



CIÊNCIA E TECNOLOGIA:
IMPLICAÇÕES NO ENSINO, PESQUISA E EXTENSÃO

FEPEG

F Ó R U M
ENSINO • PESQUISA • EXTENSÃO • GESTÃO

REALIZAÇÃO:



APOIO:



ISSN: 1806-549X

MORFOLOGIA DO APARELHO REPRODUTOR DE FÊMEAS DE *DIACHASMIMORPHA LONGICAUDATA* CRIADAS EM *CERATITIS CAPITATA*

Autores: ADRIANA BARBOSA DO NASCIMENTO, MARIA DAS DORES DA CRUZ SOUZA, EDMILSON AMARAL SOUZA, MAX PEREIRA GONÇALVES, TERESINHA AUGUSTA GIUSTOLIN, CLARICE DINIZ ALVARENGA CORSATO

Introdução

As moscas-das-frutas (Diptera: Tephritidae) são as principais pragas das frutíferas em todo o mundo e vêm causando grandes prejuízos. O parasitoide exótico *Diachasmimorpha longicaudata* (Ashmead) (Hymenoptera: Braconidae) é o agente de controle biológico aumentativo de moscas-das-frutas mais estudado e utilizado mundialmente. Isso se deve à sua rápida adaptação aos locais onde é liberado e a sua especificidade aos tefritídeos, além da facilidade com que é criado em laboratório (GARCIA e RICALDE, 2012). Conhecer a dinâmica de desenvolvimento e maturação de ovos em parasitoides é importante para o controle biológico, pois permite determinar o período ideal para liberação em campo de fêmeas aptas a ovipositar no hospedeiro (ANDRADE et al., 2012; HEGAZI, KHAFAGI e SCHLYTER, 2013). O sucesso reprodutivo das fêmeas é alcançado pela maior produção de ovos viáveis. Nos insetos o aparelho reprodutor forma um conjunto de órgãos muito evoluídos localizados no abdome, variando suas formas e estruturas nos diferentes insetos. O aparelho reprodutor feminino dos Hymenoptera é constituído por um par de ovários conectados por dois ovidutos laterais e estes a um oviduto comum, além de uma espermateca (SNODGRASS, 1956). Compreender o comportamento reprodutivo e as estratégias das fêmeas em relação ao seu hospedeiro, bem como, o modo como interagem são de importância para determinar a eficiência destes em programas de controle biológico. O presente trabalho objetivou caracterizar e comparar morfológicamente o aparelho reprodutor do parasitoide *D. longicaudata* em fêmeas virgens e copuladas criadas sobre larvas de *Ceratitis capitata*.

