

**POTENCIAL DOS NEMATÓIDES ENTOMOPATOGÊNICOS COMO
AGENTES DE CONTROLE BIOLÓGICO DA MOSCA-DO-
MEDITERRÂNEO *Ceratitis capitata* (Wied.) (Diptera: Tephritidae)**

RAMON SANTOS DE MINAS

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DO NORTE FLUMINENSE DARCY
RIBEIRO - UENF
CAMPOS DOS GOYTACAZES – RJ
FEVEREIRO – 2008**

*Dedico esta tese, a todos aqueles que sempre acreditaram em
mim e me ajudaram nesta caminhada. E em especial a
minha esposa Rose e a minha família*

**POTENCIAL DOS NEMATÓIDES ENTOMOPATOGÊNICOS COMO AGENTES DE
CONTROLE BIOLÓGICO DA MOSCA – DO MEDITERRÂNEO *Ceratitis capitata*
(Wied.) (Diptera: Tephritidae)**

RAMON SANTOS DE MINAS

“Tese apresentada ao Centro de Ciências e
Tecnologias Agropecuárias da Universidade
Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro,
como parte das exigências para obtenção do
Título de Mestre em Produção Vegetal”

Aprovada em 07 Março de 2008

Comissão examinadora

Prof.^a Ana Maria M. Vianna Bailez (D.Sc em Biologia do Comportamento) – UENF

Prof.^a Claudia de Melo Dolinski (Ph.D. em Fitopatologia) – UENF

Co - orientador Rômulo da Silva Carvalho (D.Sc Ciências) – EMBRAPA Mandioca e
Fruticultura Tropical

Orientador: Prof. Ricardo Moreira de Souza (Ph.D. em Fitopatologia) – UENF

AGRADECIMENTOS

À Deus, pois com ele o meu caminho foi mais tranquilo e os obstáculos ficaram mais fáceis;

À minha mãe, pois mesmo estando distante em suas orações sempre se lembrou de mim e por sempre ter acreditado me dando força quando a desistência era evidente;

Ao meu pai Paulo, pois nunca mediu esforços para me incentivar e guiar pelos caminhos corretos;

À minha esposa Rose que com amor me ajudou a superar os momentos difíceis, e com sabedoria, me fez trilhar os caminhos da vitória;

Às minhas irmãs Letícia, Elaine e Gislane e seu esposo Dony por sempre acreditarem em mim;

À minha amiga, irmã e madrinha Inês que com incentivo em todos os momentos difíceis me fez sempre acreditar que iria valer à pena;

Às amigas Marcela Campanharo e Alessandra Olmo Dardengo pela amizade e inúmeros incentivos;

Ao amigo Roberto pela amizade e boa vizinhança de república;

Ao amigo Leandro por sua enorme boa vontade nos trabalhos de estatística;

A Carla por sua contribuição nos momentos de experimento;

Ao meu padrinho e amigo Tony que durante esses dois anos de mestrado e de luta esteve junto dividindo as despesas, alegrias e tristezas;

Ao amigo Marcelo Índio pelos tempos de república;

Aos amigos Cezar, Ricardo, e Rafael (Zero dois), pela amizade verdadeira construída e ainda pela oportunidade de vida apresentada;

À minha madrinha Marcinha por sua amizade e alegria e pelos inúmeros finais de semana que passamos estudando;

Aos grandes amigos e pais adotivos Jorge pires e à amiga Elisabete pelo cuidado atenção e pela enorme amizade que construímos;

À amiga Érika Pires por suas risadas alegres e por ser mais uma sertaneja;

A UENF, pela oportunidade de realização do curso;

A CAPES por financiar a bolsa que é tão importante para a vida do aluno;

Aos meus professores, Cláudia e Ricardo, pela oportunidade, amizade, confiança e motivação; e acima de tudo pelo profissionalismo com que conduzem os seus orientados;

Ao Doutor Rômulo da silva Carvalho da Embrapa Mandioca e Fruticultura pelo incentivo e co-orientação ;

Aos professores das disciplinas de Estatística, biologia molecular de plantas, tecnologia do DNA recombinante, Fisiologia do Desenvolvimento e Relações Hídricas, Nematologia, Relação solo planta e Estudos dirigidos;

Aos amigos do curso de Pós-Graduação aqui conquistados;

A todos os funcionários, técnicos e estagiários do LEF, pela amizade;

Aos amigos Juan Carlos, Juan Pablo, Eleodoro, Vicente, Max, Kelly, Paulo Victor, Thiago, Renata, Rafael zero dois e Fernadinho pela grande amizade;

Ao amigo Rogério Burla, por sua dedicação em contribuir para que este trabalho se realizasse. À amiga Jonicélia pelo incentivo e por sua enorme amizade durante tantos anos;

Às secretarias do CCTA Fatinha, Luciana, e Patrícia por trabalharem com zelo e atenção, e por sempre estarem dispostas a ajudar;

E a todos aqueles que, direta ou indiretamente, colaboraram na execução desse trabalho.

SUMÁRIO

Nº	INDICE	PG
	Resumo	viii
	Abstract	x
1-	INTRODUÇÃO.....	1
2-	REVISÃO DE LITERATURA.....	4
2.1-	Cultura da goiaba.....	4
2.2-	Aspectos gerais sobre mosca das frutas.....	6
2.2.1-	Fatores que influenciam no nível de Infestação de <i>Ceratitis capitata</i>	8
2.2.2-	Métodos de Controle Disponíveis.....	10
2.3-	Nematóides Entomopatogênicos.....	14
2.3.1-	Biologia e Comportamento.....	15
2.3.2-	Ciclo.....	16
2.3.3-	Produção de Nematóides Entomopatogênicos.....	18
	Produção <i>in vivo</i>	19
	Produção <i>in vitro</i>	20
2.3.4-	Formulação dos Neps.....	21
2.3.5	Tipos de aplicação de NEPs.....	22
2.3.6-	Uso de nematóides Entomopatogênicos no Brasil e no Mundo.....	24
3-	MATERIAL E MÉTODOS.....	25
	Manutenção.....	25
	Multiplicação e manutenção de <i>Ceratitis capitata</i>	27
3.1-	EXPERIMENTO 1.....	29
	Avaliação da virulência de oito linhagens de nematóides entomopatogênicos em larvas de <i>ceratitis capitata</i>	
3.2-	EXPERIMENTO 2.....	31
	Influência da dosagem de juvenis infectantes de três linhagens de nematóides entomopatogênicos na mortalidade de larvas da mosca-do-Mediterrâneo (<i>ceratitis capitata</i>)	
3.3-	EXPERIMENTO 3.....	32
	Influência do tempo de exposição de três linhagens de nematóides entomopatogênicos em larvas de <i>ceratitis capitata</i>	
3.4-	EXPERIMENTO 4.....	34
	Avaliação da mortalidade de pupas de mosca-do-Mediterrâneo (<i>ceratitis capitata</i>) utilizando diferentes doses de <i>Heterorhabditis baujardi lpp7</i>	
3.5-	EXPERIMENTO 5.....	35
	Influência da temperatura na mortalidade de larvas de mosca-do-Mediterrâneo, <i>ceratitis capitata</i> de <i>Heterorhabditis baujardi lpp7</i>	
3.6-	EXPERIMENTO 6.....	37
	Influência da temperatura na infecção de <i>Heterorhabditis baujardi lpp7</i> em pupas de mosca-do-Mediterrâneo, <i>ceratitis capitata</i>	
3.7-	EXPERIMENTO 7.....	38
	Avaliação da mortalidade da mosca-do-Mediterrâneo (<i>ceratitis capitata</i>) utilizando nematóides entomopatogênicos em nível de campo.	

4-	RESULTADOS.....	41
4.1-	RESULTADO DO EXPERIMENTO 1..... Avaliação da virulência de oito linhagens de nematóides entomopatogênicos em larvas de <i>ceratitis capitata</i>	41
4.2-	RESULTADO DO EXPERIMENTO 2..... Influência da dosagem de juvenis infectantes de três linhagens de nematóides entomopatogênicos na mortalidade de larvas da mosca-do-Mediterrâneo (<i>ceratitis capitata</i>)	43
4.3-	RESULTADO DO EXPERIMENTO 3..... Influência do tempo de exposição de três linhagens de nematóides entomopatogênicos em larvas de <i>ceratitis capitata</i>	45
4.4-	RESULTADO DO EXPERIMENTO 4..... Avaliação da mortalidade de pupas de mosca-do-Mediterrâneo (<i>ceratitis capitata</i>) utilizando diferentes doses de <i>Heterorhabditis baujardi</i> lpp7	46
4.5-	RESULTADO DO EXPERIMENTO 5..... Influência da temperatura na mortalidade de larvas de mosca-do-Mediterrâneo, <i>ceratitis capitata</i> de <i>Heterorhabditis baujardi</i> lpp7	47
4.6-	RESULTADO DO EXPERIMENTO 6..... Influência da temperatura na infecção de <i>Heterorhabditis baujardi</i> lpp7 em pupas de mosca-do-Mediterrâneo, <i>ceratitis capitata</i>	49
4.7-	RESULTADO DO EXPERIMENTO 7..... Avaliação da mortalidade da mosca-do-Mediterrâneo (<i>ceratitis capitata</i>) utilizando nematóides entomopatogênicos em nível de campo.	51
5-	DISCUSSÃO.....	53
6-	CONCLUSÕES.....	57

