de *A. fraterculus* aumentava conforme o pH. Devido ao diferente número de ovos semeados, a ordem decrescente de produção de pupas foi a mesma da produção de larvas: BC>FM>PC [$F_{2,9}=33,67$; $P=0,0003$] [Tabela 4 e Figura 12]. A mesma ordem também foi observada no parâmetro recuperação ovo-pupa, o que mostra a eficiência de cada dieta [$F_{2,9}=33,62$; $P=0,0003$] [Tabela 4 e Figura 14]. Resultados de Nestel, Nemny-Lavy e Chang (2004) foram semelhantes, uma vez que mostraram que a recuperação ovo-pupa de *C. capitata* aumentava conforme a concentração de açúcar na dieta larval.

O peso das larvas criadas na dieta BC também foi superior ao das larvas criadas nas outras duas dietas, as quais não diferiram entre si [$F_{2,8}=63,60$; $P<10^{-4}$] [Tabela 4 e Figura 13]. Dessa forma, pode-se notar a influência da quantidade de proteína sobre o peso larval, visto que a dieta BC é a que tem a maior quantidade de levedura. Outro ingrediente que pode ser responsável pela diferença no peso larval é o germe de trigo. Além disso, BC é também a única dieta com bagaço de cana-de-açúcar como agente de volume, o que pode ter contribuído para uma maior mobilidade das larvas na dieta, resultando em uma melhor alimentação e maior peso final das larvas de 3º instar.

Da mesma forma que ocorreu com o peso larval, a dieta BC produziu pupas de maior peso em comparação às outras dietas [$F_{2,9}=53,16$; $P<10^{-4}$] [Tabela 4 e Figura 13]. Além das justificativas apresentadas para os resultados de peso larval, que também se aplicam aos resultados de peso pupal, pode-se levar em consideração o trabalho de Moreno, Zaleta e Mangan (1997), os quais testaram dietas larvais com diferentes concentrações de proteína para *A. obliqua*. Seus resultados mostraram que a dieta com a menor concentração produziu as pupas mais leves, concordando com os nossos resultados para *C. capitata*.

Os mesmos autores apresentaram outros resultados semelhantes ao nosso, quando mostraram que pupas oriundas de larvas criadas em dietas à base de farinha de milho e pó de cenoura liofilizada não diferiram significativamente quanto ao peso, sendo que a última dieta resultou em pupas ligeiramente mais pesadas. Vera et al. (2014) mostraram que maiores concentrações de açúcar na dieta larval tendem a produzir pupas mais pesadas de *A. fraterculus*, estando de acordo com os nossos resultados.

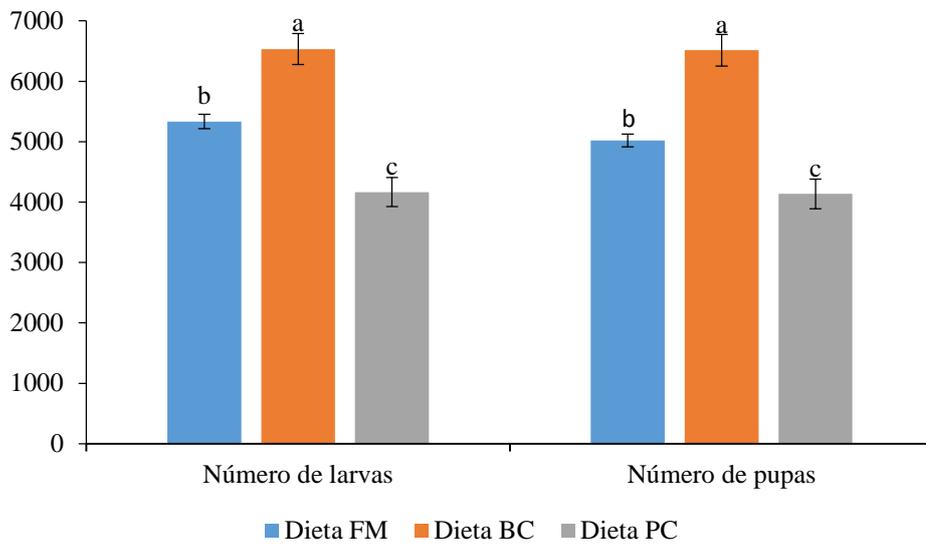
Não houve diferença entre as três dietas para os parâmetros porcentagem de emergência [$F_{2,9}=0,71$; $P=0,5241$], razão sexual [$F_{2,8}=0,80$; $P=0,4921$] e habilidade de voo [$F_{2,9}=0,65$; $P=0,5510$] [Tabela 4 e Figuras 15 e 16]. Quanto à razão sexual, Pascacio-Villafán et al. (2015), trabalhando com *A. ludens*, também não encontraram diferença entre três dietas larvais com diferentes quantidades de levedura, sendo que apenas uma delas continha germe de trigo em sua composição, enquanto as outras duas continham farinha de milho. Embora tenha havido diferença entre os pesos das pupas criadas separadamente nas três dietas em estudo, todas produziram pupas com qualidade suficiente para que atingissem uma alta porcentagem de emergência, além de adultos com elevada habilidade de voo.

Tabela 4 – Parâmetros de controle de qualidade (média±erro padrão) para *Ceratitis capitata* criada nas três dietas larvais testadas (Dieta FM: à base de farinha de milho; Dieta BC: com bagaço de cana-de-açúcar; Dieta PC: à base de pó de cenoura liofilizada)

Parâmetros de Controle de Qualidade	Dietas Larvais			ANOVA
	FM	BC	PC	
Nº de larvas	5.333±119 b	6.533±257 a	4.165±241 c	F _{2,9} =32,12; C.V.=6,8%; P=0,0003
Peso larval (mg)	9,0±0,02 b	10,9±0,09 a	8,8±0,02 b	F _{2,9} =63,60; C.V.=2,7%; P<10 ⁻⁴
Recuperação larval (%)	55,6±1,2 a	17,0±0,7 b	21,7±1,3 b	F _{2,9} =363,57; C.V.=6,2%; P<10 ⁻⁴
Período larval (dias)	6,0±0,0	7,0±0,0	7,0±0,0	Ausência de homocedasticidade
Nº de pupas	5.018±105 b	6.514±263 a	4.135±245 c	F _{2,9} =33,67; C.V.=6,9%; P=0,0003
Peso de pupas (mg)	7,3±0,1 b	8,8±0,1 a	7,5±0,1 b	F _{2,9} =53,16; C.V.=2,7%; P<10 ⁻⁴
Diâmetro de pupas (mm)	1,7±0,02 b	1,8±0,02 a	1,7±0,01 b	F _{2,9} =18,71; C.V.=1,8%; P=0,0016
Recuperação pupal (%)	94,1±0,9 b	99,7±0,3 a	99,3±0,1 a	F _{2,9} =24,49; C.V.=1,2%; P=0,0007
Recuperação ovo-pupa (%)	26,1±0,6 b	33,9±1,34 a	21,5±1,3 c	F _{2,9} =33,62; C.V.=6,9%; P=0,0003
Período pupal (dias)	9,0±0,0	9,0±0,0	9,0±0,0	Ausência de homocedasticidade
Emergência (%)	97,2±1,2 a	95,3±1,5 a	95,7±0,9 a	F _{2,9} =0,71; C.V.=2,3%; P=0,5241
Razão sexual	0,45±0,000 a	0,41±0,044 a	0,41±0,001 a	F _{2,9} =0,80; C.V.=10,6%; P=0,4921
Habilidade de voo	99,5±0,2 a	99,00±0,8 a	98,8±0,3 a	F _{2,9} =0,65; C.V.=0,8%; P=0,5510

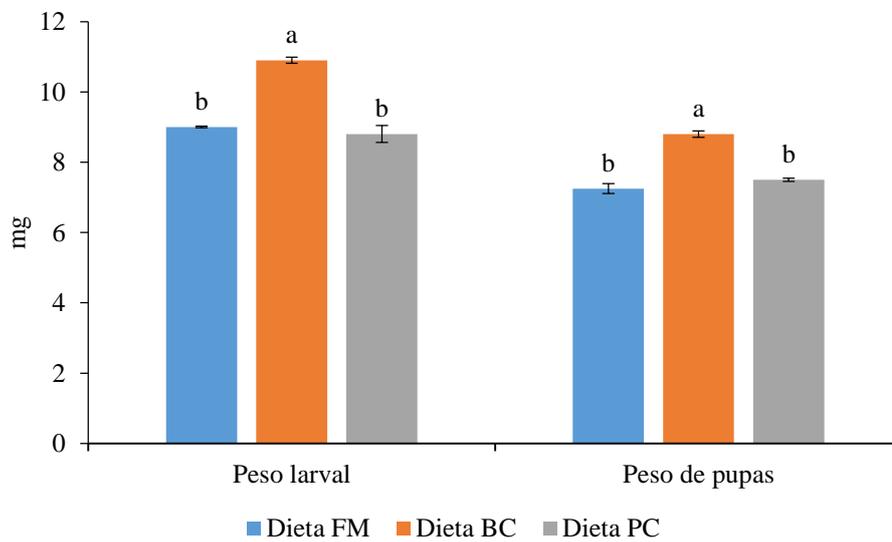
*Médias na mesma linha seguidas da mesma letra não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey (P>0,05).

Figura 12 – Número médio de larvas e pupas produzidas por Kg de dieta (Dieta FM: à base de farinha de milho; Dieta BC: com bagaço de cana-de-açúcar; Dieta PC: à base de pó de cenoura liofilizada)



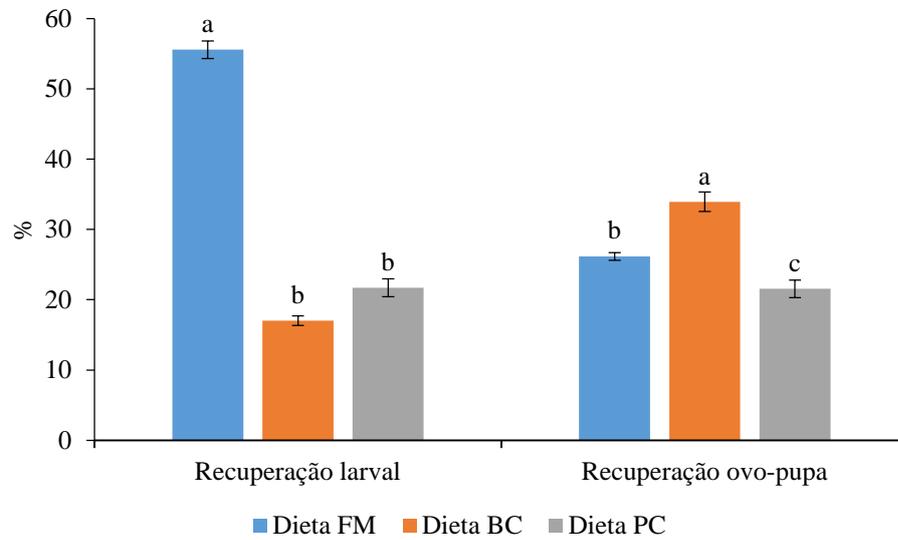
Fonte: Maset (2019).

Figura 13 – Peso médio de larvas e pupas (mg) (Dieta FM: à base de farinha de milho; Dieta BC: com bagaço de cana-de-açúcar; Dieta PC: à base de pó de cenoura liofilizada)



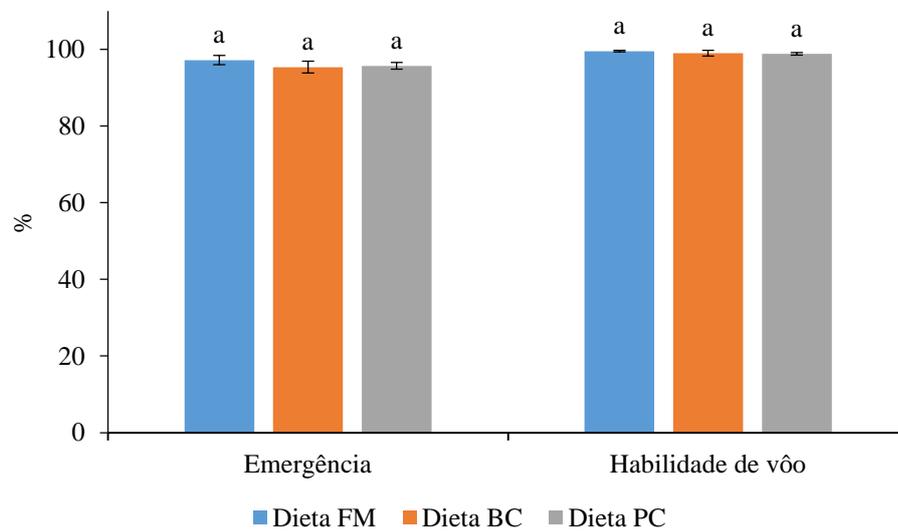
Fonte: Maset (2019).