Material e métodos

O trabalho foi realizado no Laboratório de Controle Biológico da Universidade Estadual de Montes Claros, Campus Janaúba-MG e no Laboratório de Biologia Celular e Estrutural da Universidade Federal de Viçosa, Campus Rio Paranaíba-MG. Os exemplares de *Ceratitis capitata* (Wiedemann) e *Diachasmimorpha longicaudata* utilizados foram obtidos da criação mantida no Laboratório de Controle Biológico, sob condições de temperatura de $25 \pm 2^\circ\text{C}$, UR de $70 \pm 10\%$ e fotofase de 12 horas. Foram utilizadas fêmeas de *D. longicaudata* virgens e copuladas com seis dias após emergência, criadas em larvas de *C. capitata*. Para a obtenção das fêmeas de *D. longicaudata* virgens e copuladas, larvas de 3º instar de *C. capitata* foram oferecidas para serem parasitadas. Depois do parasitismo, as larvas foram acondicionadas em recipientes contendo vermiculita umedecida, visando à formação dos pupários. Para a obtenção das fêmeas virgens os pupários foram individualizados em copos plástico de 100 mL, visando à separação de machos e fêmeas. Após a emergência, 30 fêmeas foram mantidas em gaiolas experimentais alimentadas com dieta artificial à base de mel e água, seguindo a metodologia proposta por Carvalho et al. (1998). Para a obtenção de fêmeas copuladas outras 30 fêmeas foram transferidas para gaiolas experimentais, juntamente com 30 machos e mantidos nas mesmas condições citadas anteriormente, durante seis dias para que ocorresse a cópula. Para as análises do aparelho reprodutor das fêmeas de *D. longicaudata* virgens e copuladas, foram realizadas dissecações, que consiste em abrir o abdome para a retirada do aparelho reprodutor. Após a dissecação, as estruturas reprodutoras foram mantidas em solução fixadora de Zamboni por 24 horas na geladeira. Em seguida, as estruturas foram armazenadas no álcool 70%. Antes do processo de inclusão, estes foram submetidos à desidratação através de uma série crescente de etanol (80%, 90% e 95%), onde permaneceram por 15 minutos. Posteriormente, o material foi colocado em um histomolde e acrescentado à solução de historesina (Leica). Após 24 horas em estufa com temperatura de 55°C a 60°C , o material foi colado em um pequeno bloco de madeira, e então, submetido ao corte em micrótomo rotativo de avanço automático (Leica RM2255) regulados para 3µm de espessura. Os cortes obtidos no micrótomo foram colocados em lâminas histológicas previamente identificadas. As lâminas foram secas e coradas com Azul de Toluidina durante 5 minutos. Lâminulas foram colocadas sobre os cortes preparados, utilizando uma cola Permout em uma capela de exaustão. As estruturas dos ovários das fêmeas virgens e copuladas foram observadas e fotografadas ao microscópio Olympus CX 41 acoplado à câmera Nikon D3100.



CIÊNCIA E TECNOLOGIA:
IMPLICAÇÕES NO ENSINO, PESQUISA E EXTENSÃO

FEPEG

F Ó R U M
ENSINO • PESQUISA • EXTENSÃO • GESTÃO

REALIZAÇÃO:



APOIO:



ISSN: 1806-549X

Resultados e discussão

As estruturas reprodutoras das fêmeas virgens e copuladas não se diferenciaram e foram consideradas iguais. Na espécie *Diachasmimorpha longicaudata* foi possível observar quatro ovaríolos (Figura 1-A). O número de ovaríolos pode variar de espécie para espécie, conforme o histórico de vida, habitat e alimentação do inseto. Na espécie estudada os ovócitos foram observados em vários estágios de desenvolvimento. Provavelmente os ovócitos aumentaram de tamanho e se tornaram mais alongados com o processo de maturação. Isso está relacionado ao vitelário, que é uma porção do ovaríolo relativamente extensa (Figura 1-B). Em *D. longicaudata* foi possível identificar a região do germário caracterizada por células primordiais e diferenciadas dos ovócitos e as células trofocitárias (ou nutridoras) (Figura 2). Nesta região ocorre o amadurecimento do óvulo, a deposição de vitelo (vitelogênese) e a formação do cório ou casca (coriogênese) (CHAPMAN, 1998; SNODGRASS, 1956; ZACARO e CRUZ-LANDIM, 1996). Todo esse processo foi observado em *D. longicaudata*, tanto nas fêmeas virgens quanto nas copuladas. Foram observadas glândulas acessórias alongadas e ramificadas no aparelho reprodutor das fêmeas analisadas. As glândulas foram caracterizadas por uma camada de células de forma irregular, revestindo uma cavidade contendo secreção. Em fêmeas virgens a secreção contida no lúmen das glândulas acessórias apresentou um aspecto homogêneo, enquanto que nas fêmeas copuladas o lúmen apresentou algumas granulações (Figura 3-A/B). Acredita-se que essa alteração na composição da secreção pode ser uma mudança fisiológica decorrente da cópula. As fêmeas também possuem uma espermateca, que é responsável pelo armazenamento de espermatozoides após a cópula (CHAPMAN, 1998; WIGGLESWORTH, 1982). A espermateca de *D. longicaudata* é esférica e revestida por camadas de células de forma irregular. Neste trabalho, esperava-se que na espermateca das fêmeas copuladas fossem encontrados espermatozoides armazenados, no entanto, eles não foram observados, tal como nas de fêmeas virgens (Figura 3-C/D).