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Ciclo biológico de <i>Ceratitis capitata</i> , mosca-do-Mediterrâneo.....	8
Figura 2. Ciclo de vida dos nematóides entomopatogênicos.....	17
Figura 3. Larvas de <i>Galleria mellonella</i> em placa de Petri para infecção com nematóides entomopatogênicos.....	26
Figura 4. Armadilha de White modificada com cadáveres de <i>Galleria mellonella</i> usada na captura de JIs infectantes.....	26
Figura 5. Garrafas de cultura de células de 100 mL com solução de juvenis infectantes.....	27
Figura 6. Vista frontal e lateral da gaiola de criação de <i>C. capitata</i>	28
Figura 7. Detalhe da sequência de etapas do Experimento I.....	30
Figura 8. Detalhe da sequência de etapas do Experimento II.....	32
Figura 9. Detalhe da sequência de etapas do Experimento III.....	33
Figura 10. Detalhe da sequência de etapas do Experimento IV.....	35
Figura 11. Detalhe da sequência de etapas do Experimento V.....	36
Figura 12. Detalhe da sequência de etapas do Experimento VI.....	38
Figura 13. Detalhe da sequência de etapas do Experimento VII.....	40
Figura 14. Mortalidade em porcentagem de larvas de <i>Ceratitis capitata</i> expostas a diferentes linhagens de nematóides entomopatogênicos. Médias seguidas pela mesma letra não são diferentes em 5 % de significância pelo teste Tukey.....	42

Figura 15. Porcentagem de mortalidade de larvas de <i>Ceratitis capitata</i> expostas a diferentes linhagens de nematóides entomopatogênicos (figura 16). Médias seguidas pela mesma letra não são diferentes em 5 % de significância pelo teste Tukey.....	42
Figura 16. <i>Ceratitis capitata</i> , recém-emergidas em repetição da testemunha sem nematóides, B Pupas mortas pelos nematóides entomopatogênicos, <i>Heterorhabditis baujardi</i> LPP7.....	43
Figura 17, 18. Gráfico mostrando análise de regressão avaliando a mortalidade em função da concentração de utilizando JIs de LPP7.....	43
Figura 19, 20. Gráfico mostrando análise de regressão avaliando a mortalidade em função da concentração de utilizando JIs de LPP14.....	44
Figura 21, 22. Gráfico mostrando análise de regressão avaliando a mortalidade em função da concentração de utilizando JIs de LPP17.....	44
Figura 23, 24. Gráfico mostrando análise de regressão avaliando a mortalidade em função da concentração de utilizando JIs de LPP7.....	46
Figura 25. Evolução da mortalidade nas diferentes temperaturas.....	47
Figura 26. Curva de regressão para mortalidade nas diferentes temperaturas...47	
Figura 27. Evolução da mortalidade nas diferentes temperaturas.....	48
Figura 28. Curva de regressão para mortalidade nas diferentes temperaturas...48	
Figura 29. Etapa 1 mostrando a evolução da mortalidade entre os tratamentos e as testemunhas.....	49
Figura 30. Etapa 1 mostrando a curva de regressão para mortalidade nas diferentes temperaturas.....	49
Figura 31. Etapa 2 mostrando a evolução da mortalidade entre os tratamentos e as testemunhas.....	50
Figura 32. Etapa 2 mostrando a curva de regressão para mortalidade nas diferentes temperaturas.....	50
Figura 33. Etapa 1 do experimento de campo.....	50
Figura 34. Etapa 2 do experimento de campo.....	50

RESUMO

MINAS, RAMON SANTOS; M. Sc; Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. Março de 2008. Avaliação do Potencial dos Nematóides Entomopatogênicos como Agentes de Controle Biológico da moscas-das-frutas, *Ceratitis capitata* (Wied.) na cultura da goiaba (*Psidium guajava* L.). Orientador: Professor PhD. - Ricardo Moreira de Souza. Co-orientador: Ds - Rômulo de Souza Carvalho. Conselheira: PhD. - Claudia de Melo Dolinski.

Este trabalho teve como objetivo avaliar o potencial dos nematóides entomopatogênicos como agentes de controle biológico contra pupas e larvas L3 de *Ceratitis capitata*. No primeiro experimento foram selecionadas três linhagens (*Heterorhabditis baujardi* LPP7, LPP14 e LPP17) dentre oito testadas em larvas L3, baseando-se nas mortalidades causadas (89, 96, e 98,5 %). Em seguida foram testadas diferentes concentrações de juvenis infectantes (JIs) das linhagens LPP7, LPP14 e LPP17. Nas concentrações (5, 25, 45, 65, 85, 105 JIs) onde foi demonstrado que a maior mortalidade ocorreu quando foi aplicado maior número de JIs, com mortalidades médias de larvas de *C. capitata* em torno de (95 e 100 %) em todas as três linhagens. Foram testados também diferentes tempos de exposição (2, 8, 16, 24, 30 horas), onde nos tempos de 24 e 30 horas ocorreram as maiores mortalidades variando de (81 a 93%) nas três linhagens. A linhagem *H. baujardi* LPP7 foi selecionada dentre as três para prosseguir com os demais experimentos por ser nativa e mais resistente às condições tropicais. Pupas de *C. capitata* de 24 horas foram selecionadas e testadas em diferentes concentrações (5, 30, 55, 80, 105, 130, 155, 180, 205) JIs, sendo 205 JIs/pupa a concentração que mais se destacou quanto à mortalidade, proporcionando mortalidade de até (92,5 %) para as larvas. Foram ainda testadas diferentes temperaturas (16 °, 20 °, 24 ° e 30 °C), onde

foi obtida uma maior mortalidade à medida que a temperatura foi aumentando, sendo 24 e 28 °C as que proporcionaram maior mortalidade. Foi feito um experimento a campo com goiabeiras em gaiolas de sombrite, testando dois tratamentos (com e sem nematóides) e 100 larvas em estágio L3 por gaiola com sete repetições cada. No interior de cada gaiola foi colocada uma armadilha tipo Mac Phail®, e as médias dos tratamentos foram obtidas subtraindo as quantidades iniciais de larvas inoculadas ao solo pelo número capturado de adultos nas armadilhas. Para todos os experimentos foram feitas análises estatísticas, sendo os valores significativos, o que qualifica os nematóides como excelentes agentes de controle biológico no controle de *C. capitata* na cultura da goiaba.

ABSTRACT

MINAS, RAMON SANTOS; M. Sc; Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. March 2008. Potential Evaluation of Entomopathogenic Nematodes as Biological Control Agents of the Mediterranean fruit fly, *Ceratitis capitata* (Wied). Professor Adviser: Professor: PhD. - Ricardo Moreira de Souza. Co-adviser: Ds. - Rômulo de Souza Carvalho; Committee member: PhD. - Claudia de Melo Dolinski.

This work had as objective to evaluate the potential of the entomopathogenic nematodes as agents of biological control against pupas and larvae L3 of *Ceratitis capitata*. In the first experiment three strains (*Heterorhabditis baujardi* LPP7, LPP14 and LPP17) amongst eight tested in L3 larvae had been selected, causing mortalities (89, 96 and 98.5 %). After that had been tested different concentrations of infecting juveniles (IJs) of strains LPP7, LPP14 and LPP17. In the concentrations (5, 25, 45, 65, 85, 105 IJs) where was demonstrated that biggest mortality occurred when they had been applied bigger number of IJs with mortalities measured of *C. capitata* around (95 and 100 %) in all the three strains. Different times of exposition had been tested also (2, 8, 16, 24, 30 hours), where in the times of 24 and 30 hours biggest mortalities had occurred varying from (81 and 93%) in the three ancestries. *H. baujardi* LPP7 was selected amongst the three to continue with experiments for being native and more resistant to tropical conditions. Pupae of *C. capitata* 24-hour had been selected and tested in different concentrations (5, 30, 55, 80, 105, 130, 155, 180, 205) 205 JIs being IJs/pupa, the concentration that more was distinguished how much mortality providing mortality of until (92.5 %) for the larvae. Still different temperatures had been tested (16 °, 20 °, 24 ° and 30 °C) where were gotten a bigger mortality to the measure that the temperature was increasing, being 24 and 28

°C the ones that had provided to greater mortality. The level of field with goobers in sombrite river steamers was made an experiment testing two treatments (with and without nematodes) and 100 larvae in serves as apprentice L3 for river steamer with seven repetitions each. In the interior of each river steamer Mac Phail® trap was placed on, and the averages of the treatments had been gotten deducting the initial amounts from larvae inoculated to the ground for the number captured in the traps. For all the experiments had been made statistical analyses being the significant values, what characterizes the nematodes, as excellent agents of biological control in the control of *C. capitata* in the culture of guava.

1. INTRODUÇÃO

O Brasil é o terceiro maior produtor de frutas frescas do mundo, produzindo cerca de 35 milhões de toneladas anualmente e gerando cerca de quatro milhões de empregos diretos e tem ampliado suas exportações a cada ano. Segundo o Instituto Brasileiro de Frutas (Ibraf), de janeiro a junho de 2007 foram exportadas 372 mil toneladas, contra 326 mil no mesmo período do ano anterior, representando um crescimento de 14% em volume. Quanto ao valor, as exportações dos seis primeiros meses do ano de 2008 representaram US\$ 203 milhões, 30% a mais que em 2006. Dentre as regiões do Brasil, o Nordeste brasileiro destaca-se como um dos maiores produtores e exportadores de frutas do país (AGRIANUAL, 2005).

A produção nacional vem desempenhando papel cada vez mais importante no campo da comercialização no exterior. Assim, em face à crescente demanda dos países importadores e da potencialidade do Brasil em atendê-la, vem sendo requerido o estabelecimento de condições favoráveis ao desenvolvimento do setor de exportação. Além do mercado externo, o mercado interno vem exigindo cada vez mais frutos em quantidade e qualidade. (INSTITUTO DE ECONOMIA AGRÍCOLA, 2006).

O principal entrave à exportação desses frutos é a imposição de barreiras quarentenárias pelos países importadores, visando impedir a introdução das moscas-das-frutas, *Ceratitis capitata* (Wiedemann, 1824) e *Anastrepha* spp. (Diptera: Tephritidae). Desse modo, essas pragas são importantes, não só pelos danos diretos causados pelas larvas, que se alimentam no interior dos frutos, mas também por impedir a sua comercialização de outras frutas como: carambola, maçã, pêssigo, ameixa (GARCIA & COERSEUIL, 2004).