Figura 14 – Recuperação larval e ovo-pupa (%) (Dieta FM: à base de farinha de milho; Dieta BC: com bagaço de cana-de-açúcar; Dieta PC: à base de pó de cenoura liofilizada)



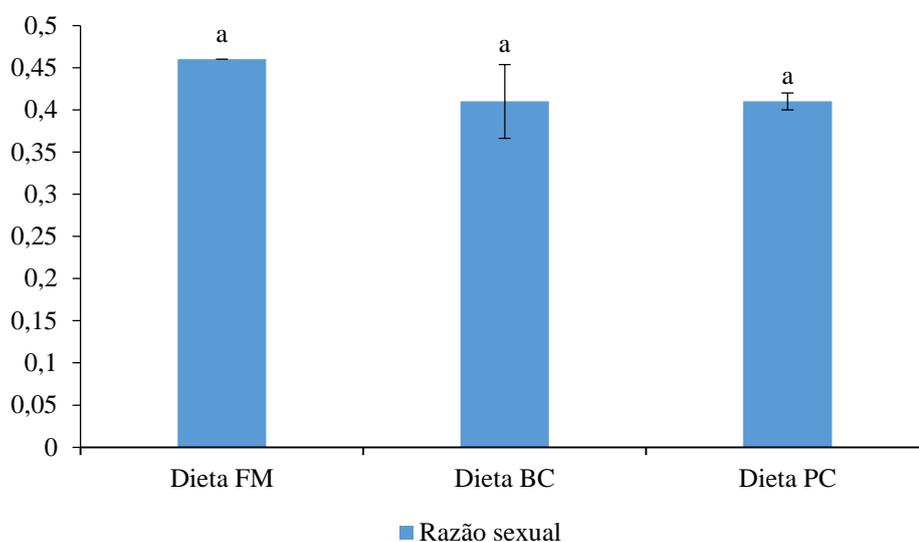
Fonte: Maset (2019).

Figura 15 – Emergência (% de adultos emergidos) e habilidade de voo (% de adultos voadores) (Dieta FM: à base de farinha de milho; Dieta BC: com bagaço de cana-de-açúcar; Dieta PC: à base de pó de cenoura liofilizada)



Fonte: Maset (2019).

Figura 16 – Razão sexual (fêmea/(fêmea+macho)) (Dieta FM: à base de farinha de milho; Dieta BC: com bagaço de cana-de-açúcar; Dieta PC: à base de pó de cenoura liofilizada)



Fonte: Maset (2019).

A partir da análise dos resultados apresentados e sabendo que todas as pupas produzidas pelas três dietas larvais estudadas possuíam qualidade aceitável segundo os padrões da FAO/IAEA/USDA (2014), pode-se adotar a produção pupal como critério de desempate. A dieta larval BC produziu, em média, 6.514 pupas por kg de dieta. A produtividade média das dietas FM e PC foi de 5.018 e 4.135 pupas/kg de dieta, respectivamente. Dessa forma, calculamos que para a produção de 1 milhão de pupas, seria necessário uma média de 153,52; 199,28; e 241,84 kg das dietas larvais BC, FM e PC, respectivamente. Como os resultados de produção de pupas diferiram entre as três dietas, a dieta BC pode ser considerada a mais produtiva. Essa dieta também produziu pupas significativamente mais pesadas do que as produzidas a partir das outras duas dietas.

5.1.3 Avaliação da viabilidade econômica das dietas

Após a verificação da produtividade das dietas [pupas/kg de dieta e kg de dieta/1 milhão de pupas], foi avaliada a viabilidade econômica das mesmas. Para tanto, primeiramente estão apresentados nas Tabelas 5, 6 e 7, a participação e o custo dos ingredientes individuais em 1 kg de cada uma das dietas larvais, conforme recomendado por Pascacio-Villafán et al. (2015).

Tabela 5 – Composição e custo de 1 kg da dieta larval à base de farinha de milho

INGREDIENTE	% da dieta (massa)	Custo (R\$/kg)
Farinha de milho	30,00	1,49
Levedura de cerveja	5,00	0,36
Açúcar cristal	3,00	0,23
Benzoato de sódio	0,20	0,13
Nipagin	0,02	0,02
Álcool etílico	0,16	0,01
Ácido cítrico	0,60	0,18
Água	61,02	-
Total	100	2,42

Tabela 6 – Composição e custo de 1 kg da dieta larval com de bagaço de cana-de-açúcar

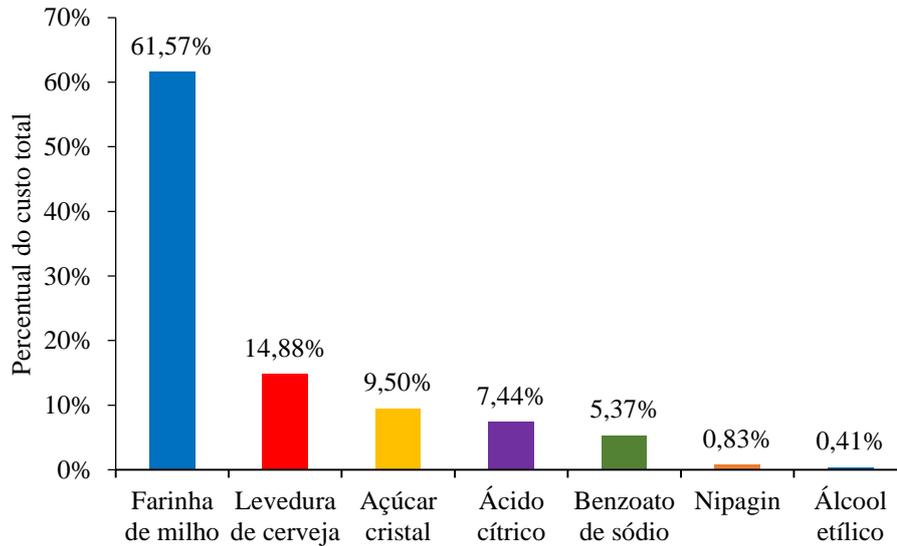
INGREDIENTE	% da dieta (massa)	Custo (R\$/kg)
Bagaço de cana-de-açúcar	9,90	0,00
Levedura de cerveja	9,90	0,71
Açúcar cristal	11,99	0,93
Germe de trigo	2,99	0,63
Farinha de milho	6,50	0,25
Benzoato de sódio	0,30	0,19
Ácido cítrico	0,99	0,30
Antibiótico	0,03	0,06
Água	57,40	-
Total	100	3,07

Tabela 7 – Composição e custo de 1 kg da dieta larval à base de pó de cenoura liofilizada

INGREDIENTE	% da dieta (massa)	Custo (R\$/kg)
Pó de cenoura liofilizada	15,00	3,39
Levedura de cerveja	7,00	0,50
Benzoato de sódio	0,25	0,16
Nipagin	0,20	0,20
Ácido cítrico	0,80	0,24
Água	76,75	-
Total	100	4,49

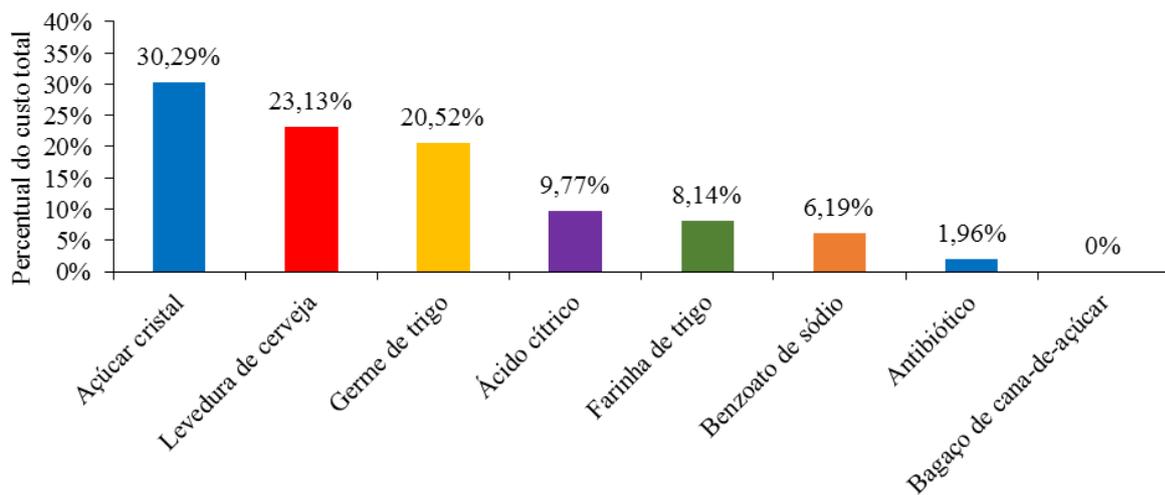
Nas Figuras 17, 18 e 19, estão apresentadas as proporções de cada ingrediente no custo das três dietas larvais testadas.

Figura 17 – Percentual que cada ingrediente representa no custo total da dieta larval à base de farinha de milho



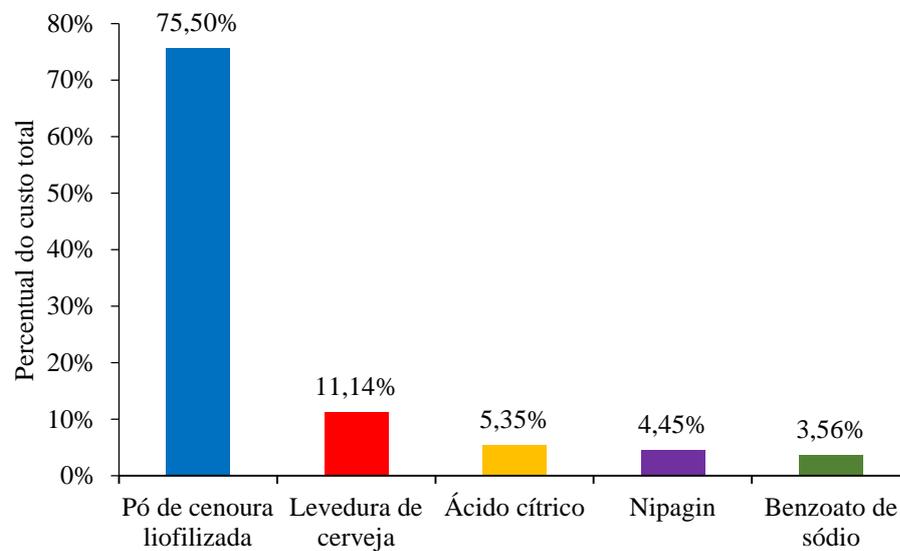
Fonte: Maset (2019).

Figura 18 - Percentual que cada ingrediente representa no custo total da dieta larval com bagaço de cana-de-açúcar



Fonte: Maset (2019).

Figura 19 - Percentual que cada ingrediente representa no custo total da dieta larval à base de pó de cenoura liofilizada



Fonte: Maset (2019).

Após observar as Figuras 17, 18 e 19, percebe-se que a farinha de milho representa mais de 60% do custo total da dieta larval FM, e o pó de cenoura liofilizada corresponde a mais de 75% do custo da dieta PC. Na dieta BC, os ingredientes mais representativos, quanto ao custo, são a levedura de cerveja, o açúcar cristal e o germe de trigo, que juntos, chegam a mais de 70% do total.

Tabela 8 – Dados de produtividade e custos das três dietas larvais estudadas (FM: à base de farinha de milho; BC: com bagaço de cana-de-açúcar; PC: à base de pó de cenoura liofilizada)

Dietas Larvais	R\$/kg de dieta	pupas/kg de dieta	pupas/R\$1,00 de dieta	kg de dieta/1 milhão de pupas	R\$/1 milhão de pupas
FM	2,42	5.018	2.074	199,3	482,26
BC	3,07	6.514	2.122	153,5	471,29
PC	4,49	4.135	1.347	241,8	1.085,85

Pelos resultados apresentados na Tabela 8, a dieta BC é economicamente a mais viável, sendo seu custo para produção de 1 milhão de pupas e número de pupas produzidas por real investido muito próximos da dieta FM.