Conclusão

As estruturas do aparelho reprodutor das fêmeas de *Diachasmimorpha longicaudata*, virgens e copuladas, quando criadas sobre o hospedeiro *Ceratitis capitata*, não apresentam diferenças morfológicas. O lúmen das glândulas de secreção de fêmeas virgens de *D. longicaudata* apresenta um aspecto mais homogêneo, enquanto que, nas fêmeas copuladas apresenta algumas granulações.

Agradecimentos

A Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de Minas Gerais – FAPEMIG pela concessão de bolsas de estudo, ao CNPq pela concessão de bolsa de PIBIC/CNPq, PIBIC-AF e Produtividade em Pesquisa aos autores e a Capes pela concessão de bolsas.

Referências bibliográficas

- ANDRADE, G.S.; SOUSA, A.H.; SANTOS, J.C.; GAMA, F.C.; SERRÃO, J.E.; ZANUNCIO, J.C. Oogenesis pattern and type of ovariole of the parasitoid *Palmistichus elaeisis* (Hymenoptera: Eulophidae). *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, v. 84, n.3, p.767-774. 2012.
- CARVALHO, R. S.; NASCIMENTO, A. S.; MATRANGOLO, W. J. R. *Metodologia de criação do parasitoide exótico Diachasmimorpha longicaudata* (Hymenoptera: Braconidae), visando estudos em laboratório e em campo. Cruz das Almas: EMBRAPA-CNPq, 1998.16p.(Circular técnica, 30)
- CHAPMAN, R. F. *The insects: Structure and function*. Cambridge, Cambridge University Press, 1998.788p.
- GARCIA, F.R.M.; RICALDE, M.P. Augmentative biological control using parasitoids for fruit fly management in Brazil. *Insects*, v.4, p.55-70, 2012.



FEPEG

F Ó R U M
ENSINO • PESQUISA • EXTENSÃO • GESTÃO

CIÊNCIA E TECNOLOGIA:
IMPLICAÇÕES NO ENSINO, PESQUISA E EXTENSÃO

REALIZAÇÃO:



APOIO:



ISSN: 1806-549X

HEGAZI, E.; KHAFAGI, W.; SCHLYTER, F. Egg maturation dynamics of the parasitoid *Microplitis rufiventris*: starvation speeds maturation in early life. **Physiological Entomology**, v.38, n.3, p.233-240, 2013.

SNODGRASS, R.E. **Anatomy of honey bee**. Ithaca, USA: Comstock Publish Co., 1956.334p.

WIGGLESWORTH, V. B. **The hormonal regulation of growth and reproduction of insects**. The principles of insects physiology. New York: John Wiley, 1982. 827p.

ZACARO, A.A.; CRUZ-LANDIM, C. Ovogênese e previtelogênese e diferenciação dos ovaríolos pré-postura: considerações ultra-estruturais em *Apis mellifera*. In: ENCONTRO SOBRE ABELHAS, 2. **Anais...** Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, SP, p. 94-104, 1996.