C. capitata, a mosca-do-Mediterrâneo, está entre as principais espécies de insetos praga da fruticultura mundial. Recentemente, a relevância dessa espécie foi aumentada com a comprovação da sua capacidade de transmitir a bactéria *Escherichia coli* para frutos comerciais (SELA *et al.*, 2005).

Devido aos prejuízos causados, torna-se importante o desenvolvimento de estratégias para o manejo da mosca-do-Mediterrâneo em fruteiras comerciais e também a adoção de programas alternativos que possam ser utilizados de forma regional. A aplicação de inseticidas tem sido o método de controle de pragas mais utilizado nas últimas décadas, mas a sua rejeição pela sociedade vem aumentando, devido aos seus efeitos negativos sobre os organismos não-alvo, à contaminação das águas, aos resíduos encontrados em alimentos e ao desenvolvimento de resistência em insetos praga.

As comunidades científicas vêm tentando conduzir a atenção da indústria, universidades e centros de pesquisa para o desenvolvimento de tecnologias e métodos alternativos de controle menos tóxicos ao meio ambiente que sejam incorporados ao manejo integrado de pragas (MIP) (GEORGIS & POINAR, 1994). Nesse contexto insere-se o controle biológico, utilizado largamente em diversas culturas que vêm se expandindo com o avanço das tecnologias desenvolvidas no intuito de ser mais uma ferramenta no controle de pragas. Dentro das alternativas utilizadas como controle biológico destacam-se os Nematóides entomopatogênicos (NEPs) das famílias *Steinemematidae* e *Heterorhabditidae*, pois são patógenos obrigatórios de insetos com possível potencial para se tornarem componentes dos programas de controle de pragas.

Os objetivos deste trabalho foram selecionar em laboratório linhagens de nematóides entomopatogênicos eficientes no controle biológico de larvas L3 e pupas da mosca-do-Mediterrâneo *C.capitata*, na sua fase vulnerável no solo, assim como, determinar as dosagens de juvenis infectantes mais efetivas, o tempo de exposição mais adequado e a influencia da temperatura na infecção. Em campo, em gaiolas sobre plantas de goiaba utilizada como cultura modelo, observa-se a capacidade de emergência de adultos da mosca-do-Mediterrâneo após aplicação de suspensões no solo dos nematóides mais eficientes que foram previamente selecionados em laboratório.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1- CULTURA DA GOIABA

A goiabeira, *Psidium guajava* L, da família da (Myrtaceae), é originária das Américas Central e do Sul, encontra-se amplamente distribuída por todas as regiões tropicais e subtropicais do mundo, sendo cultivada em países como Índia, Paquistão, México, Egito, Venezuela, Brasil, África do Sul, Jamaica, Austrália, Quênia e Porto Rico (MAIA *et al.*, 1991).

Essa cultura tem apresentado crescente importância econômica não só pelo elevado valor nutritivo, mas também pela excelente aceitação *in natura*, além das possibilidades de uso industrial. O Brasil apresenta imensas áreas de clima e solo favoráveis à produção comercial de goiaba, sendo esse aspecto importante, devido à perspectiva que representa no incremento da produção agrícola, na ampliação da atividade industrial e no potencial de exportação.

No Brasil, a cultura da goiabeira experimentou um incremento significativo em área plantada, passando de aproximadamente 14 mil ha. no ano de 2000 para cerca de 20 mil ha. plantados em 2002, enquanto que a produção, durante o mesmo período, cresceu cerca de 65% (AGRIANUAL, 2005).

Sua importância se prende ao fato de ser uma fruta rica em vitamina C, de adaptação relativamente fácil a diferentes tipos de clima e solo, constituindo-se

assim, em mais uma alternativa de diversificação de culturas na propriedade para melhor uso dos recursos disponíveis. Segundo o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), em 1998, eram cultivados cerca de 12.500 hectares com a fruteira no Brasil, sendo os principais estados produtores: São Paulo, Pernambuco, Minas Gerais, Rio Grande do Sul e Goiás.

Deve-se destacar que a goiaba é uma das frutas tropicais mais populares e de maior aceitação no país, porém seu consumo ainda é pequeno, não indo além de 380 grama/pessoa/ano. A fruta é apreciada tanto fresca como processada industrialmente em forma de doces, compotas, geléias e sucos, sendo rica em açúcares, sais minerais, vitamina C, licopeno, fibras, betacaroteno. O aumento no consumo de frutas de mesa e de sucos naturais é uma tendência mundial que pode ser aproveitada como um incentivo para uma produção de qualidade (ZAMBÃO & NETO, 1998).

No Brasil, a goiabeira é cultivada em três sistemas de produção bastante distintos: cultura de goiaba de mesa, cultura de goiaba para a indústria e cultura mista. Este último visa atender os dois mercados simultaneamente, que é interessante para os produtores, já que os frutos de melhor qualidade são destinados ao mercado de fruta *in natura*, com melhores preços, e o restante é destinado ao processamento (PIZA JR., 1994; GONZAGA NETO et al., 2001). Embora a goiabeira responda satisfatoriamente à poda de frutificação, dois aspectos de fundamental importância devem ser considerados: a época e a intensidade da poda (GONZAGA NETO et al., 2001). A realização de podas, em épocas e intensidades impróprias, pode afetar negativamente a produção de goiabas, fato constatado por SINGH et al. (2001). Pesquisas e recomendações sobre a irrigação na cultura da goiabeira são escassas, porém indicam aumentos de produtividade com o aumento da lâmina de irrigação aplicada (CHIRINOS-TORRES et al., 2006). A falta de água disponível no solo, em época de elevada necessidade hídrica pela goiabeira, durante o período de intenso florescimento, fixação e desenvolvimento dos frutos, pode resultar em frutos pequenos e em menor produção por planta (MANICA et al., 2000).

Várias são as pragas que atacam a cultura da goiaba e as moscas-das-frutas é uma das pragas que causam os maiores prejuízos. Esses prejuízos podem

ser diretos, com perdas na produção, e indiretos. Por serem pragas quarentenárias, existem barreiras comerciais impostas pelos países importadores, limitando a exportação de frutos *in natura*. Apesar de o Brasil ser o terceiro maior produtor mundial de frutas, exporta-se apenas 2% dessa produção, enquanto que o Chile, um país livre de mosca-do-Mediterrâneo produz dez vezes menos que o Brasil, porém exporta 40% da produção, ou seja, 1,83 bilhões de dólares a mais que o Brasil (AGRIANUAL, 2005).

No Brasil, as espécies de moscas-das-frutas de importância econômica pertencem a quatro gêneros: *Anastrepha*, *Bactrocera*, *Ceratitis* e *Rhagoletis* (Diptera: *Tephritidae*). No entanto, do ponto de vista agrícola, apenas *Ceratitis capitata* e sete das 94 espécies de *Anastrepha* que ocorrem no Brasil são as moscas-das-frutas economicamente importantes no país (ZUCCHI, 2000a).

2.2 – Aspectos gerais sobre mosca-das-frutas

As moscas-das-frutas pertencem à família Tephritidae, que compreende 4.352 espécies, agrupadas em 481 gêneros (NORRBOM, 2001). Larvas de aproximadamente 35% das espécies de tefritídeos desenvolvem-se nos frutos (WHITE & ELSON-HARRIS, 1994). Pelo elevado potencial em se reproduzir, habilidade de se dispersarem no ambiente, se adaptarem a novas plantas hospedeiras e ainda por causar danos econômicos, as moscas-das-frutas são consideradas pragas em muitas frutíferas, em regiões com climas de tropical a temperado (GALLO *et al.*, 1988; SALLES, 1995a).

No Brasil, segundo ZUCCHI (2000), as espécies de maior importância econômica são as do gênero *Anastrepha* Schiner, 1868 e *C. capitata* esta também chamada de mosca-do-Mediterrâneo. *C. capitata* é originária da região noroeste da África e está distribuída pela Austrália, sudeste da Ásia, Europa, América Central e América do Sul. Ataca cerca de 320 espécies de plantas hospedeiras em todo o mundo, destacando-se as famílias: *Sapotaceae*, *Rutaceae*, *Anacardiaceae*, *Rosaceae* e *Rubiaceae* (NÚÑEZ-BUENO, 1987). No Brasil foi introduzida no início do século XX, e hoje se encontra amplamente distribuída nas regiões produtoras de frutas, sendo encontrada com maior frequência nas regiões Sul e Sudeste, onde se

cultiva um maior número de fruteiras. Contudo, verifica-se a presença deste inseto nas regiões Centro-Oeste e Nordeste, com relatos desta praga em 16 Estados brasileiros parasitando diversas espécies vegetais (CARVALHO *et al.*, 1991; MORGANTE 1991; COSTA *et al.*, 1993).