5.2 *Anastrepha fraterculus*

5.2.1 Seleção da densidade larval ótima

Após avaliação das cinco densidades de ovos de *A. fraterculus* na dieta FM, as densidades de 2, 3 e 4 mL de ovos/kg de dieta produziram significativamente mais larvas de 3º instar do que as duas menores concentrações de ovos. Observou-se um aumento constante na produção larval até a densidade de 3 mL de ovos/kg de dieta, diminuindo na concentração de 4 mL de ovos/kg de dieta [$F_{4,13}=12,81$; $P=0,0009$] [Tabela 9]. A densidade de 0,5 mL de ovos/kg de dieta resultou em larvas mais pesadas quando comparada às densidades de 3 e 4 mL de ovos/kg de dieta. Quando avaliada a recuperação larval, as densidades de 2 e 3 mL de ovos/kg de dieta mostraram-se superiores às de 1 e 4 mL de ovos/kg de dieta [$F_{4,12}=7,92$; $P=0,0069$] [Tabela 9]. Quanto ao número de pupas, as concentrações de 2, 3 e 4 mL de ovos/kg de dieta foram mais produtivas do que as duas menores [$F_{4,13}=10,98$; $P=0,0016$] [Tabela 9]. A densidade de 0,5 mL de ovos/kg de dieta resultou em pupas mais pesadas comparadas às pupas resultantes da semeadura de 3 mL de ovos/kg de dieta [$F_{4,18}=3,83$; $P=0,0264$] [Tabela 9]. A porcentagem de recuperação ovo-pupa que resultou da concentração de 2 mL de ovos/kg de dieta foi maior do que as resultantes das densidades de 0,5; 1 e 4 mL de ovos/kg de dieta. Ainda, a concentração de 3 mL de ovos/kg de dieta foi superior, quanto ao mesmo parâmetro, do que as densidades de 0,5 e 1 mL de ovos/kg de dieta [$F_{4,12}=10,57$; $P=0,0028$] [Tabela 9]. Não houve diferença na emergência [$F_{4,19}=0,28$; $P=0,8853$] e na razão sexual [$F_{4,19}=1,31$; $P=0,3100$], embora tenha emergido maior porcentagem de moscas quando utilizada a densidade de 2 mL de ovos/kg de dieta [Tabela 9].

Os mesmos testes, desta vez aplicados à dieta PC, mostraram que as densidades de 2, 3 e 4 mL de ovos/kg de dieta superaram, quanto ao número de larvas, as sementes de 0,5 e 1 mL de ovos/kg de dieta [$F_{4,14}=42,65$; $P<10^{-4}$] [Tabela 10]. Não foi verificada diferença significativa de peso de larvas entre as cinco concentrações larvais testadas [$F_{4,19}=2,66$; $P=0,0734$] [Tabela 10]. A recuperação larval foi extremamente baixa em todas as densidades testadas, sendo a de 4 mL de ovos/kg de dieta, superior a todas as outras, enquanto que a semeadura de 3 mL de ovos/kg de dieta foi maior do que as de 0,5 e 1 mL de ovos/kg de dieta [$F_{4,17}=47,87$; $P<10^{-4}$] [Tabela 10]. As cinco densidades larvais diferiram, quanto ao número de pupas, da mesma forma que ocorreu com o número de larvas [$F_{4,14}=27,60$; $P<10^{-4}$] [Tabela 10]. Com relação ao peso das pupas, as diferentes de semeadura não diferiram entre si [$F_{4,19}=1,96$; $P=0,1528$] [Tabela 10]. As cinco concentrações larvais diferiram,

quando considerada a recuperação ovo-pupa, da mesma forma observada na recuperação larval [$F_{4,15}=78,81$; $P<10^{-4}$] [Tabela 10]. Analisando a porcentagem de emergência, vê-se que a densidade de 4 mL de ovos/kg de dieta obteve valores superiores aos das densidades 0,5, 2 e 3 mL de ovos/kg de dieta [$F_{4,18}=5,08$; $P=0,0097$] [Tabela 10]. Por fim, as cinco concentrações não diferiram entre si com relação à razão sexual [$F_{4,19}=1,28$; $P=0,3228$] [Tabela 10].

Considerando o número e peso de larvas de 3º instar produzidas nas 7 densidades larvais testadas com a dieta MC, os melhores resultados foram observados entre as densidades de 1 e 1,7 mL de ovos/L de dieta, com os valores decaindo na concentração de 2 mL de ovos/L de dieta [Tabela 11 e Figura 20]. O peso das larvas, conforme esperado, tende a diminuir com o aumento da densidade larval, alcançando o maior e o menor valor nas densidades de 0,7 e 2 mL de ovos/L de dieta, respectivamente [Tabela 11 e Figura 20]. O número de pupas produzidas e seus respectivos pesos nos demonstraram que a produção de pupas com peso ≥ 11 mg progride até a densidade de 1,5 mL de ovos/L de dieta [Tabela 11 e Figura 21]. O peso pupal diminuiu conforme aumentou a densidade larval. Com 1,7 mL de ovos/L de dieta, o peso das pupas foi muito baixo [< 10 mg] [Tabela 11 e Figura 21]. A recuperação larval resultante da densidade de 1 mL de ovos/L de dieta foi superior aos valores das densidades de 1,3 e 2 mL de ovos/kg de dieta [$F_{6,25}=6,93$; $P=0,0005$] [Tabela 11]. Quanto à recuperação ovo-pupa, apenas a maior densidade larval testada apresentou valores significativamente inferiores [$<50\%$] [$F_{6,25}=14,22$; $P<10^{-4}$] [Tabela 11]. Não houve diferença entre as densidades com relação à emergência [$F_{6,25}=2,01$; $P=0,1138$] e razão sexual [$F_{6,25}=0,72$; $P=0,6383$] [Tabela 11].

Tabela 9 – Parâmetros de controle de qualidade (média±erro padrão) para *Anastrepha fraterculus* criada na dieta larval à base de farinha de milho com diferentes densidades larvais

Parâmetros de Controle de Qualidade	Densidade (mL ovos/kg de dieta)					ANOVA
	0,5	1,0	2,0	3,0	4,0	
N° de larvas	672±182 b	919±193 b	4.994±1.357 a	5.519±2.363 a	3.500±1.361 a	F _{4,13} =12,81; C.V.=7,0%; P=0,0009
Peso larval (mg)	17,4±0,6 a	16,2±0,7 ab	15,2±0,5 ab	13,6±1,1 bc	12,0±0,3 c	F _{4,19} =10,04; C.V.=9,0%; P=0,0004
Recuperação larval (%)	15,4±4,3 ab	10,4±2,0 b	29,3±8,4 a	21,9±9,6 a	10,0±4,0 b	F _{4,12} =7,92; C.V.=1,2%; P=0,0069
Período larval (dias)	7,3±0,5 a	7,3±0,3 a	7,3±0,3 a	7,3±0,3 a	7,3±0,3 a	F _{4,19} =0,78; C.V.=8,3%; P=0,5539
N° de pupas	589±172 b	794±195 b	4.849±1.414 a	4.805±2.183 a	2.926±1.188 a	F _{4,13} =10,98; C.V.=7,8%; P=0,0016
Peso de pupas (mg)	12,2±0,4 a	11,4±0,7 ab	10,6±0,5 ab	9,8±0,2 b	10,2±1,0 ab	F _{4,18} =3,83; C.V.=8,3%; P=0,0264
Diâmetro de pupas (mm)	2,2±0,06 a	2,2±0,06 a	2,1±0,05 a	2,1±0,06 a	2,1±0,11 a	F _{4,19} =0,49; C.V.=5,6%; P=0,7433
Recuperação pupal (%)	85,4±4,2 a	84,4±4,7 a	94,2±3,7 a	80,5±5,2 a	76,1±7,9 a	F _{4,19} =1,59; C.V.=12,7%; P=0,2280
Recuperação ovo-pupa (%)	13,5±4,0 bc	9,0±2,0 c	28,5±8,7 a	19,1±8,9 ab	8,4±3,5 c	F _{4,12} =10,57; C.V.=1,2%; P=0,0028
Período pupal (dias)	13,8±0,5 a	14,8±1,1 a	13,0±0,6 a	13,0±0,7 a	14,0±1,1 a	F _{4,19} =0,79; C.V.=12,1%; P=0,5518
Emergência (%)	69,3±4,1 a	68,3±8,2 a	76,8±3,8 a	70,7±8,2 a	70,7±8,1 a	F _{4,19} =0,28; C.V.=17,7%; P=0,8853
Razão sexual	0,61±0,04 a	0,55±0,03 a	0,46±0,04 a	0,54±0,07 a	0,54±0,06 a	F _{4,19} =1,31; C.V.=17,4%; P=0,3100

* Médias na mesma linha seguidas da mesma letra não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey ($P>0,05$).

Tabela 10 – Parâmetros de controle de qualidade (média±erro padrão) para *Anastrepha fraterculus* criada na dieta larval à base de pó de cenoura liofilizada com diferentes densidades larvais

Parâmetros de Controle de Qualidade	Densidade (mL ovos/kg de dieta)					ANOVA
	0,5	1,0	2,0	3,0	4,0	
N° de larvas	36±6 c	77±4 b	280±81 a	927±22 a	1.257±778 a	F _{4,14} =42,65; C.V.=18,5%; P<10 ⁻⁴
Peso larval (mg)	16,4±0,3 a	16,3±0,5 a	16,8±0,9 a	14,8±0,5 a	15,0±0,3 a	F _{4,19} =2,66; C.V.=7,0%; P=0,0734
Recuperação larval (%)	1,0±0,2 c	0,9±0,1 c	2,0±0,5 bc	3,4±0,3 b	5,3±2,3 a	F _{4,17} =47,87; C.V.=0,2%; P<10 ⁻⁴
Período larval (dias)	11,3±0,3 a	10,8±0,3 ab	10,3±0,3 ab	10,3±0,3 ab	9,3±0,8 b	F _{4,19} =3,38; C.V.=7,8%; P=0,0366
N° de pupas	28±6 c	57±2 b	251±88 a	691±40 a	1.194±809 a	F _{4,14} =27,60; C.V.=23,6%; P<10 ⁻⁴
Peso de pupas (mg)	11,2±0,4 a	11,3±0,3 a	10,5±0,4 a	9,7±0,7 a	10,5±0,5 a	F _{4,19} =1,96; C.V.=8,7%; P=0,1528
Diâmetro de pupas (mm)	2,2±0,03 a	2,2±0,08 a	2,1±0,02 a	2,1±0,04 a	2,2±0,01 a	F _{4,18} =0,96; C.V.=2,5%; P=0,4580
Recuperação pupal (%)	76,4±3,6 a	76,0±2,8 a	84,7±5,7 a	75,8±2,7 a	90,3±5,7 a	F _{4,19} =2,31; C.V.=10,7%; P=0,1057
Recuperação ovo-pupa (%)	0,8±0,2 c	0,7±0,1 c	1,7±0,5 bc	2,5±0,2 b	5,1±2,4 a	F _{4,15} =78,81; C.V.=0,1%; P<10 ⁻⁴
Período pupal (dias)	13,5±0,3 a	14,0±0,0 a	13,8±0,5 a	13,3±0,5 a	13,0±0,6 a	F _{4,18} =0,75; C.V.=0,2%; P=0,5752
Emergência (%)	55,4±3,0 b	59,8±2,7 ab	51,2±4,4 b	50,5±5,2 b	65,2±8,3 a	F _{4,18} =5,08; C.V.=13,1%; P=0,0097
Razão sexual	0,58±0,03 a	0,51±0,07 a	0,53±0,05 a	0,56±0,04 a	0,44±0,02 a	F _{4,19} =1,28; C.V.=17,5%; P=0,3228

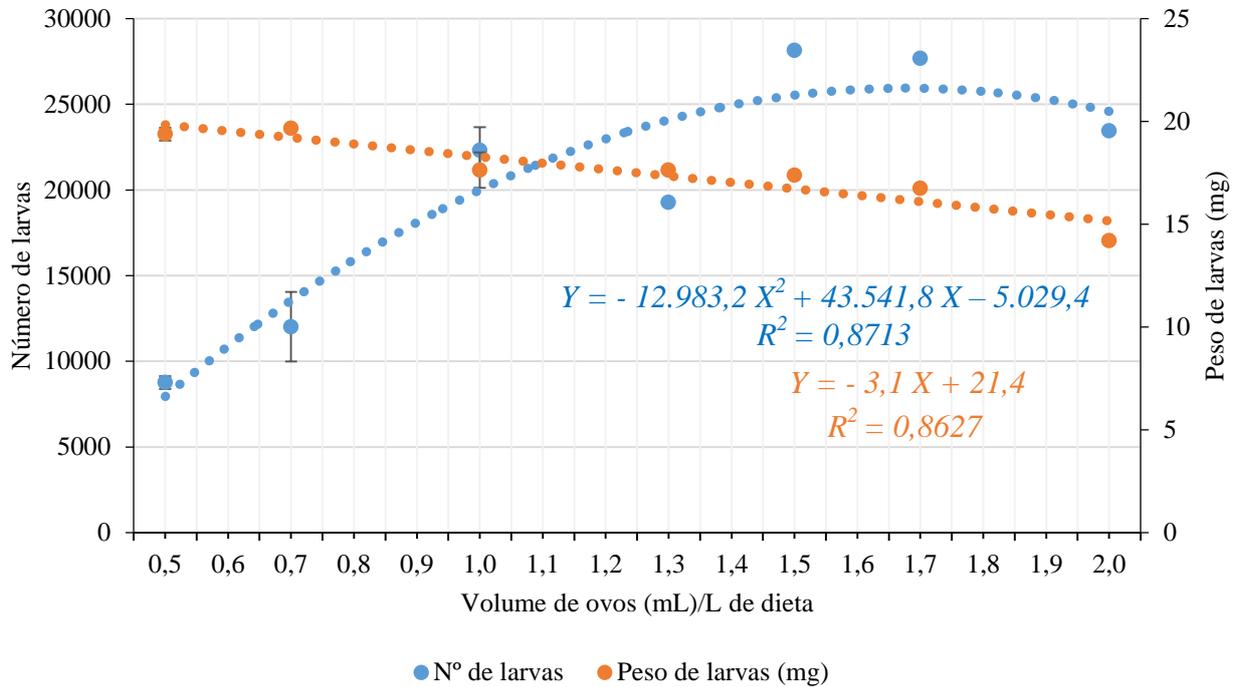
* Médias na mesma linha seguidas da mesma letra não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey (P>0,05).