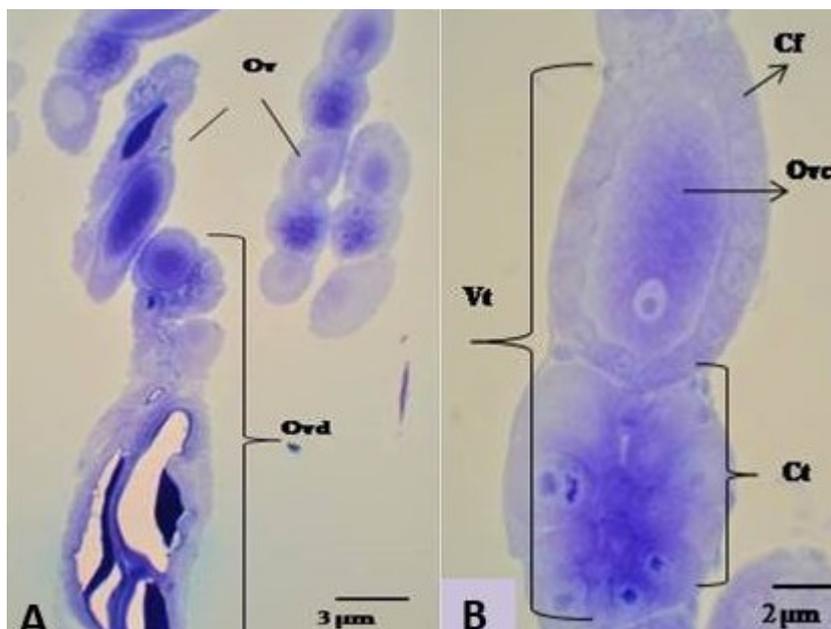


Figura 1. Estrutura do aparelho reprodutor de fêmeas de *Diachasmimorpha longicaudata* virgens criadas sobre larvas de *Ceratitis capitata*, A- Visão geral do ovário de *Diachasmimorpha longicaudata* mostrando a presença de quatro ovaríolos (Ov.) e do oviduto (Ovd.); B- Vitelário (Vt); Ovócito (Ovc); Células foliculares (Cf); Câmara trofocitária (Ct).

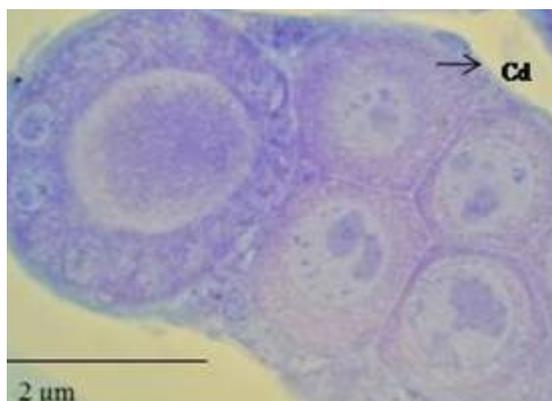
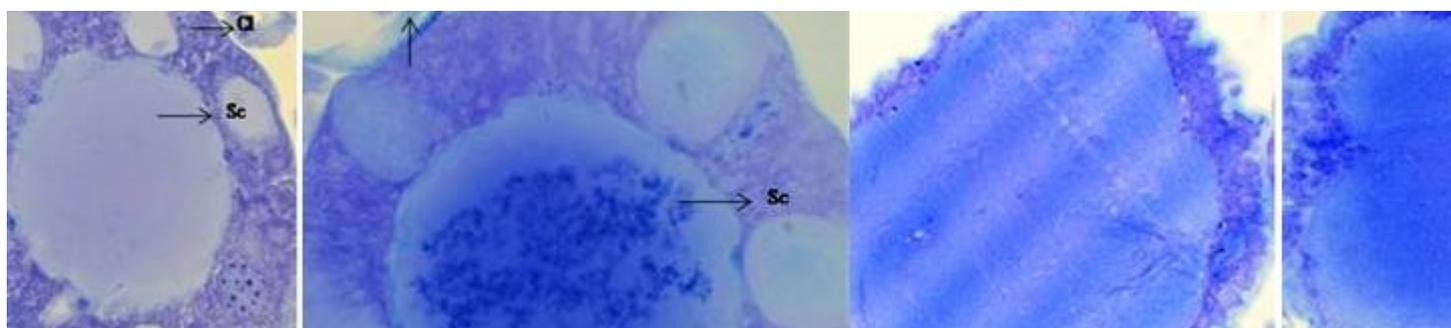


Figura 2. Germário com células de diferenciação (Cd) de fêmeas de *Diachasmimorpha longicaudata* virgens criadas sobre larvas de *Ceratitis capitata*.





CIÊNCIA E TECNOLOGIA:
IMPLICAÇÕES NO ENSINO, PESQUISA E EXTENSÃO

FEPEG

F Ó R U M
ENSINO • PESQUISA • EXTENSÃO • GESTÃO

REALIZAÇÃO:



APOIO:



ISSN: 1806-549X