Nos últimos dez anos, a ocorrência e a densidade populacional desta espécie vem aumentando no Nordeste brasileiro em função do aumento da área plantada e da diversidade de hospedeiros, sendo o seu controle fundamental para viabilizar a exportação de frutas *in natura* para os Estados Unidos (CARVALHO, 2003; CARVALHO & NASCIMENTO, 2002). As fêmeas da mosca-do-Mediterrâneo após a emergência necessitam ingerir alimentos protéicos, levando de quatro a sete dias para atingir a maturidade sexual (MORGANTE, 1991). O dimorfismo sexual é acentuado e caracterizado pela presença do ovipositor e pelo maior tamanho das fêmeas. Depois de fecundadas, as fêmeas estão aptas a ovipositar em torno de 400 ovos durante seu período reprodutivo. Estudos indicam que o período de pré-oviposição varia entre sete e trinta dias. A postura é feita através da perfuração do fruto pelo ovipositor e ocorre exclusivamente em frutas, sendo que o estágio de desenvolvimento do fruto influencia o desenvolvimento da prole (SALLES, 1995B; SELIVON, 2000) A oviposição ocorre, geralmente, com um ovo por ato de postura, podendo ser de um até nove unidades em cada fruto. Os ovos são fusiformes, levemente curvados, de coloração branca e medem cerca de 1,0 mm de comprimento. Os danos causados aos frutos são irreversíveis, pois o orifício em si causa prejuízos aos frutos e ainda facilita a ocorrência de doenças como a podridão parda causada pelo fungo *Monilinia fructicola* (Wint.) (NORA & HICKEL, 1997). As larvas fazem galerias dentro dos frutos auxiliando a dispersão de fungos e bactérias (SALLES & KOVALESKI, 1990). BOTTON *et al.* (2003) verificaram que os frutos atacados pela moscas-das-frutas antecipam o amadurecimento e caem precocemente.

As larvas sempre passam por três instares dentro dos frutos. No último, atingem 9 mm de comprimento (SALLES, 1995). O período de desenvolvimento das larvas depende da temperatura e do tipo de alimento (MACHADO *et al.*, 1995).

A larva, ao completar o ciclo deixa os frutos e cai no solo para transformar-se em pupa (NORA & HICKEL, 1997). Em laboratório, a 25°C, o período de pupa

varia entre 15 a 20 dias. No campo, este período varia conforme o local e a época do ano, no verão duram de 18 a 30 dias, enquanto que no inverno o ciclo é mais prolongado podendo atingir até 67 dias. Com temperaturas superiores a 20 °C até no máximo 35 °C a mosca completa o seu ciclo de vida em cerca de 30 dias. (Figura 1). (MACHADO ET AL., 1995; SALLES, 1995). O período de duração do ciclo de vida das moscas-das-frutas depende além da temperatura, também da planta hospedeira.

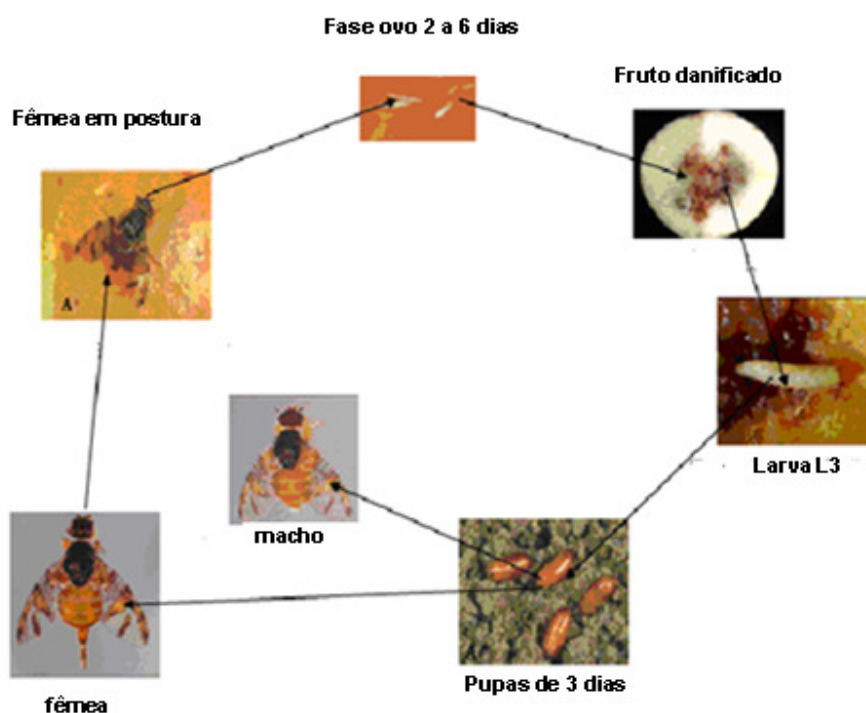


Figura 1. Ciclo biológico de *Ceratitis capitata*, mosca-do-Mediterrâneo.

2.2.1 - Fatores que influenciam no nível de Infestação de *Ceratitis capitata*

Apesar do grande conhecimento acerca das diversas espécies de tefritídeos que causam prejuízos à fruticultura brasileira, pouco ainda se sabe sobre suas plantas hospedeiras. Isso ocorre por que a maioria dos levantamentos é realizada com armadilhas contendo atrativos alimentares, o que impossibilita associá-las com segurança a seus hospedeiros. O conhecimento da diversidade de espécies de moscas-das-frutas que ocorrem em uma região, suas plantas hospedeiras e os

índices de infestação são de fundamental importância, pois é a partir desses conhecimentos que se pode aperfeiçoar os métodos de controle e minimizar os problemas advindos da sua elevada eficiência em condições naturais (GUIMARÃES *et al.*, 2003).

O Brasil é um dos países que mais tem se dedicado ao conhecimento das espécies de moscas-das-frutas e seus hospedeiros (ALUJA, 1999). Diversos pesquisadores consideram que o uso de substâncias alimentares associadas a armadilhas para o monitoramento das moscas-das-frutas tem grande utilidade para determinar o momento ideal de locação de iscas tóxicas, conseguindo-se redução dos gastos e do efeito nocivo das iscas tóxicas à fauna benéfica como predadores e parasitóides (PUZZI & ORLANDO, 1957; LORENZATO & CHOUENE, 1985; RAMPAZZO, 1994).

Vários fatores, dentre eles os bióticos e abióticos interferem no nível populacional das moscas-das-frutas e, conseqüentemente sobre seus índices de infestação (ALUJA, 1994). Dentre os fatores bióticos que interferem nas populações das moscas-das-frutas, destacam-se a disponibilidade do hospedeiro, pois frutos são utilizados como substrato de oviposição e alimentação das larvas; os inimigos naturais e entre os inimigos naturais, principalmente os parasitóides e predadores, pois causam mortalidade às moscas-das-frutas durante todo ciclo de vida (BATEMAN, 1972; CARVALHO *et al.*, 2000).

Além dos fatores bióticos, vários fatores abióticos interferem nas populações das moscas-das-frutas, em praticamente todos os estágios de vida. Segundo ALUJA (1994) E SALLES (1995), os parâmetros climáticos são os que mais agem sobre as populações dos tefritídeos. A precipitação pluvial é um importante fator climático que influencia as populações das moscas-das-frutas (ALUJA, 1994). A falta de umidade no solo inviabiliza muitos pupários e provoca a mortalidade de adultos recém-emergidos, devido à dificuldade de ultrapassar o solo seco (BAKER, 1944; BATEMAN, 1972). Além disso, durante os períodos secos as populações das moscas-das-frutas são afetadas, pois há redução na fecundidade das fêmeas (Bateman, 1972).

AZEVEDO & PARRA (1989) também constataram que umidade de solo variando entre 5,5 e 32,8% praticamente não alterara a viabilidade pupal de *C.*

capitata. Em vários trabalhos desenvolvidos no Brasil, não foi constatado a influência da precipitação pluvial sobre a flutuação populacional de adultos de moscas-das-frutas (PUZZI & ORLANDO, 1965; SUPLICY FILHO *et al.*, 1978; PARRA *et al.*, 1982).

2.2.2 – Métodos de Controle Disponíveis

O principal entrave à exportação das frutas produzidas no Brasil é a imposição de barreiras quarentenárias pelos países importadores, visando impedir a introdução das moscas-das-frutas. Desse modo, essas pragas tornam-se importantes, não só pelos danos diretos causados pelas larvas, que se alimentam no interior dos frutos, mas também por impedir a comercialização de várias espécies frutíferas no mercado externo, como goiaba, melão, manga, carambola, maçã, pêssigo, ameixa (GARCIA & CORSEUIL, 2004; HICKEL & DUCROQUET, 1993; KOVALESKI *et al.*, 1999; MACHADO *et al.*, 1995; MALAVASI & ZUCCHI, 2000).

O controle das moscas-das-frutas na cultura da goiabeira tem sido realizado através da aplicação de defensivos agrícolas nos frutos quando estes ainda estão jovens até 5 cm, suspendendo-se as aplicações 30 dias antes da colheita (GALLO *et al.*, 2002). No entanto, devido à grande exigência dos países importadores com relação aos resíduos no ambiente e toxicidade aos consumidores e produtores brasileiros, o manejo dessa praga tem se aperfeiçoado (MOY *et al.*, 1986). Assim, a fim de satisfazer o mercado consumidor foi necessário buscar tratamentos alternativos.

Em 1982, BURDITT & SEO concluíram que o uso das radiações gama seria indicado como tratamento de quarentena para produtos infestados com ovos e larvas de moscas-das-frutas. Segundo MOY *et al.* (1983), a irradiação possui as seguintes vantagens em relação ao tratamento com produtos químicos, tratamentos térmicos ou a combinação de ambos: é um processo contínuo e totalmente eficiente, assegurando completa desinfestação dos produtos; não deixa resíduos nos frutos e tende a retardar o amadurecimento das frutas climatéricas, aumentando o tempo de armazenamento sem deterioração.

Para o controle populacional alternativo a essa praga estão sendo empregadas varias técnicas; destacando-se o uso de armadilhas, ensacamento dos frutos, a liberação do macho estéril e a utilização de parasitóides (GARCIA *et al.*, 2003; MALAVASI & NASCIMENTO, 2003; UCHOA-FERNANDES & ZUCCHI, 1999).