Tabela 11 – Parâmetros de controle de qualidade (média±erro padrão) para *Anastrepha fraterculus* criada na dieta larval à base de farinha de milho com carragenina com diferentes densidades larvais

Parâmetros de Controle de Qualidade	Densidade (mL ovos/L de dieta)							
	0,5	0,7	1,0	1,3	1,5	1,7	2,0	
Nº de larvas	8.761±373	12.013±1.326	22.312±2.033	19.271±1.658	28.147±1.303	27.668±1.358	23.442±1.385	ANÁLISE DE REGRESSÃO $Y = - 6.778,8 X^2 + 29.499,3 X - 5.029,4$ $r^2 = 0,91$ $Y = - 3,1 X + 21,4$ $r^2 = 0,86$ $Y = 15.693 X - 956,4$ $r^2 = 0,91$ $Y = - 2,5x + 14,5$ $r^2 = 0,78$
Peso larval (mg)	19,4±0,3	19,7±0,4	17,6±0,1	17,6±0,6	17,4±0,5	16,8±0,9	14,2±0,5	
Nº de pupas	7.959±244	13.448 ±1.859	18.557±1.016	1.9105±1.493	22.451±1.439	27.593±1.364	15.357±1.022	
Peso de pupas (mg)	13,4 ±0,2	12,6 ±0,1	11,4 ±0,3	11,9±0,4	11,4 ±0,2	9,4±0,5	10,9±0,2	
Recuperação larval (%)	67,7±2,9 abc	79,0±11,1 ab	86,1±7,9 a	58,7±5,1 bc	72,5±3,4 ab	62,8±3,1 abc	45,3±2,7 c	F _{6,25} =6,93; C.V.=1,2%; P=0,0005
Período larval (dias)	8,0±0,0 a	8,0±0,0 a	7,7±0,3 ab	7,0±0,0 b	7,3±0,3 ab	7,0±0,0 b	7,0±0,0 b	F _{6,20} =5,67; C.V.=4,4%; P=0,0036
Diâmetro de pupas (mm)	2,2±0,01 a	2,2±0,03 ab	2,1±0,02 ab	2,2±0,03 ab	2,1±0,04 bc	2,0±0,03 c	2,1±0,03 bc	F _{6,25} =10,33; C.V.=2,7%; P<10 ⁻⁴
Recuperação pupal (%)	91,0±1,6 b	94,0±0,6 ab	84,3±4,3 c	99,3±0,73 a	79,6±2,0 c	99,7±0,3 a	65,4±0,6 d	F _{6,24} =64,37; C.V.=3,5%; P<10 ⁻⁴
Recuperação ovo-pupa (%)	61,5±1,9 a	74,2±10,3 a	71,7±3,9 a	58,2±4,6 a	57,8±3,7 a	62,7±3,1 a	29,7±2,0 b	F _{6,25} =14,22; C.V.=1,0%; P<10 ⁻⁴
Período pupal (dias)	15,0±0,0 ab	15,0±0,0 ab	14,0±0,0 c	14,3±0,3 bc	15,3±0,3 a	14,3±0,3 bc	15,0±0,0 ab	F _{6,25} =7,85; C.V.=2,3%; P=0,0002
Emergência (%)	92,3±1,0 a	96,7±2,0 a	91,7±1,4 a	95,1±1,9 a	94,7±0,7 a	90,7±1,9 a	93,0±1,3 a	F _{6,25} =2,01; C.V.=3,0%; P=0,1138
Razão sexual	0,50±0,02 a	0,55±0,02 a	0,50±0,03 a	0,57±0,04 a	0,52±0,03 a	0,53±0,05 a	0,55±0,03 a	F _{6,25} =0,72; C.V.=11,3%; P=0,6383

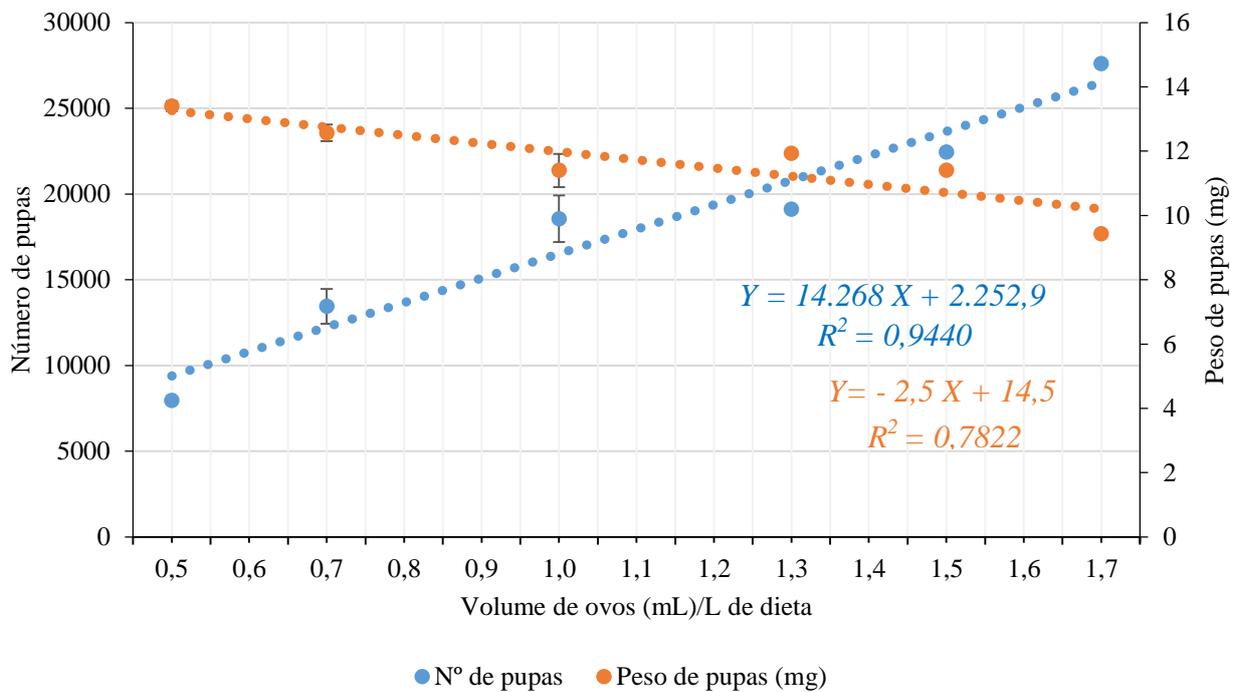
* Médias na mesma linha seguidas da mesma letra não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey (P>0,05).

Figura 20 – Linhas de tendência do número e do peso das larvas produzidas, em 3º instar, na dieta larval à base de farinha de milho com carregenina



Fonte: Maset (2019).

Figura 21 – Linhas de tendência do número e do peso das pupas produzidas na dieta larval à base de farinha de milho com carregenina



Fonte: Maset (2019).

Pelo fato de a dieta PC ter produzido números extremamente baixos de pupas em todos os tratamentos e pupas com mais de 11 mg apenas nas densidades de 0,5 e 1 mL de ovos/kg de dieta, ela foi considerada inviável para a produção massal de *A. fraterculus*.

Para a escolha da densidade ótima de cada uma das duas dietas restantes (FM e MC), foram considerados os resultados de controle de qualidade de *A. fraterculus* obtidos por González, Vargas e Jara (1971), Vera et al. (2007), Vera et al. (2014) e Walder et al. (2014). Além dos valores desses estudos, também foram utilizados como referência os resultados de Orozco-Dávila et al. (2017) obtidos para *A. ludens* e *A. obliqua*, além dos valores mínimos determinados pela FAO/IAEA/USDA para *A. ludens*, *A. obliqua* e *A. suspensa*.

Nos testes com a dieta FM, o número de pupas produzidas com as densidades de 0,5 e 1 mL de ovos/kg de dieta foi muito baixo [< 1.000 pupas]. As pupas resultantes da concentração de 2 mL de ovos/kg de dieta apresentaram peso mais elevado [*i.e.*, $10,6 \pm 0,5$ mg], o que fez com que essa densidade fosse selecionada dentre todas as cinco testadas. Os valores de 76,8% de emergência [a maior dentre todas] e de 0,46 de razão sexual também foram satisfatórios.

Com relação aos parâmetros de controle de qualidade na dieta MC, as densidades 0,5 e 0,7 mL de ovos/L de dieta resultaram em poucas pupas produzidas [< 15.000 pupas] quando comparadas às outras densidades larvais. A produção de pupas aumentou em todas as densidades subsequentes. Porém, o peso pupal foi menor na densidade de 1,7 mL de ovos/L de dieta. Dentre as 3 densidades que produziram grandes quantidades de pupas com pesos satisfatórios e considerando que a densidade ótima estimada estaria entre 1,0 e 1,5 mL ovos/L de dieta [Figuras 20 e 21], a densidade de 1,5 mL de ovos/L de dieta poderia ser adotada para esse tipo de dieta em condições de criação massal de *A. fraterculus*, devido à maior produção.

5.2.2 Definição da dieta mais eficiente

Ao comparar as dietas FM e MC, cada uma com a sua densidade ótima de sementeira de ovos, percebe-se que a produção de larvas na dieta MC foi muito maior [$F_{1,5}=1.280,26$; $P < 10^{-4}$], porém com peso médio equivalente ao das larvas produzidas a partir da dieta FM [$F_{1,6}=1,13$; $P=0,3355$] [Tabela 12]. A recuperação larval na dieta MC foi significativamente maior [$F_{1,5}=1.732,53$; $P < 10^{-4}$] [Tabela 12].

Não houve diferença entre as duas dietas quanto ao período larval [$F_{1,6}=6,43$; $P=0,0522$] [Tabela 12 e Figura 22a]. Resultados de Nestel, Nemny-Lavy e Chang (2004) também mostraram que não houve diferença de período larval entre larvas de *C. capitata* criadas em quatro dietas larvais contendo diferentes quantidades de açúcar, que é o caso das dietas em estudo, sendo a dieta FM a que contém menor quantidade de açúcar.

A dieta MC resultou em uma quantidade de pupas muito maior [$F_{1,6}=181,72$; $P<10^{-4}$] [Tabela 12 e Figura 23a]. O peso das pupas produzidas com o uso da dieta larval FM foi superior, provavelmente por causa do menor número de larvas produzidas, e, conseqüentemente, menor competição [$F_{1,5}=71,03$; $P=0,0011$] [Tabela 12 e Figura 24a]. Porém, resultados de Nestel, Nemny-Lavy e Chang (2004) mostraram que dietas larvais com maior quantidade de açúcar resultaram em pupas de *C. capitata* com menor peso. Da mesma forma, o diâmetro médio das pupas provenientes da dieta FM foi superior [$F_{1,6}=8,03$; $P=0,0365$] [Tabela 12 e Figura 24b].

A recuperação ovo-pupa também foi significativamente maior na dieta MC [$F_{1,5}=4.634,22$; $P<10^{-4}$] [Tabela 12 e Figura 22B]. Moreno, Zaleta e Mangan (1997) testaram dietas larvais com diferentes concentrações de proteína para a criação de *A. obliqua*. Seus resultados revelaram que a recuperação ovo-pupa tende a subir com o aumento da proporção de proteína na dieta. Isto é compatível com nossos resultados, visto que a dieta MC tem o dobro de levedura de cerveja [principal fonte de proteína das duas dietas testadas] em sua composição em comparação à dieta FM. Nestel, Nemny-Lavy e Chang (2004) mostraram que a recuperação ovo-pupa de *C. capitata* tende a subir com o aumento da concentração de açúcar na dieta larval.

A dieta larval MC também mostrou ser superior no parâmetro emergência, mesmo tendo produzido pupas significativamente mais leves [$F_{1,6}=13,86$; $P=0,0137$] [Tabela 12 e Figura 23B]. Concordantemente, Moreno, Zaleta e Mangan (1997) mostraram uma tendência de aumento na emergência de *A. obliqua* conforme crescia a proporção de proteína na dieta larval. Nestel, Nemny-Lavy e Chang (2004) demonstraram que a dieta com a menor proporção de açúcar resultou na menor taxa de emergência de *C. capitata*. Vera et al. (2014) mostraram a mesma tendência para *A. fraterculus*, porém com um declínio quando a proporção de açúcar na dieta larval era muito acentuada.

Também foi verificado que a habilidade de voo das moscas criadas com a dieta MC foi maior do que as que foram criadas na dieta FM [$F_{1,5}=1,81$; $P=0,1697$] [Tabela 12 e Figura 25b]. Resultados de Nestel, Nemny-Lavy e Chang (2004) estão de acordo com os nossos ao mostrarem que adultos de *C. capitata* apresentaram maior habilidade de voo quanto mais se aumentava a quantidade de açúcar na dieta larval. Segundo Pacacio-Villafán (2015), larvas de *A. ludens* que foram alimentadas com uma dieta artificial contendo maiores quantidades de levedura de cerveja e açúcar em relação a outras duas dietas também resultaram em adultos com melhor habilidade de voo.

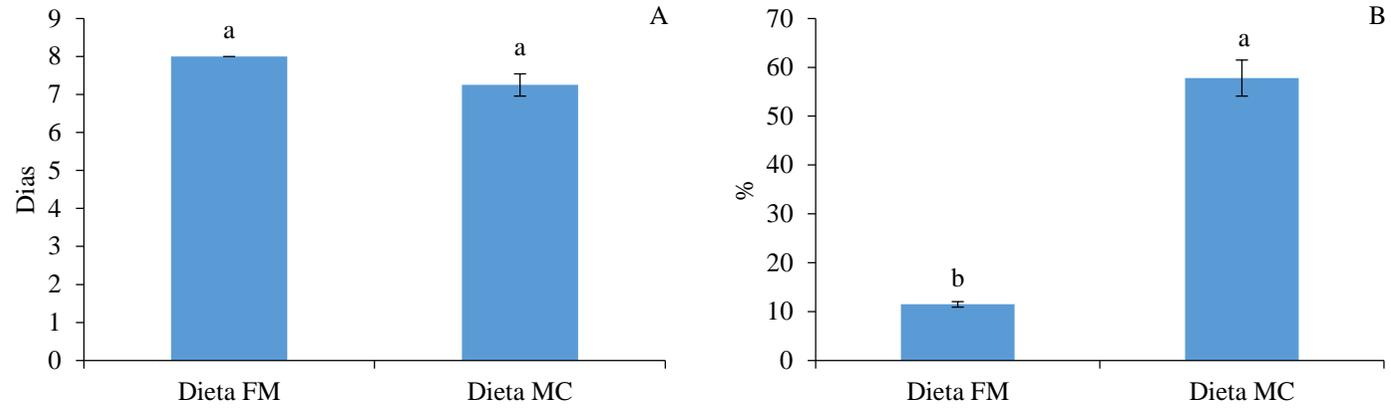
Não houve diferença entre as duas dietas larvais quanto à razão sexual [$F_{1,6}=1,39$; $P=0,2920$] [Tabela 12 e Figura 25a]. De igual modo, Vera et al. (2014) não mostraram grande diferença entre as razões sexuais de *A. fraterculus* criadas em dietas larvais com diferentes proporções de açúcar. Pacacio-Villafán et al. (2015) testaram dietas larvais à base de farinha de milho com diferentes proporções de levedura de cerveja e açúcar para a criação de *A. ludens* e não observaram diferença significativa entre as razões sexuais.

Tabela 12 – Parâmetros de controle de qualidade (média±erro padrão) para *Anastrepha fraterculus* criada nas dietas larvais à base de farinha de milho e à base de farinha de milho com carragenina

Parâmetros de Controle de Qualidade	Dietas Larvais		ANOVA
	FM	MC	
Nº de larvas	6.688±297 b	28.147±1.303 a	F _{1,5} =1.280,26; C.V.=4,3%; P<10 ⁻⁴
Peso larval (mg)	17,8±0,2 a	17,4±0,5 a	F _{1,6} =1,13; C.V.=5,6%; P=0,3355
Recuperação larval (%)	11,5±0,5 b	72,5±3,4 a	F _{1,5} =1.732,53; C.V.=4,3%; P<10 ⁻⁴
Período larval (dias)	8,0±0,0 a	7,3±0,3 a	F _{1,6} =6,43; C.V.=5,1%; P=0,0522
Nº de pupas	6.688±297 b	22.451±1.439 a	F _{1,6} =181,72; C.V.=1,2%; P<10 ⁻⁴
Peso de pupas (mg)	15,6±1,1 a	11,4±0,2 b	F _{1,5} =71,03; C.V.=3,5%; P=0,0011
Diâmetro de pupas (mm)	2,3±0,04 a	2,1±0,04 b	F _{1,6} =8,03; C.V.=3,5%; P=0,0365
Recuperação pupal (%)	100,0±0,0 a	79,6±2,0 b	F _{1,6} =75,76; C.V.=3,5%; P=0,0003
Recuperação ovo-pupa (%)	11,5±0,5 b	57,8±3,7 a	F _{1,5} =4.634,22; C.V.=2,5%; P<10 ⁻⁴
Período pupal (dias)	16,0±0,0 a	15,3±0,3 a	F _{1,6} =6,43; C.V.=2,5%; P=0,0522
Emergência (%)	88,7±1,7 b	94,7±0,7 a	F _{1,6} =13,86; C.V.=2,3%; P=0,0137
Razão sexual	0,46±0,03 a	0,52±0,03 a	F _{1,6} =1,39; C.V.=12,2%; P=0,2920
Habilidade de voo	69,1±14,8 b	74,0±0,8 a	F _{1,5} =1,81; C.V.=2,7%; P=0,1697

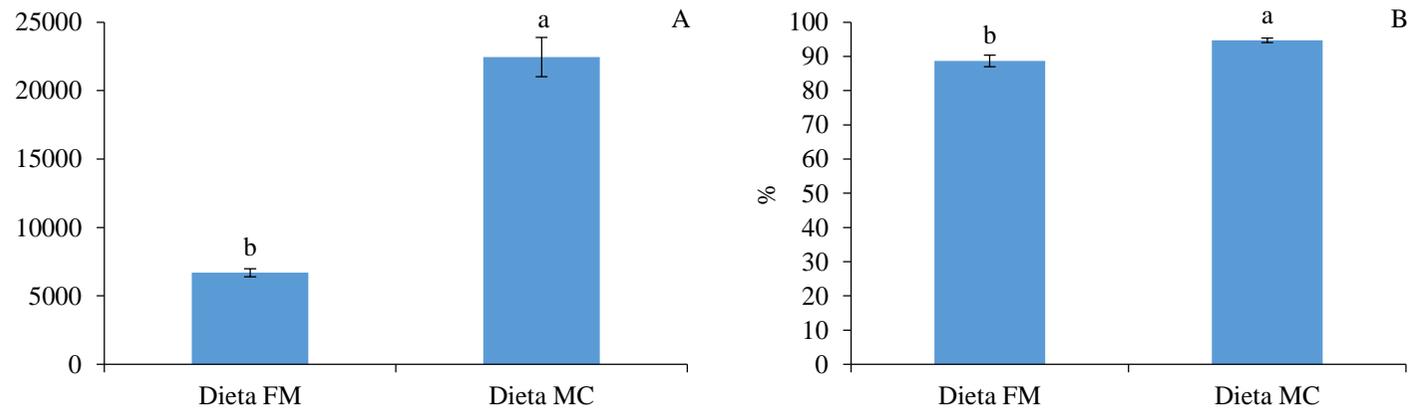
* Médias na mesma linha seguidas da mesma letra não diferem significativamente pelo teste-*t* de Student ($P>0,05$).

Figura 22A – Período larval (dias); Figura 22B – Recuperação ovo-pupa (%)



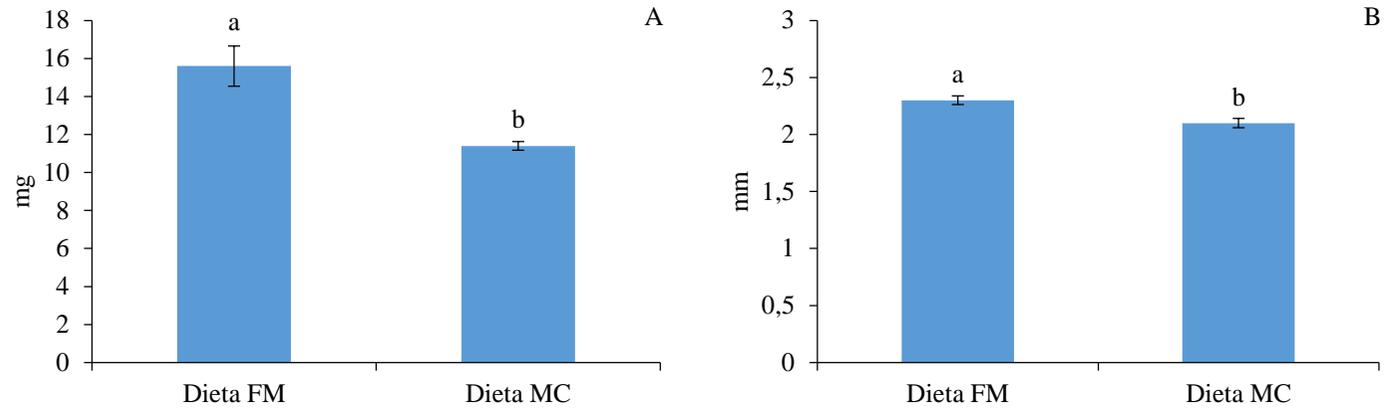
Fonte: Maset (2019).

Figura 23A - Número médio de pupas produzidas por kg ou L de dieta; Figura 23B - Emergência (% de moscas emergidas)



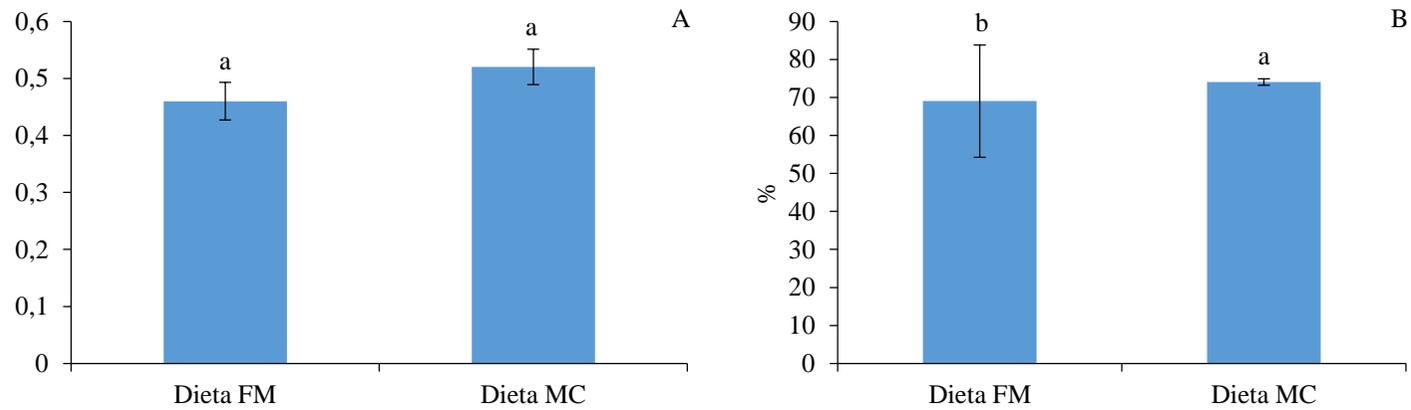
Fonte: Maset (2019).