Os tefritídeos adultos necessitam de água, carboidratos e proteínas para atingir a maturidade sexual (BATEMAN, 1972). Por isso, substâncias protéicas são utilizadas mundialmente para detectar populações de *C. capitata* e *Anastrepha* spp. em armadilhas. (FLATH *et al.*, 1989; HEATH *et al.*, 1994; ROS *et al.*, 1997). Processos hidrolíticos, enzimáticos e fermentativos das fontes protéicas possibilitam a captura de tefritídeos em armadilhas McPhail (DEMILO *et al.*, 1997), cuja eficácia depende do tipo de atrativo empregado. CALKINS *et al.* (1984) estimaram em 13% a probabilidade de captura de um exemplar da mosca-da-fruta. A baixa eficiência das armadilhas McPhail com proteína hidrolisada foi observada por Aluja *et al.* (1989) para *Anastrepha ludens* (Loew), *A. obliqua* (Macquart) e *A. serpentina* (Wied.). A rapidez na detecção e um maior nível de precisão na estimativa das populações de moscas-das-frutas é um requisito fundamental para detectar movimentos migratórios, mortalidade ou reprodução (ROS *et al.*, 2002), prover informações para o (MIP) (CHAMBERS, 1977) e evitar danos à produção frutícola. O uso de atrativos disponíveis no mercado internacional para armadilhas McPhail, como Nulure® e Torula®, é reduzido em países da América Latina, em vista das limitações de custo e acessibilidade por parte dos produtores (PIÑERO *et al.*, 2003).

No Brasil, melão de cana-de-açúcar e sucos de frutas são atrativos empregados em muitas áreas frutícolas em detrimento a proteínas hidrolisadas, tanto para monitoramento como para o preparo de iscas tóxicas. O ensacamento das frutas para protegê-las do ataque de moscas é uma das práticas fitossanitárias mais antigas e eficazes. Na década de 60, quando a Grande Porto Alegre era o principal pólo de produção de hortigranjeiros no Rio Grande do Sul, o ensacamento era prática usual, principalmente para o pêssego, pêra e ameixa. Usavam-se sacos de papel encerado e de papel manteiga e, também, folhas de jornal, para proteger os cachos de uva contra o ataque de vespas e outros insetos (ROSA, 2002). Nos municípios de produção citrícola, o ensacamento era praticado correntemente,

desde o início do século passado, exigindo dispêndio elevado de material e, em especial, de mão-de-obra, tornando-se inviável, principalmente nos grandes pomares, onde difícil se tornava a obtenção de mão-de-obra barata e abundante (GONÇALVES et al., 1958).

A partir do final da década de 60 e início dos anos 70, o ensacamento praticamente deixou de ser feito, substituído pela aplicação de iscas com inseticidas para controle das moscas-das-frutas. A escassez de mão-de-obra na zona rural, o maior custo, o tamanho dos pomares e o preço final da fruta são fatores que hoje limitam esta prática a determinadas espécies e variedades.

O controle autocida ou técnica do inseto estéril consiste na esterilização de insetos da mesma espécie criados em massa, que depois são dispersos na natureza. Na luta autocida, pretende-se a substituição do acasalamento normal, pelo acasalamento de machos não férteis com fêmeas selvagens, para induzirem nestas a esterilidade (PEDIGO, 1996).

Para o efeito, os machos esterilizados necessitam ter a capacidade de acasalar com as fêmeas selvagens, originando ovos não fecundados. A fêmea não distingue o macho selvagem do macho esterilizado criado em laboratório e apenas seleciona o par pela sua competitividade e robustez. Dessa forma, é essencial a criação em laboratório de insetos que, mesmo esterilizados, sejam competitivos, pois são eles que, após a liberação, vão tornar as fêmeas inférteis, devido à incapacidade do seu sêmen as fecundar. Em termos teóricos, para que o controle autocida seja eficaz, a liberação de insetos esterilizados em relação aos selvagens deve ser efetuada em uma proporção de 9:1. Assim, a probabilidade de acasalamento de um macho esterilizado com uma fêmea selvagem é elevada, garantindo a redução da população da praga (KNIPLING, 1955).

Esta técnica tem sido empregada há 25 anos no México, Estados Unidos e Guatemala, estendendo-se presentemente a outros países da América do Sul (Argentina, Chile e Peru) e, muito recentemente, pela primeira vez na Europa, na região autônoma da Madeira (HENDRICHS et al., 1995). Para a utilização da técnica do inseto estéril é necessário um profundo conhecimento da praga, bem como das possíveis interações desta com o ambiente (PEREIRA et al., 2000). Destaca-se a

importância do conhecimento do seu comportamento no campo, pois os machos esterilizados ao serem dispersos, terão que competir sexualmente, com eficácia, com a população selvagem. Além disso, o combate à praga é efetuado contra a população global (“area wide”) e não para proteção apenas de uma cultura ou de uma parcela de terreno (LINDQUIST, 2000).

Dentre os parasitóides empregados no controle biológico dessas pragas, os himenópteros das famílias Figitidae, subfamília Eucoilinae e Braconidae subfamílias Opiinae e Algisiinae, compõem o grupo de inimigos naturais mais importantes no controle de larvas de dípteros frugívoros (Tephritidae, Lonchaeidae e Drosophilidae). Na América Latina e sul dos Estados Unidos, 27 espécies de braconídeos já foram constatadas como parasitóides de *Anastrepha* spp, sendo *Doryctobracon areolatus* (Szépligeti), a de mais ampla distribuição geográfica, (OVRUSKI et al., 2000). No Brasil, onde 13 espécies de braconídeos foram registradas, *D. areolatus* também foi a espécie mais comum (LEONEL JR. et al., 1995; CANAL & ZUCCHI, 2000).

Os braconídeos parasitóides de moscas-das-frutas são endoparasitóides coinobiontes, ou seja, a fêmea oviposita nos ovos ou larvas de seu hospedeiro, que permanece vivo até a fase de pupa, para o completo desenvolvimento do parasitóide (WHARTON, 1997). Os opiíneos parasitóides de moscas-das-frutas pertencem aos gêneros *Opius*, *Utetes*, *Doryctobracon*, *Biosteres* e *Diachasmimorpha* (WHARTON, 1997). Os opiíneos são preferidos nos programas de controle biológico de moscas-das-frutas devido à especificidade hospedeira para a família Tephritidae (CLAUSEN, 1940). Apesar de limitarem seus hospedeiros às espécies da família Tephritidae, com algumas exceções, os parasitóides possuem uma ampla gama de espécies hospedeiras, atacando moscas-das-frutas de diferentes grupos em diversos frutos hospedeiros (CANAL & ZUCCHI, 2000).

No Brasil existem muitas espécies nativas de parasitóides de moscas-das-frutas, tais como: *Doryctobracon areolatus* (Szépligeti), *D. brasiliensis* (Szépligeti), *Opius bellus* (Gahan), *Utetes anastrephae* (Szépligeti) (Hymenoptera: Braconidae); *Aganaspis pelleranoi*, *Pachycrepoideus viriendemmiæ* (Rondani) (Hymenoptera: Pteromalidae) (ZUCCHI & CANAL, 1996).

Em programas de controle biológico aplicado, deve-se criar e liberar grandes quantidades dos inimigos naturais a campo. Porém, no Brasil até o

presente momento, não se obteve uma forma de criação em massa que fosse satisfatória para o uso no controle biológico, por isso recorreu-se à importação do endoparasitóide exótico, *Diachasmimorpha longicaudata* (Ashmead) (*Hymenoptera: Braconidae*), realizada pela Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical (CARVALHO, e 2005), cuja técnica de criação massal em laboratório já está estabelecida (WALDER et al., 1995).

Mediante estudos desenvolvidos na América do Norte *D. longicaudata* depende de vários fatores, tais como: densidade do hospedeiro (ASHLEY & CHAMBERS, 1979, VARGAS et al., 1993), presença de moscas-das-frutas (MESSING & JANG, 1992) e fenologia da cultura (MESSING & JANG, 1992; MESSING et al. 1994). A espécie de mosca hospedeira também é outro fator importante. No Havaí, *D. longicaudata* foi encontrada parasitando em maior proporção espécies do gênero *Ceratitis*. O odor de frutos infestados com larvas é importante na localização do hospedeiro, sendo que frutos de goiaba apresentam forte atratividade para as fêmeas de *D. longicaudata* (MESSING & JANG, 1992). Além disso, *D. longicaudata* teve melhor adaptação a pomares comerciais de goiaba em relação aos habitats naturais (VARGAS et al., 1993, ALVARENGA et al., 2005). Constata-se, portanto, pelas pesquisas realizadas em diversos locais do mundo, que *D. longicaudata* é um agente promissor no controle biológico de moscas-das-frutas em goiaba. No Brasil, alguns estudos foram desenvolvidos com relação ao estabelecimento desse parasitóide em pomares comerciais de goiaba (ALVARENGA et al., 2005) e em algumas outras fruteiras comerciais e silvestres (MATRANGOLO et al., 1998, PARANHOS et al., 2003).

2.3. Nematóides Entomopatogênicos

Os nematóides entomopatogênicos (NEPs) pertencem à Ordem Rhabditida (Nematoda: Secernentea), na qual estão inseridas as famílias *Steinernatidae* e *Heterorhabditidae*. A família *Steinernematidae* possui dois gêneros: *Steinernema* e *Neosteirnenema*, enquanto a família *Heterorhabditidae* possui o gênero *Heterorhabditis*. Atualmente existem descritas e validadas 43 espécies do gênero *Steinernema*, uma do gênero *Neosteirnenema* e nove do gênero *Heterorhabditis*,

sendo que mais do que 70% delas foram descritas nos últimos 20 anos (ADAMS et al., 2002).

Esses nematóides são organismos de forma cilíndrico-alongada, sem segmentação nem apêndices, patógenos obrigatórios capazes de colonizar alguns invertebrados, como insetos, aranhas e carrapatos. Possuem adaptações características: primeiro, são letais a insetos; segundo, possuem associação simbiote com bactérias entomopatogênicas; em seu terceiro estágio (J3), também chamado de juvenil infectante (JI), tem a capacidade de penetrar os insetos e de sobreviver no solo por tempo limitado (AKHURST & BOEMARE, 1990; SUDHAUS, 1993).