Figura 24A - Peso (mg) médio de pupas; Figura 24B - Diâmetro (mm) médio de pupas



Fonte: Maset (2019).

Figura 25A – Razão sexual (F/(M+F)); Figura 25B - Habilidade de voo (% de moscas voadoras)



Fonte: Maset (2019).

A partir dos resultados apresentados e sabendo que todas as pupas produzidas pelas duas dietas larvais que foram testadas eram de qualidade satisfatória segundo o histórico de produção da biofábrica piloto do LIARE do CENA/USP, vimos que a dieta larval MC teve uma produção média de 22.451 pupas por 3 L de dieta [produtividade de 7.484 pupas/L] enquanto que a dieta FM produziu uma média de 6.688 pupas por 3 Kg de dieta [produtividade de 2.229 pupas/kg]. Dessa forma, calculamos que para a produção de 1 milhão de pupas seria necessário uma média de 134 L da dieta MC e 449 kg da dieta FM. Assim, conclui-se que a dieta MC é mais eficiente do que a dieta FM em termos de produtividade.

5.2.3 Avaliação da viabilidade econômica das dietas

Após a verificação da produtividade das dietas [pupas/kg ou L de dieta e kg ou L de dieta/1 milhão de pupas], foi avaliada a viabilidade econômica de cada uma. Nas Tabelas 13 e 14, estão apresentados a participação e os custos de cada ingrediente para o preparo de 1 kg da dieta FM e 1 L da dieta MC.

Tabela 13 – Composição e custo de 1 kg da dieta à base de farinha de milho

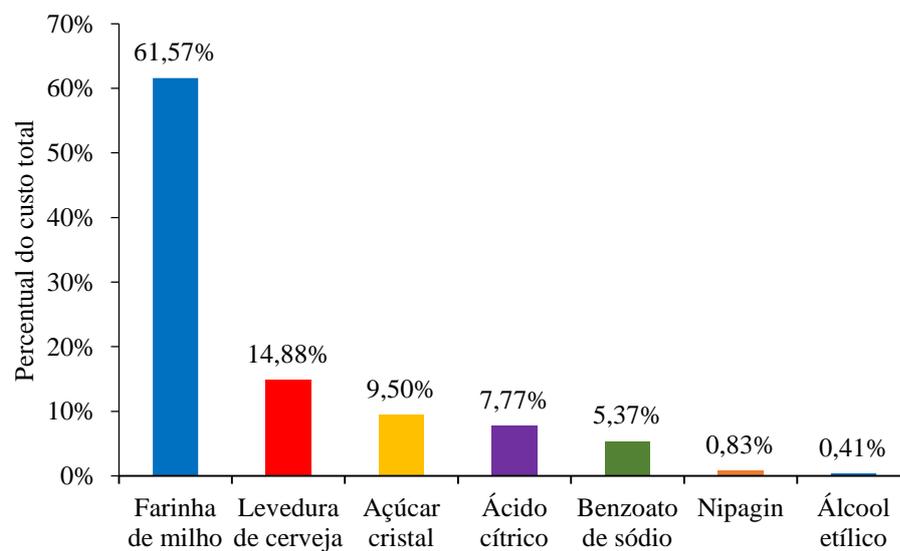
INGREDIENTE	% da dieta (massa)	Custo (R\$/kg)
Farinha de milho	30,00	1,49
Levedura de cerveja	5,00	0,36
Açúcar cristal	3,00	0,23
Benzoato de sódio	0,20	0,13
Nipagin	0,02	0,02
Álcool etílico	0,16	0,01
Ácido cítrico	0,60	0,18
Água	61,02	-
Total	100%	2,42

Tabela 14 – Composição e custo de 1 L da dieta à base de farinha de milho com carragenina

INGREDIENTE	% da dieta (massa)	Custo (R\$/kg)
Farinha de milho	6,01	0,28
Carragenina	0,60	0,90
Levedura de cerveja	6,01	0,43
Açúcar cristal	6,01	0,47
Benzoato de sódio	0,10	0,06
Nipagin	0,08	0,08
Álcool etílico	0,46	0,06
Ácido clorídrico	0,65	0,06
Água	80,08	-
Total	100%	2,34

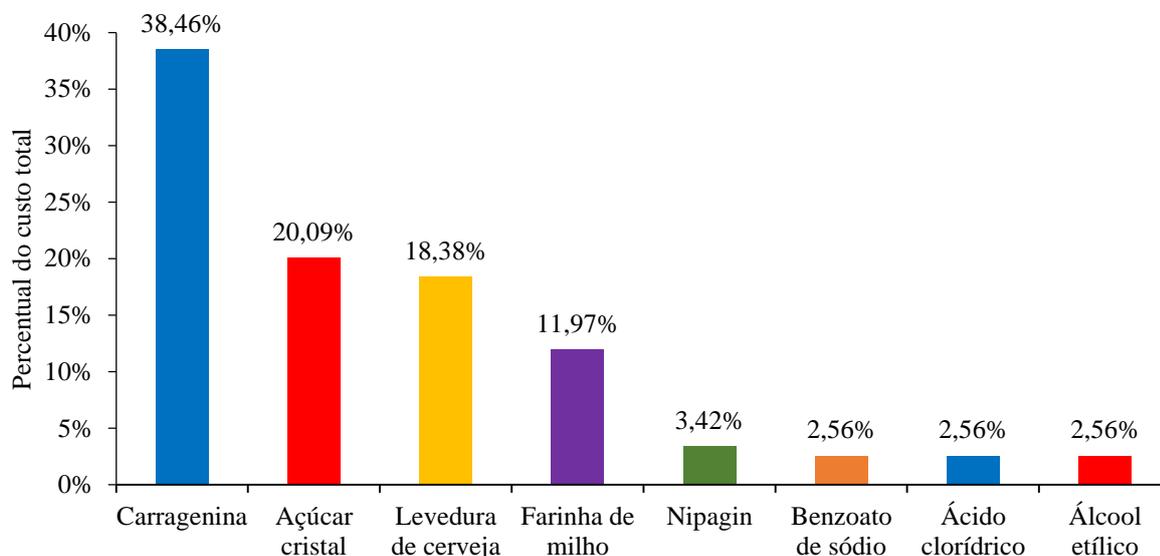
Nas Figuras 26 e 27, está apresentada a proporção de cada ingrediente no custo das duas dietas larvais testadas.

Figura 26 - Percentual que cada ingrediente representa no custo total da dieta larval à base de farinha de milho



Fonte: Maset (2019).

Figura 27 - Percentual que cada ingrediente representa no custo total da dieta larval à base de farinha de milho com carragenina



Fonte: Maset (2019).

De acordo com as Figuras 26 e 27, a farinha de milho representa mais de 60% do custo total da dieta larval FM, enquanto que na dieta MC, a carragenina é o ingrediente que corresponde ao maior custo [quase 40%]. Ainda nesta última dieta, o açúcar cristal e a levedura de cerveja somam, juntos, quase 40% do custo total.

Tabela 15 – Dados de produtividade e custos das duas dietas larvais testadas (FM: dieta à base de farinha de milho; MC: dieta à base de farinha de milho com carragenina)

Dietas Larvais	R\$/kg ou L de dieta	pupas/kg ou L de dieta	pupas/R\$1,00 de dieta	Kg ou L de dieta/1 milhão de pupas	R\$/1 milhão de pupas
FM	2,42	1.911	790	523,29	1.266,36
MC	2,34	7.484	3.198	133,62	312,67

Pelos resultados apresentados na Tabela 15, percebe-se claramente que a dieta MC é mais vantajosa economicamente para a criação massal de *A. fraterculus*, sendo necessário um investimento quatro vezes menor em ingredientes quando comparada à dieta FM.

Uma linhagem de *A. fraterculus*, coletada originalmente na Estação Experimental de Fruticultura de Clima Temperado da EMBRAPA Uva & Vinho em Vacaria, tem sido criada no LIARE do CENA/USP desde o começo de 2017 em bandejas com 3 L da dieta larval MC, na densidade de semeadura de 1,5 mL de ovos/L de dieta [dieta e densidade selecionados no presente trabalho]. Entre as gerações F₉ e F₂₁, foram produzidos nessas condições 78,5 L de pupas no total [≈ 2,6 milhões de pupas; média de 6,04 L de pupas/geração, o que corresponde a ≈200.000 pupas], estando a emergência de adultos em 79,1%, razão sexual (F/(M+F)) em 0,54 e o peso pupal médio em 11,4 mg [valores próximos aos encontrados neste trabalho].

6 CONCLUSÕES

Com base nos resultados obtidos nos experimentos com dietas larvais para as espécies *C. capitata* e *A. fraterculus*, pode-se concluir que:

1) As densidades ótimas de semeadura de ovos para a criação laboratorial de *C. capitata* com as dietas larvais à base de farinha de milho, com bagaço de cana-de-açúcar, e à base de pó de cenoura liofilizada são 0,5; 2,0 e 1,0 mL de ovos/kg de dieta, respectivamente;

2) A dieta larval mais eficiente, em termos de produtividade, qualidade e custos para a criação laboratorial de *C. capitata*, é a dieta com bagaço de cana-de-açúcar;

3) As densidades larvais ótimas para a criação laboratorial de *A. fraterculus* com as dietas larvais à base de farinha de milho e de farinha de milho com carragenina são 2,0 mL de ovos/kg de dieta e 1,5 mL de ovos/L de dieta, respectivamente;

4) A dieta larval mais eficiente, em termos de produtividade, qualidade e custos para a criação laboratorial de *A. fraterculus*, é a dieta à base de farinha de milho com carragenina.

REFERÊNCIAS¹

- ACHALA-PARIPURNA, K.; SRIVASTAVA, B. G. Effect of different quantities of sucrose and glucose on the growth and development of *Dacus cucurbitae* (Coquillett) maggots under aseptic condition. **Indian Journal of Entomology**, New Delhi, v. 51, p. 229–233, 1989.
- BATHON, H. Fungicides for the control of moulds on semisynthetic diets for insects. **Zeitschrift fur Angewandte Entomologie**, Hamburg, v. 82, n. 1-4, p. 247–251, 1997.
- CACERES, C.; CAYOL, J. P.; ENKERLIN, W.; FRANZ, G.; HENDRICH, J.; ROBINSON, A. S. Comparison of Mediterranean fruit fly (*Ceratitidis capitata*: Tephritidae) bisexual and genetic sexing strains: development, evaluation and economics. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON FRUIT FLIES OF ECONOMIC IMPORTANCE, 6., 2002, Stellenbosch. **Proceedings...** Irene: Isteg Scientific Publications, 2004. p. 367-381.
- CANATO, C. M.; ZUCOLOTO, F. S. Influência da concentração de nutrientes no valor nutritivo e seleção de dietas em larvas de *Ceratitidis capitata* Wied. (Diptera, Tephritidae). **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Londrina, v. 22, p. 471-476, 1993.
- CANATO, C. M.; ZUCOLOTO, F. S. Feeding behavior of *Ceratitidis capitata* (Diptera, Tephritidae): influence of carbohydrate ingestion. **Journal of Insect Physiology**, London, v. 44, n. 2, p. 149-155, 1998.
- CANGUSSU, J. A.; ZUCOLOTO, F. S. Effect of protein sources on fecundity, food acceptance, and sexual choice by *Ceratitidis capitata* (Diptera, Tephritidae). **Revista Brasileira de Biologia**, Rio de Janeiro, v. 57, p. 611-618, 1997.
- CAYOL, J. P. Changes in sexual behavior and life history traits of tephritid species caused by mass-rearing process. In: ALUJA, M.; NORRBOM, A. L. (Ed.). **Fruit flies (Tephritidae): phylogeny and evolution of behavior**. Boca Raton: CRC Press, 2000. p. 843-860.
- CHANG, C. L. Effect of amino acids on larvae and adult of *Ceratitidis capitata* (Diptera: Tephritidae). **Annals of the Entomological Society of America**, College Park, v. 97, n. 3, p. 529-535, May 2004.
- CHANG, C. L.; CACERES, C.; JANG, E. B. A novel liquid larval diet and its rearing system for melon fly, *Bactrocera cucurbitae* (Diptera: Tephritidae). **Annals of the Entomological Society of America**, College Park, v. 97, n. 3, p. 524–528, May 2004.
- CHANG, C. L.; KURASHIMA, R.; ALBRECHT, C. Larval development of *Ceratitidis capitata* (Diptera: Tephritidae) on a meridic diet. **Annals of the Entomological Society of America**, College Park, v. 94, n. 3, p. 433–437, 2001.
- CHAUDHURY, M. F.; ALVAREZ, L. A. A new starch gelling agent for screwworm (Diptera: Calliphoridae) larval diet. **Journal of Economic Entomology**, College Park, v. 92, n. 5, p. 1138–1141, Oct. 1999.