Os NEPs são assim conhecidos porque causam doença e morte a diferentes espécies de insetos com grande rapidez (24 a 48 hrs.) (DOWS & PETERS, 2002). Os progressos alcançados nas últimas décadas em estudos com NEPs sobre taxonomia, biologia, genética, ecologia, gama de hospedeiros, tecnologia de aplicação, testes em laboratório e a campo têm destacado como excelentes candidatos a agentes de controle biológico de insetos praga (GAUGLER, 1988; GREWAL & GEORGIS, 1998). Em comparação com o controle químico, o uso de NEPs é mais seguro para o usuário e para o ambiente. Eles possuem baixo efeito sobre populações de insetos não alvo, e nenhum efeito sobre mamíferos ou plantas (AKHURST, 1990). NEPs são considerados uma ferramenta efetiva para ser incorporada em programas de manejo integrado de pragas (MIP), representando uma parte importante dos chamados biocontroladores (EHLERS, 1996).

2.3.1 - Biologia e comportamento

Os NEPs possuem uma particularidade que é a associação simbiote com bactérias entomopatogênicas dos gêneros *Xenorhabdus* e *Photorhabdus* (associação com espécies dos gêneros *Steinernema* e *Heterorhabditis*, respectivamente). Essas bactérias são as principais responsáveis pela morte rápida do hospedeiro por septicemia. Os NEPs vêm sendo isolados de solos em diferentes ecossistemas do mundo, desde o ártico até os trópicos, apresentando um vasto leque de hospedeiros (POINAR, 1990). Como exemplo, *S. carpocapsae* coloniza em

condições de laboratório mais de 250 espécies de insetos pertencentes à aproximadamente 75 famílias de 11 ordens, e podem infectar os estádios de larva, pupa, e adulto destes. (PETERS, 1996). Os NEPs, por serem organismos cujo hábitat natural é o solo, sofrem influência de características deste hábitat, como tamanho dos poros, umidade, presença de oxigênio, temperatura e pH (BARBERCHECK, 1992). As interações de todos esses fatores podem alterar desde a sobrevivência até a capacidade de infecção do nematóide (KAYA, 1990). Algumas espécies de NEPs podem tolerar temperaturas extremas, mas é possível que a baixa umidade do solo altere sua capacidade de dispersão e persistência (KUNG et al., 1987).

2.3.2 - Ciclo

O ciclo de vida das espécies do gênero *Steinernema* começa com os juvenis infectantes (J1s) penetrando no corpo do hospedeiro através de aberturas naturais, como boca, ânus e espiráculos (FORST & CLARKE, 2002) (Figura 2). Este estágio de juvenil carrega células das bactérias *Xenorhabdus* em uma vesícula localizada na região anterior do intestino. Após penetrar no inseto, passam a hemocele, onde liberam as bactérias. Estas se multiplicam rapidamente, e após curto período, causam septicemia e morte do hospedeiro.

O cadáver fica então preenchido por uma “sopa bacteriana”, composta por bactérias e por tecidos do inseto já desorganizados e decompostos. Os nematóides então, se alimentam desta “sopa bacteriana” e se desenvolvem, passando para o último estágio de juvenil (J4) e depois se tornam adultos anfimíticos de primeira geração. Em geral, os juvenis originários desses adultos ainda têm ao seu dispor apreciável quantidade de alimento, conseguindo completar o ciclo e formar os adultos anfimíticos de segunda geração dentro do corpo do hospedeiro. Geralmente, após o surgimento e acasalamento dos adultos da segunda geração, tem-se a formação de uma população de juvenis que se alimentam do resto do cadáver e depois o abandonam, indo para o solo em busca de novos hospedeiros. Antes dos nematóides deixarem o cadáver as bactérias simbiotes são novamente apreendidas na vesícula do intestino dos juvenis (ADAMS & NGUYEN, 2002).

O ciclo de vida dos *Heterorhabditis* é semelhante ao do *Steinernema* com a diferença que no primeiro ciclo dentro do hospedeiro a primeira geração é hermafrodita, sendo que machos e fêmeas só aparecem na segunda geração (ADAMS & NGUYEN, 2002). Uma característica adicional que destaca os NEPs dentre os agentes do controle biológico é a sua capacidade de dispersão e busca do hospedeiro. Os NEPs são atraídos pelas atividades fisiológicas do hospedeiro, como a respiração, que ocasiona diferenças de CO₂ (ZUCKERMAN & JANSSON, 1984; GAUGLER et al., 1989). De acordo com sua movimentação e comportamento, os NEPs podem ser classificados em dois tipos: “ambusher” ou “cruiser”. *S. carpocapsae* é um típico “ambusher”, que fica parado sobre a cauda na superfície do solo até a aproximação do hospedeiro. Este movimento é conhecido como nictação, o qual permite ao nematóide alcançar outros substratos ou hospedeiros mediante movimentos sincronizados e ondulatórios de seu corpo (ISHIBASHI & KONDO, 1990). *H. bacteriophora* e *S. glaseri* são típicos “cruiser”, pois são móveis e respondem notoriamente aos químico-atraentes do hospedeiro (Kaya & Gaugler, 1993).

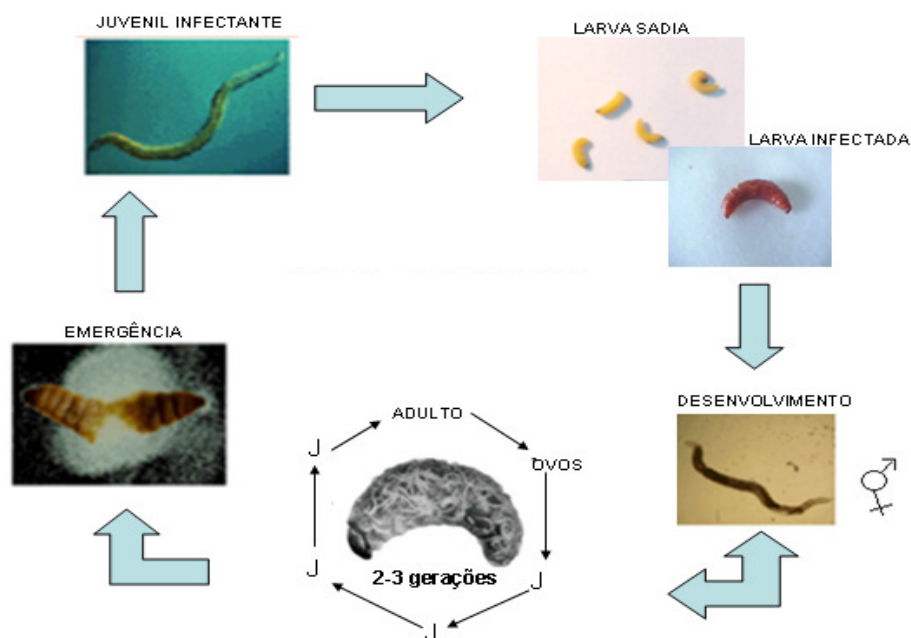


Figura 2. Ciclo de vida dos nematóides entomopatogênicos.

Os juvenis infectantes dos gêneros *Steinernema* e *Heterorhabditis* são morfológica e fisiologicamente adaptados à vida livre no solo. Durante este estágio os nematóides não se alimentam, possuem a boca e o ânus fechados e dependem de suas reservas nutritivas internas até encontrar um novo hospedeiro. Estas reservas se encontram no intestino, principalmente, na forma de glicogênio (LEWIS, 1992). No terceiro estágio os NEPs são mais resistentes às condições ambientais adversas, devido à presença da cutícula do segundo estágio sobre a do terceiro estágio. Esta proteção tem um papel fundamental, pois evita a morte por dessecação e ação de antagonistas existentes no solo, como bactérias e fungos (CAMPBELL & GAUGLER, 1991). Os Nematóides entomopatogênicos são extremamente dependentes da quantidade de lipídios armazenada no seu organismo e da umidade e temperatura para sobreviverem no solo (PATEL & WRIGHT, 1997; GLAZER, 2002). Essa capacidade de sobrevivência em diferentes temperaturas tem sido avaliada em diversos estudos, procurando selecionar isolados que permitam estar adaptados às adversidades de cada região. Cada espécie e até mesmo isolados da mesma espécie reagem diferentemente às variações de temperatura e umidade. Desse modo, a avaliação de nematóides se faz necessária, com o objetivo de descobrir novos agentes que sejam mais eficientes para uso nos programas de controle biológico de pragas.

2.3.3 - Produção de Nematóides Entomopatogênicos

Nos últimos anos foram conseguidos avanços significativos no que diz respeito à produção em escala comercial de nematóides entomopatogênicos. De tal forma que atualmente já são competitivos com os inseticidas químicos no controle de pragas em culturas de médio e alto valor, o aumento da sua utilização em sistemas agrícolas sustentados na agricultura biológica ou nos sistemas de controle integrado está, contudo, dependente dos avanços tecnológicos capazes de produzi-los em escala industrial e a custos de produção que não constituam um fator limitante.

São três os sistemas que correntemente se usam na produção em massa de nematóides entomopatogênicos: produção *in vivo*, produção *in vitro* em substrato sólido e em substrato líquido. Os sistemas atuais de produção são capazes de gerar

NEPs em pequena, média e larga escala, mas os altos custos do processo ainda constituem um fator limitante para o seu uso em programas de (MIP). A associação do nematóide com a bactéria simbiote favorece esses tipos de produção, mas deve-se ressaltar que a bactéria deve estar em condições ótimas para que o nematóide se desenvolva e se multiplique. Existem cerca de 30 empresas fabricando e/ou comercializando sete espécies de nematóides entomopatogênicos no mundo (BIOLOGICAL CONTROL, 2005).