CHAUDHURY, M. F.; ALVAREZ, L. A.; WELCH, J. B. An alternative source of blood protein for screwworm (Diptera: Calliphoridae) larval diet. **Journal of Economic Entomology**, College Park, v. 91, n. 6, p. 1397–1400, Dec. 1998.

CHAUDHURY, M. F.; ALVAREZ, L. A.; VELAZQUES, L. L. A new meatless diet for adult screwworm (Diptera: Calliphoridae). **Journal of Economic Entomology**, College Park, v. 93, n. 4, p. 1398–1401, Aug. 2000.

COHEN, A. C. New oligidic production diet for *Lygus hesperus* Knight and *L. lineolaris* (Palisot de Beauvois). **Journal of Entomological Science**, Tifton, v. 35, n. 3, p. 301–310, July 2000.

COHEN, A. C. **Insect diets: science and technology**. Boca Raton: CRC Press, 2004.

CRESONI-PEREIRA, C.; ZUCOLOTO, F. S. Moscas-das-frutas (Diptera). In: PANIZZI, A. R.; PARRA, J. R. P. **Bioecologia e nutrição de insetos: base para o manejo integrado de pragas**. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica; Londrina: Embrapa Soja, 2009. p. 733-759.

CRISCI, V. L. **Estudo sobre performance de *Ceratitis capitata* Wied. (Diptera, Tephritidae) alimentada com duas dietas diferentes, uma com substância secundária estranha e outra sem carboidrato**. 1998. 81 f. Tese (Mestrado em Entomologia) – Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 1998.

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: CRC Press, 1996. p. 353-357.

DADD, R. H. Insect nutrition: current development and metabolic implications. Division of parasitology. **Annual Review of Entomology**, Palo Alto, v. 18, p. 381-420, Jan. 1973.

DIAS, V. S.; SILVA, J. G.; LIMA, K. M.; PETITINGA, C. S. C. D.; HERNÁNDEZ-ORTIZ, V.; LAUMANN, R. A.; PARANHOS, B. J.; URAMOTO, K.; ZUCCHI, R. A.; JOACHIM-BRAVO, I. S. An integrative multidisciplinary approach to understanding cryptic divergence in Brazilian species of the *Anastrepha fraterculus* complex (Diptera: Tephritidae). **Biological Journal of the Linnean Society**, London, v. 117, p. 725–746, 2016.

DOWNER, R. G. H.; MATTHEWS, J. R. Patterns of lipid distribution and utilization in insects. **American Zoologist**, Utica, v. 16, n. 4, p. 733–745, Nov. 1976.

ECONOMOPOULOS, A. P.; AL-TAWEEL, A. A.; BROZZONE, N. D. Larval diet with a starter phase for mass-rearing *Ceratitis capitata*: substitution and refinement in the use of yeasts and sugars. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, Amsterdam, v. 55, p. 239–246, June 1990.

ENKERLIN, W. Economics of Area-Wide SIT Control Programs. In: PARKER, A. G. (Ed.). **Recent trends on sterile insect technique and area-wide integrated pest management: economic feasibility, control projects, farmer organization and *Bactrocera dorsalis* complex control study**. Okinawa: Research Institute for Subtropics, 2003. p. 1–10.

ENKERLIN, W.; GUTIÉRREZ-RUELAS, J. M.; CORTES, A. V.; ROLDAN, E. C.; MIDGARDEN, D.; LIRA, E.; LÓPEZ, J. L. Z.; HENDRICH, J.; LIEDO, P.; ARRIAGA, F. J. T. Area freedom in Mexico from Mediterranean fruit fly (Diptera: Tephritidae): A review of over 30 years of a successful containment program using an integrated area-wide SIT approach. **Florida Entomologist**, Gainesville, v. 98, n. 2, p. 665–681, June 2015.

FAO. **Control measures for an outbreak within a fruit fly-pest free area**. Rome: FAO/IPPC, 2014. (ISPM, 26).

FAO. **Guidelines for pest eradication programmes**. Rome: FAO/IPPC, 1998. (ISPM, 29).

FAO. **Guidelines for the use of irradiation as a phytosanitary measure**. Rome: FAO/IPPC, 2003.

FAO. **Requirements for the establishment and maintenance of pest free areas for tephritid fruit flies**. Rome: FAO/IPPC, 2006.

FAY, H. A. C. Multi-host species of fruit fly. In: ROBINSON, A. S.; HOOPER, G. (Ed.). **World crop pest. Fruit flies: their biology, natural enemies and control**. New York: Elsevier, 1989. v. 3A, p. 129-138.

FAY, H. A. C.; WORNOAYPORN, V. Inert reusable substrates as potential replacements for wheat bran in larval diets for Mediterranean fruit fly, *Ceratitidis capitata* (Wied.) (Dipt., Tephritidae). **Journal of Applied Entomology**, Berlin, v. 126, p. 92–96, Apr. 2002.

FRIEND, W. G.; BACKS, R. H.; CASS, L. M. Studies on amino acid requirements of larvae of the onion maggot, *Hylemya antiqua* (MG.), under aseptic conditions. **Canadian Journal of Zoology**, Ottawa, v. 35, n. 4, p. 535–543, 1957.

FUNKE, B. R. Mold control for insect rearing media. **Bulletin of the Entomological Society of America**, Baltimore, v. 29, n. 2, p. 41–44, June 1983.

GIFAWESEN, C.; FUNKE, B. R.; PROSHOLD, F. I. Control of antifungal resistant strains of *Aspergillus niger* mold contaminants in insect rearing media. **Journal of Economic Entomology**, College Park, v. 68, n. 4, p. 441–444, Aug. 1975.

GONZÁLEZ, J. B.; VARGAS, C. V.; JARA, B. P. Estudios sobre la aplicación de la técnica de machos estériles en el control de la mosca sudamericana de la fruta, *Anastrepha fraterculus* (Wied.). **Revista Peruana de Entomología**, Lima, v. 14, p. 66-86, Oct. 1971.

GORDON, H. T. Interpretations of insect quantitative nutrition. In: RODRIGUEZ, J. G. (Ed.). **Insect and mite nutrition**. Amsterdam: North-Holland Publishing Company, 1972. p. 73–105.

GUTIÉRREZ-RUELAS, J. M.; SANTIAGO MARTÍNEZ, G.; VILLASEÑOR CORTÉS, A.; ENKERLIN HOEFLICH, W. R.; HERNÁNDEZ LÓPEZ, F. **Los programas de moscas de la fruta en México: su historia reciente**. Ciudad de México: IICA, 2013. 89 p.

HARRIS, R. L.; PETERSON, R. D.; VASQUEZ, G. M. E.; GRAHAM, O. H. Gelled media for the production of screwworm larvae. **The Southwestern Entomologist**, Weslaco, v. 9, p. 257–262, 1984.

HARTLEY, G. G.; KING, E. G.; BREWER, F. D.; GANTT, C. W. Rearing of the *Heliothis* sterile hybrid with a multicellular larval rearing container and pupal harvesting. **Journal of Economic Entomology**, College Park, v. 75, n. 1, p. 7–10, Feb. 1982.

HENDRICHS, J.; ROBINSON, A. S.; CAYOL, J. P.; ENKERLIN, W. Medfly areawide sterile insect technique programmes for prevention, suppression or eradication: the importance of mating behavior studies. **Florida Entomologist**, Gainesville, v. 85, n. 3, p. 1–13, Mar. 2002.

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. Balkema, 1983. p. 353-365.

HERNÁNDEZ, E.; RIVERA, J. P.; OROZCO-DAVILA, D.; SALVADOR, M.; TOLEDO, J. An artificial diet for rearing of *Anastrepha striata* (Diptera: Tephritidae). **Florida Entomologist**, Gainesville, v. 93, n. 2, p. 167–174, June 2010.

HONDA, J.; HAN, M. W.; LEPLA, N. C. Sodium polyacrylamide polyacrylate, a gelling agente in diets for cabbage looper, omnivorous looper and western avocado leafroller. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, Amsterdam, v. 81, n. 2, p. 175–180, Jan. 1996.

IAEA. **Product quality control, irradiation and shipping procedures for mass-reared tephritid fruit flies for sterile insect**. Vienna: FAO/IAEA, 1998. 51 p.

IAEA. **Trapping guidelines for area wide fruit fly programmes**. Vienna: FAO/IAEA, 2003. 47 p.

IAEA. **Manual for product quality control and shipping procedures for sterile mass-reared tephritid fruit flies**. Vienna: FAO/IAEA, 2003. 84 p.

IAEA. **Product quality control for sterile mass-reared and released tephritid fruit flies**. Vienna: FAO/IAEA, 2014. 164 p.

IAEA. **International Database on Insect Disinfestation and Sterilization**. Vienna, 2017. Disponível em: <<http://www.ididas.iaea.org/IDIDAS/start.htm>>. Acesso em: 01 mai. 2017.

INSTITUTO INTERAMERICANO DE COOPERACIÓN PARA LA AGRICULTURA. **Evaluación económica del Programa Moscamed en México (1978–2008)**. Ciudad de México: IICA, 2009. 144 p.

JALDO, H. E.; GRAMAJO, M. C.; WILLINK, E. Mass rearing of *Anastrepha fraterculus* (Diptera: Tephritidae): a preliminary strategy. **Florida Entomologist**, Gainesville, v. 84, n. 4, p. 716-718, Dec. 2001.

JOACHIM-BRAVO, I. S.; ZUCOLOTO, F. S. Oviposition preference in *Ceratitis capitata* (Diptera, Tephritidae) influence of rearing diet. **Iheringia Série Zoologia**, Porto Alegre, v. 82, p. 133–140, 1997.

JOACHIM-BRAVO, I. S.; ZUCOLOTO, F. S. Performance and feeding Behavior of *Ceratitis capitata* comparison of a wild population and a laboratory population. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, Amsterdam, v. 87, p. 67–72, Apr. 1998.

KANTHI, S.; PANT, J. C. Effect of different combinations of cholesterol with caproic acid, iso-caproic acid, palmitic acid and linoleic acid on the growth and development of *Dacus cucurbitae* (Coquillett) maggots under aseptic conditions. **Indian Journal of Entomology**, New Delhi, v. 50, p. 106–112, 1988.

KASPI, R.; MOSSINSON, S.; DREZNER, T.; KAMENSKY, B.; YUVAL, B. Effect of larval diet on development rates and reproductive maturation of male and female Mediterranean fruit flies. **Physiological Entomology**, Oxford, v. 27, p. 29–38, Mar. 2002.

KLASSEN, W. Area-wide integrated pest management and the sterile insect technique. In: DYCK, V. A.; HENDRICH, J.; ROBINSON A. S. (Ed.). **Sterile insect technique: principles and practice in area-wide integrated pest management**. Dordrecht: Springer, 2005. p. 40–61.

KNIPLING, E. F. Possibilities of insect control or eradication through the use of sexually sterile males. **Journal of Economic Entomology**, College Park, v. 48, n. 4, p. 459–462, Aug. 1955.

KNIPLING, E. F. **The basic principles of insect population suppression and management**. Washington: USDA, SEA, 1979. 659 p.

LaBRECQUE, G. Helping eradicate the medfly from Mexico. **IAEA Bulletin**, Vienna, v. 23, n. 4, p. 26–29, Dec. 1982. Suppl.

LEPPLA, N. C. Starch compounds as adjunct gelling agents in larval diet of the cabbage looper. **Journal of the Georgia Entomological Society**, Tifton, v. 11, p. 251–254, 1976.

LEPPLA, N. C.; CARLYLE, S. L.; CARLYSLE, T. C. Effects of surface sterilization and automatic collection on cabbage looper eggs. **Journal of Economic Entomology**, College Park, v. 67, n. 1, p. 33–36, Feb. 1974.

LUDEMANN, L. R.; FUNKE, B. R.; GOODPASTURE, C. E. Mold control in insect rearing media: survey of agricultural fungicides and evaluation of the use of humectants. **Journal of Economic Entomology**, College Park, v. 72, n. 4, p. 579–582, Aug. 1979.

MALAVASI, A.; ZUCCHI, R. A. (Ed.). **Moscas-das-frutas de importância econômica no Brasil: conhecimento básico e aplicado**. Ribeirão Preto: Holos Editora, 2000. 325 p.

MANOUKAS, A. G. Effect of excess levels of individual amino acids upon survival, growth and pupal yield of *Dacus oleae* (Gmel.) larvae. **Journal of Applied Entomology**, Berlin, v. 91, n. 1-5, p. 309–315, 1981.

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

MARDEN, J. H. Variability in the size, composition, and function of insect flight muscles. **Annual Review of Physiology**, Palo Alto, v. 62, p. 157–178, Mar. 2000.

MARICONI, F. A. M.; IBA, S. A. A. Mosca do Mediterrâneo. **O Biológico**, Campinas, v. 21, n. 2, p. 17-32, 1955.

MASTRANGELO, T.; SILVA, J.; ABDALLA, A. L.; PEÇANHA, M. R.; WALDER, J. M. M. Potential use of larval diet disposal from Medfly mass-rearing as alternative livestock feed. **Livestock Research for Rural Development**, Cali, v. 22, n. 3, p. 58-66, Mar. 2010.

MORENO, D. S.; ZALETA, D. A. O.; MANGAN, R. L. Development of artificial larval diets for west Indian fruit fly (Diptera: Tephritidae). **Journal of Economic Entomology**, College Park, v. 90, n. 2, p. 427-434, Apr. 1997.

MUÑOZ-BARRIOS, R.; VILLARREAL, L. C. S.; BRAVO, P. I. G. **Manual de cría y esterilización de machos de *Ceratitis capitata* (Wiedemann) cepa TSL**. Dirección General de Sanidad Vegetal. Dirección del Programa Nacional de Moscas de la Fruta. Subdirección de Producción Moscamed. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. Metapa de Domínguez: Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria, 2015. 24 p.

NESTEL, D.; NEMNY-LAVY, E. Nutrient balance in medfly, *Ceratitis capitata*, larval diets affects the ability of the developing insect to incorporate lipid and protein reserves. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, Amsterdam, v. 126, n. 1, p. 53–60, Jan. 2008.

NESTEL, D.; NEMNY-LAVY, E.; CHANG, C. L. Lipid and protein loads in pupating larvae and emerging adults as affected by the composition of Mediterranean fruit fly (*Ceratitis capitata*) meridic larval diets. **Archives of Insect Biochemistry and Physiology**, New York, v. 56, n. 3, p. 97–109, July 2004.

NUÑEZ, L.; GUZMAN, R. Avances sobre la cría artificial de *Anastrepha fraterculus* (Wied.) (Diptera:Tephritidae) en Colombia. In: THE SOUTH AMERICAN FRUIT FLY, *Anastrepha fraterculus* (WIED.); ADVANCES IN ARTIFICIAL REARING, TAXONOMIC STATUS AND BIOLOGICAL STUDIES, 1996, Viña del Mar. **Proceedings...** Vienna: FAO/IAEA, 1999. p. 85-94.

OHINATA, K.; ASHRAF, M.; HARRIS, E. J. Mediterranean fruit flies sterility and sexual competitiveness in the laboratory after treatment with gamma irradiation in air, carbon dioxide, helium, nitrogen or partial vacuum. **Journal Economic Entomology**, College Park, v. 70, n. 2, p. 165-168, Apr. 1977.

OROZCO-DÁVILA, D.; QUINTERO, L.; HERNÁNDEZ, E.; SOLÍS, E.; ARTIAGA, T.; HERNÁNDEZ, R.; ORTEGA, C.; MONTOYA, P. Mass rearing and sterile insect releases for the control of *Anastrepha* spp. pests in Mexico – a review. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, Amsterdam, v. 164, n. 3, p. 176-187, Sep. 2017. Special issue – Sterile Insect Technique.

ORTIZ, G. Introduction. In: THE SOUTH AMERICAN FRUIT FLY, *ANASTREPHA FRATERCULUS* (WIED.); ADVANCES IN ARTIFICIAL REARING, TAXONOMIC STATUS AND BIOLOGICAL STUDIES, 1996, Viña del Mar. **Proceedings...** Vienna: FAO/IAEA, 1999. p. 1-2.

PARKER, A. G. Mass-rearing for sterile insect release. In: DYCK, V. A.; HENDRICH, J.; ROBINSON, A. S. (Ed.). **Sterile insect technique: principles and practice in area-wide integrated pest management**. Dordrecht: Springer, 2005. p. 209–232.

PASCACIO-VILLAFÁN, C.; WILLIAMS, T.; SIVINSKI, J.; BIRKE, A.; ALUJA, M. Costly nutritious diets do not necessarily translate into better performance of artificially reared fruit flies (Diptera: Tephritidae). **Journal of Economic Entomology**, College Park, v. 108, n. 1, p. 53-59, Feb. 2015.

PATTON, P. Mediterranean fruit fly eradication trial in Mexico. In: SYMPOSIUM ON FRUIT FLIES PROBLEMS, 1980, Kyoto and Naha. **Proceedings...** p. 81–83.

PERDOMO, M. C.; VARGAS J. R. E.; CAMPOS G. J. Valor nutritivo de la levadura de cerveza (*Saccharomyces cerevisiae*) y de sus derivados, extracto y pared celular, en la alimentación aviar. **Archivos Latinoamericanos de Producción Animal**, Mayagüez, v. 12, n. 3, p. 89- 95, Enero 2004.

REPÚBLICA DA GUATEMALA. Programa Regional Moscamed. **Protocolo para la erradicación de brotes y detecciones de la mosca del mediterráneo en área libre**. Ciudad de Guatemala: SAGARPA-MAGAUSDA, 2010. 8 p.

RICHARDS, A. G. The chemistry of insect cuticle. In: ROCKSTEIN, M. (Ed.). **Biochemistry of insects**. New York: Academic Press, 1978. p. 205-232.

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: St. Lucie, 1996. p. 561-563.

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**, Londrina, v. 21, n. 3, p. 479-486, 1992.

SALLES, L. A. B. Rearing of *Anastrepha fraterculus* (Wiedemann). In: THE SOUTH AMERICAN FRUIT FLY, *ANASTREPHA FRATERCULUS* (WIED.); ADVANCES IN ARTIFICIAL REARING, TAXONOMIC STATUS AND BIOLOGICAL STUDIES, 1996, Viña del Mar. **Proceedings...** Viena: FAO/IAEA, 1999. p. 95-100.

SCHWARZ, A. Aspectos importantes en la cría mixta de moscas de la fruta. In: CURSO INTERNACIONAL DE CAPACITACIÓN EN MOSCAS DE LA FRUTA, 2., 1989, La Ceja. Tapachula: Programa Moscamed, 1989. p. 10-12.

SCHWARZ, A. J.; LIEDO, J. P.; HENDRICH, J. P. Current programme in Mexico. In: ROBINSON, A. S.; HOOPER, G. (Ed.). **Fruit flies: their biology, natural enemies and control**. Amsterdam: Elsevier, 1989. v. 3B. p. 375–386.

SCHWARZ, A. J.; ZAMBADA, A.; OROZCO, D. H. S.; ZAVALA, J. L.; CALKINS, C. O. Mass production of the Mediterranean fruit fly at Metapa, Mexico. **Florida Entomologist**, Gainesville, v. 68, n. 3, p. 467–477, Sep. 1985.

SHIMOJI, Y.; YAMAGISHI, M. Reducing rearing cost and increasing survival rate of West Indian sweetpotato weevil, *Euscepes postfasciatus* (Fairmaire) (Coleoptera: Curculionidae) on artificial larval diet. **Applied Entomology and Zoology**, Tokyo, v. 39, n. 1, p. 41–47, Feb. 2004.

SIEBERT, J. B.; COOPER, T. Embargo on California produce would cause revenue, job loss. **California Agriculture**, Berkeley, v. 49, p. 7-12, 1995.

SIKOROWSKI, P. P.; GOODWIN, R. H. Contaminant control and disease recognition in laboratory colonies. In: SINGH, P.; MOORE, R. F. (Ed.). **Handbook of insect rearing**. Amsterdam: Elsevier, 1985. p. 85–106.

SINGH, P. Multiple species rearing diets. In: SINGH, P. MOORE, R. F. (Ed.). **Handbook of insect rearing**. Amsterdam: Elsevier, 1985. p. 19–44.

SINGH, P.; ASHBY, D. Insect rearing management. In: SINGH, P. MOORE, R. F. (Ed.). **Handbook of insect rearing**. Amsterdam: Elsevier, 1985. p. 185–215.

SLANSKY, F.; SCRIBER, J. M. Food consumption and utilization. In: KERKUT, G. A.; GILBERT, L. I. (Ed.). **Comprehensive insect physiology, biochemistry, and pharmacology**. Oxford: Pergamon Press, 1985. v. 4. p. 87-163.

SPENCER, N. R.; LEPLA, N. C.; PRESSER, G. A. Sodium alginate as a gelling agent in diets for the cabbage looper, *Trichoplusia ni*. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, Amsterdam, v. 20, p. 39–42, Mar. 1976.

SRIVASTAVA, B. G.; PANT, J. C. A chemically defined diet and axenic rearing method for maggots of *Dacus cucurbitae* (Coquillett). **Indian Journal of Entomology**, New Delhi, v. 43, p. 215–217, 1981.

SRIVASTAVA, B. G.; ANAND, M.; PANT, J. C. A chemically defined diet for *Dacus dorsalis* (Hendel) maggots. **Journal of Entomological Research**, New Delhi, v. 131, n. 2, p. 67–71, 1989.

STECK, G. J. Taxonomic status of *Anastrepha fraterculus*. In: THE SOUTH AMERICAN FRUIT FLY, *ANASTREPHA FRATERCULUS* (WIED.); ADVANCES IN ARTIFICIAL REARING, TAXONOMIC STATUS AND BIOLOGICAL STUDIES, 1996, Viña del Mar. **Proceedings...** Vienna: FAO/IAEA, 1998. p. 13-20.

SZYNISZEWSKA, A. M.; TATEM, A. J. Global assessment of seasonal potential distribution of Mediterranean fruit fly, *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae). **Plos ONE**, San Francisco, v. 9, n. 11, p. e111582, Nov. 2014

TANAKA, N. Low-cost larval rearing medium for mass production of oriental and Mediterranean Fruit flies. **Journal of Economic Entomology**, College Park, v. 62, n. 4, p. 967–968, Aug. 1969.

TAYLOR, D. B.; BRUCE, J. C.; GARCIA, R. Gelled diet for screwworm (Diptera: Calliphoridae) mass production. **Journal of Economic Entomology**, College Park, v. 84, n. 3, p. 927–935, June 1991.

TWEEN, G. Mosca med Guatemala: an evolution of ideas. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON FRUIT FLIES OF ECONOMIC IMPORTANCE, 6., 2002, Stellenbosch. **Proceedings...** Irene: Isteg Scientific Publications, 2002. p. 119-126.

VANDERZANT, E. S. Improvement in the rearing diet for *Chisophya carnea* and the aminoacid requirement for growth. **Journal of Economic Entomology**, College Park, v. 66, n. 1, p. 366-338, Febr. 1973.

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, n. 1, p. 53-57, Mar. 2007.

VERA, M. T.; OVIEDO, A.; ABRAHAM, S.; RUIZ, M. J.; MENDOZA, M.; CHANG, C. L.; WILLINK, E. Development of a larval diet for the south american fruit fly *Anastrepha fraterculus* (Diptera: Tephritidae). **International Journal of Tropical Insect Science**, Wallingford, v. 34, n. S1, p. S73–S81, Nov. 2014.

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

WALDER, J. M. M.; MORELLI, R.; COSTA, K. Z.; FAGGIONI, K. M.; SANCHES, P. A.; PARANHOS, B. A. J.; BENTO, J. M. S.; COSTA, M. L. Z. C. Large scale artificial rearing of *Anastrepha* sp.1 *Aff. fraterculus* (Diptera: Tephritidae) in Brazil. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 71, n. 4, p. 281-286, jul./aug. 2014.

WHITE, T. C. R. **The inadequate environment**: nitrogen and the abundance of animals. Berlin: Springer-Verlag, 1993. 425 p.

ZUCOLOTO, F. S. Adaptation of a *Ceratitis capitata* population (Diptera, Tephritidae) to an animal protein base diet. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, Amsterdam, v. 67, n. 2, p. 119-127, May 1993.