- Produção *in vivo*

É o método mais simples e o mais usado para multiplicar NEPs e é realizado em insetos hospedeiros. A técnica foi tentada pela primeira vez por GLAZER em 1931, mas foi DUTKY em 1959 que obteve pela primeira vez uma grande produção de JIs em larvas de *Galleria mellonella* (Lepidoptera: Pyralidae) conhecida como traça-pequena-dos-favos. É uma técnica simples, mas cujo custo de produção pode ser elevado e não permite uma economia de escala.

O número de juvenis obtidos depende da susceptibilidade do hospedeiro, mas também da espécie de nematóide multiplicada (MOLINA et al., 2001). Em geral, obtêm-se de 100.000 a 300.000 JIs por larva infectada (POINAR, 1990). Nesse tipo de produção, o inseto hospedeiro atua como um pequeno reator biológico, onde as bactérias utilizam nutrientes dissolvidos na hemolinfa, mas também quebram compostos e tecidos dos insetos com suas próprias enzimas.

As larvas de insetos são infectadas adicionando-se juvenis infectantes em meio aquoso a um papel absorvente ou submergindo as larvas no mesmo meio; esse “banho” de nematóides não deve passar de dois segundos. Em geral são utilizados cerca de 100 JIs por larva no primeiro método e 4.000 JIs/mL no segundo, podendo ser submersos nessa solução mais de 400 larvas (SHAPIRO-ILAN et al., 2002). Após 24 a 48 horas. de infecção, as larvas adquirem a coloração característica do complexo nematóide-bactéria. Depois de ter completado dois a três ciclos do nematóide no hospedeiro (cerca de 5 a 10 dias), já não há alimento disponível e os juvenis infectantes começam a deixar os cadáveres em busca de novos hospedeiros. Essa etapa, chamada de colheita, pode ser feita em diferentes

escalas, desde em placas de Petri até em sistemas de colheita para grande volume de nematóides, como o lotek (WHITE, 1927).

Depois de coletados, os JIs podem ser armazenados em água, esponja, gel, ou em outros substratos inertes a temperaturas variando de 4 a 16 °C, por 1 a 3 meses. Cada nematóide possui tempo e temperatura ótimos de armazenamento (GREWAL, 2002). Após algum tempo de armazenamento pode haver queda na infectividade nos JIs. O maior gasto nesse sistema está na dieta usada na criação das larvas de *G. mellonella*. Essa dieta vem sendo modificada para que se torne mais barata e a multiplicação dos nematóides seja viável. Nos E.U.A, uma larva de *G. mellonella* pode ser comprada por US\$ 0,01; levando em consideração que cada larva produz cerca de 1 a $3,5 \times 10^5$ JIs (DUTKY, 1964), 25.000 larvas são necessárias para tratar 1 ha, com base em $2,5 \times 10^9$ JIs/ha. Para baixar ainda mais o custo de produção, é preciso continuar melhorando outros aspectos da criação das larvas e programar sistemas de armazenamento e conservação de nematóides (FLANDERS, 1996).

- Produção *in vitro*

A produção em meios artificiais começou 30 anos antes de DUTKY (1964) ter proposto a multiplicação *in vivo*. GLASER (1931) cultivava NEPs em bandejas cobertas com 4 mm de um meio composto por vísceras de animais e dextrose-agar. Nesse sistema eram produzidos cerca de 9.000 a 12.000 nematóides/cm² de meio de cultura, atingindo 140 milhões de juvenis ao dia. Muitos outros meios foram testados, mas somente a partir da descoberta da existência da bactéria simbiote, deixou-se de usar vísceras animais, de contaminação fácil e de manuseio desagradável.

Apesar de não conhecer a existência da bactéria simbiote, GLASER (1931) observou que nematóides mantidos nesse meio por muito tempo perdiam sua infectividade e que, de tempos em tempos, deveria infectar larvas de insetos para recuperá-los. Hoje a produção *in vitro* pode ser feita em meio artificial sólido e líquido. A produção em meio sólido era feito usando pedaços de um suporte inorgânico, como esponja de poliuretano, embebidos em meio nutritivo constituído

de tecidos animais e óleo como substrato, para a reprodução e o desenvolvimento do complexo nematóide-bactéria. Dos meios desenvolvidos, o de BEDDING (1981) mostrou ser o melhor e graças a ele e à alta produção de JIs que proporciona, a exploração comercial dos NEPs teve início. Ao invés de bandejas, o autor usou garrafas de Erlenmeyers com esponja e substrato, obtendo produções da ordem de 1.300 milhões de juvenis por 3 kg de meio utilizado. O meio deve ser autoclavado juntamente com a espuma em sacos plásticos ou em Erlenmeyers. A bactéria simbiote é adicionada ao meio e, 24 hrs. depois, os nematóides. Após 14-15 dias, faz-se a colheita, espremendo-se a esponja (ou centrifugando) em peneiras, onde são retidos os juvenis infectantes. Atualmente, ao invés de vísceras de animais, utilizam-se meios à base de extrato de levedura, óleos vegetais e ração de cachorro (HUSSAINI et al., 2002). Essa mudança nos componentes de substrato vem tornando o processo mais acessível. Atualmente, o custo de produção de milhão de nematóides é menor que US\$ 0,01 (WOULTS, 1991).

A grande vantagem desse método em relação ao método *in vivo* é a maior produção de JIs em um mesmo espaço de tempo. O método de multiplicação de nematóides utilizando meio sólido, apesar de prático, é considerado laborioso, pois meio e esponja precisam ser autoclavados antes das inoculações. Além do mais, as esponjas não são biodegradáveis e descartar toneladas de esponja pode ser dispendioso e danoso ao ambiente. Ainda são necessários ajustes e melhorias nos processos de mistura do meio com o suporte, na inoculação da bactéria e dos JIs e na colheita dos JIs (FRIEDMAN, 1990). Visando o aumento na produção e o não uso de suporte, surgiu a produção de NEPs *in vitro* em meio líquido, utilizando fermentadores do tipo tanque de 3 a 10.000 L, com produções de 90×10^3 JIs/mL. FRIEDMAN (1990) relata concentrações superiores a 95×10^3 JIs/mL em fermentadores *air lift*.

2.3.4 - Formulação dos Neps

Diferentes tipos de formulações têm sido testados para diferentes espécies de nematóides entomopatogênicos com o objetivo de amenizar os fatores abióticos que atingem os JIs. Essas formulações permitem maior persistência. Formulações variam desde esponjas a grânulos solúveis em água. O tipo de formulação depende

da forma como os nematóides são produzidos, da disponibilidade do material, tipo de nematóide e do financiamento disponível (GEORGIS, 1990).

Atualmente existem vários tipos de formulações para armazenagem dos NEPs no campo como: água, esponja, gel (agar), insetos cadáveres, vermiculita, alginato de cálcio, pó molhável, grânulos solúveis em água, dentre outros. Alguns nematóides possuem a característica peculiar de perder água paulatinamente sem perder a integridade, fenômeno chamado de anidrobiose. Os NEPs são capazes de entrar em anidrobiose parcial, chamada de anidrobiose quiescente (WOMERSELY, 1990). Essa característica foi explorada para gerar formulações com maior tempo de prateleira, como é o caso dos grânulos solúveis em água (GREWAL, 2002). Atualmente, as formulações comercialmente disponíveis podem ser subdivididas em formulações nas quais os nematóides permanecem ativos, com mobilidade reduzida, ou em anidrobiose parcial. Existem também as formulações nas quais os nematóides são levados ao campo em insetos cadáveres (DOLINSKI, 2006).

2.3.5 - Tipos de aplicação de NEPs

O desenvolvimento de métodos de aplicação é um dos desafios para ampliar a utilização destes microorganismos no controle de pragas. De uma maneira geral, NEPs podem ser aplicados por pulverização, através da irrigação e em cadáveres de insetos (GREWAL, 2002) são também compatíveis com vários tipos de inseticidas comerciais (GEORGIS, 1990). A eficácia da aplicação de um inseticida demanda o desenvolvimento de sistemas que integrem o tipo de formulação, o equipamento e o método de aspersão. Igualmente para se realizar uma aplicação correta, é necessário aplicar no momento oportuno, com uma cobertura máxima, uma dosagem correta e um tamanho de gota adequado.

O êxito de qualquer controle fitossanitário depende também da qualidade do produto e da precisão de sua aplicação, tendo sempre em conta a menor contaminação ambiental possível (VILLALBA, 2003). Quanto à aplicação, os JIs podem ser aplicados com equipamentos convencionais, com o objetivo principal de distribuir uniformemente o ingrediente ativo, no caso dos nematóides, que estejam próximos às pragas que atacam a cultura. Na prática é quase impossível obter uma

distribuição uniforme em quantidades pequenas de inoculo, o que obriga a recorrer a agentes ou meios de diluição. Para os nematóides, o diluente mais usado é a água. A gota constitui-se, portanto, no veículo ou meio de transporte para fazer chegar a substância ativa até o seu destino (VILLALBA, 2003). É importante também levar em conta que temperaturas do solo entre 12 e 28 °C são consideradas favoráveis para a aplicação de NEPs (KAYA, 1990). A micro aspersão do nematóide *Heterorhabditis* sp. linhagem T390 em nível da superfície do solo foi mais efetivo do que quando adicionando na irrigação por gotejamento. Estudos a campo têm mostrado a necessidade de se aplicar os NEPs com uma maior quantidade de água, para que os NEPs não sofram dessecação (CURRAN, 1992).

A adição de adjuvantes pode melhorar significativamente o desempenho de NEPs. SCHROER et al. (2005a) testaram uma série de adjuvantes com a finalidade de melhorar o desempenho de NEPs contra a traça-das-crucíferas. Os pesquisadores encontraram um incremento de duas vezes na mortalidade da traça-das-crucíferas com umidade ambiental de 80% em ensaios de laboratório pulverizando JIs com Xhantan 0,3%. A adição do surfactante Rimulgan à dosagem de 0,3% também incrementou a eficácia. A formulação surfactante polímero reduziu o tempo letal médio de 40 horas. a um período menor que 25 hrs., mas, em contraposição, esta formulação decresce a mobilidade de JIs (SCHROER 2005a). Alguns adjuvantes usados na aplicação de NEPs são Triton X100 (BDH, Merck Ltd., Dorset, UK), Glicerol, Croduvant, Crovol L27 e Crovol L40 (Croda Chemicals Ltd.), todos eles em uma dosagem de 2 até 4% (v/v) (MASON et al., 1999).

Atualmente JIs são aplicados em sistemas de irrigação adaptados à aplicação de produtos químicos. Estudos avaliando o controle de pragas foliares mediante aplicação foliar de NEPs têm demonstrado efetividade restrita a ambientes protegidos, sendo variável quando o ambiente é exposto. As telas e os filtros dos equipamentos de aspersão devem permitir que os nematóides passem através deles. *S. carpocapsae* (Weiser) pode passar através de telas tão finas como 100 micrômetros de diâmetro, mas telas com aberturas maiores são necessárias para espécies maiores como *S. glaseri* Steiner e *H. megidis* Poinar, Jackson & Klein. Portanto, retirar os filtros e as telas às vezes é recomendado, mas isto requer recalibração do equipamento (GREWAL, 1998). A maioria dos sistemas de aspersão

não promove pressão suficiente para causar dano aos nematóides. Em geral, os nematóides não devem ser submetidos a pressões superiores a 300 psi nos tanques dos equipamentos e a temperaturas superiores a 30 °C (GREWAL, 1998).

2.3.6 - Uso de nematóides Entomopatogênicos no Brasil e no Mundo

Existem vários exemplos de êxito em nível comercial no controle de insetos praga com NEPs em diferentes ordens: Diptera, Coleoptera, Lepidoptera, Orthoptera, Thysanoptera e Sifonaptera. Dentre as espécies de coleópteros controlados com sucesso figuram-se: *Otiorhynchus sulcatus*, *O. ovatus*, *O. ligusstici*, *Phylloperda horticola*, *Maladera matrida* e *Conotrachelus nenuphar*, *Diaprepes*, *Conotrachelus psidii*, dentre outros (EHLERS, 2001; DOLINSKI, 2006).

3. MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram conduzidos no Laboratório de Entomologia e Fitopatologia pertencente ao Centro de Ciências Técnicas Agropecuárias da UENF, Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro RJ, em Campos dos Goytacazes, RJ.

Manutenção

Para os ensaios foram usadas linhagens de NEPs que se encontram na coleção do Laboratório de Entomologia e Fitopatologia listadas na Tabela 1.

ESPÉCIE	LINHAGEM	ORIGEM
<i>Heterorhabditis baujardi</i>	LPP7	Rondônia
<i>H. indica</i>	LPP1	Rondônia
<i>H. bacteriophora</i>	HP88	Carolina do Norte, E.U.A
<i>Steinernema carpocapsae</i>	NCALL	Carolina do Norte, E.U.A
<i>Heterorhabditis</i> sp.	LPP9	Rondônia
<i>Heterorhabditis</i> sp.	LPP2	Rondônia
<i>Heterorhabditis</i> sp.	LPP14	Rondônia
<i>Heterorhabditis</i> sp.	LPP17	Rondônia

Tabela 1. Nematóides entomopatogênicos que foram testados.

Para a obtenção dos JIs, as linhagens foram multiplicadas em laboratório através da infecção de larvas no sétimo instar de *G. mellonella* (Lepidoptera :

Pyralidae) em placas de Petri (90 x 20 mm), com papel filtro na base (Whatman nº 1), adicionando-se um mL de água destilada com 100 JIs da linhagem a ser multiplicada (Figura 3).

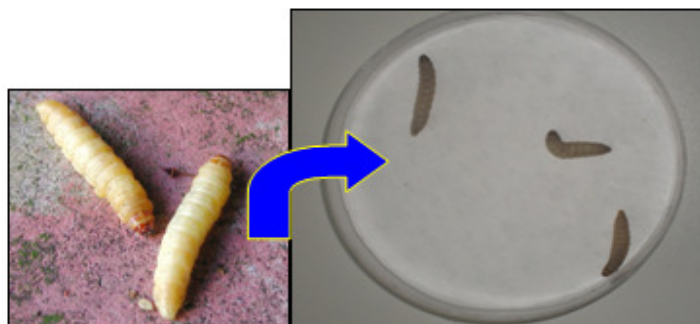


Figura 3. Larvas de *Galleria mellonella* em placa de Petri para infecção com nematóides entomopatogênicos.

As placas de Petri com as larvas foram acondicionadas em câmara climatizada a 25 °C e umidade relativa a 80%. Após cinco dias, os cadáveres de *G. mellonella* foram retirados e distribuídos individualmente em armadilhas de White modificadas (White, 1927). As armadilhas foram confeccionadas utilizando-se placas de Petri de dimensões 90 X 20 mm, contendo no seu interior um anel de PVC de dois cm de diâmetro por um cm de altura e uma tira de papel filtro de um cm de largura X cinco de comprimento, sobre o anel. Em seguida foram adicionados 15 mL de água destilada em cada placa e três cadáveres de *G. mellonella* (Figura 4).



Figura 4. Armadilha de White modificada com cadáveres de *Galleria mellonella* usada na captura de JIs infectantes.

As placas foram fechadas, identificadas por linhagem e levadas à câmara climatizada com temperatura de 25 °C e umidade relativa a 80%. Após 10 dias

contados a partir da infecção, os juvenis começaram a emergir do inseto cadáver. As armadilhas foram mantidas na câmara climatizada por até uma semana, após a emergência dos primeiros JIs. Os juvenis foram coletados com auxílio de pipetas de vidro Pasteur, e acondicionados em garrafas de cultura de células de 100 mL. Posteriormente foi adicionada mais água destilada em cada garrafa para totalizar 40 mL, e armazenada em câmara climatizada a 16 °C para posterior uso dos juvenis nos experimentos (Figura 5).



Figura 5. Garrafas de cultura de células de 100 mL com solução de juvenis infectantes.

Multiplicação e manutenção de *Ceratitis capitata*

Os primeiros indivíduos introduzidos no laboratório foram trazidos da unidade da EMBRAPA Mandioca e Fruticultura Tropical da Cidade de Cruz das Almas (BA).

As pupas recebidas foram mantidas em um recipiente de dimensões de 10 cm de diâmetro por 15 cm de altura contendo vermiculita previamente esterilizada em estufa a 100 °C, cuja função era servir de substrato. Os recipientes foram mantidos à temperatura ambiente (25 a 28 °C) até a emergência dos adultos. Estes foram então transportados até a gaiola de criação, com dieta artificial e um recipiente com água destilada em posição invertida, com um chumaço de algodão no gargalo, de modo que o algodão por capilaridade atuasse como fonte de água para os insetos. A gaiola de criação foi construída em formato trapezoidal forrada na base maior com tela sombrite, nas laterais e na base menor por madeira, no angulo

de inclinação do trapézio forrado com pano “voeil” e em uma das laterais com um orifício para manuseio da colônia (Figura 6).



Figura 6. Vista frontal e lateral da gaiola de criação de *C. capitata*

Na parte externa da gaiola foi colocada uma bandeja de alumínio contendo água destilada, onde foi recolhida a postura advinda dos adultos. A postura foi coletada e coada em peneira confeccionada com pano “voeil”, e posteriormente, imersos em solução de hipoclorito de sódio a 1 % por 30 segundos. Após esta etapa, os ovos foram novamente coados em “voeil”, lavados com água destilada corrente e distribuídos em recipientes de 10 cm de diâmetro por 15 cm de altura contendo dieta artificial para larvas. Os recipientes foram levados à câmara climatizada a 28 °C e após oito dias em média a dieta foi colocada em peneira de malha 100 mm e lavada em água corrente, até que na peneira restassem somente as larvas em estágio L3. As mesmas então foram depositadas em um recipiente contendo vermiculita, quando então um novo ciclo dava-se início.

3.1- EXPERIMENTO 1

AVALIAÇÃO DA VIRULÊNCIA DE OITO LINHAGENS DE NEMATÓIDES ENTOMOPATOGÊNICOS EM LARVAS DE *Ceratitis capitata*

O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado (DIC), tendo como tratamentos oito linhagens de NEPs, com dosagem utilizada de 100 Jls e 20 repetições para cada linhagem. Foram utilizados tubos de ensaio de três centímetros de diâmetro por oito de altura, contendo 32 gramas de areia previamente autoclavada por duas horas e seca em estufa a 100°C. A umidade da areia foi mantida em 20% com adição de água destilada. No interior dos tubos de ensaio foram adicionadas a suspensão de nematóides e dez larvas L3 (último estágio larval) da mosca-do-mediterrâneo. Em seguida, os tubos foram fechados na extremidade com filme plástico de PVC, onde foram feitas perfurações com auxílio de uma agulha para facilitar a aeração, sendo os tubos acondicionados em bandejas de isopor e armazenados em câmara climatizada sob temperatura de 28 °C e umidade relativa de 80%, onde permaneceram por um período de 10 dias, ou seja, até a emergência dos primeiros adultos (Figura 7). Um tratamento controle foi igual aos demais tratamentos, exceto pela ausência de adição de suspensão contendo nematóides. Para analisar os dados foi realizado estudo de análise de variância e as médias dos tratamentos foram contrastadas pelo teste de Tukey em 5% de significância com o uso do programa Genes. O experimento foi repetido para confirmação dos dados.

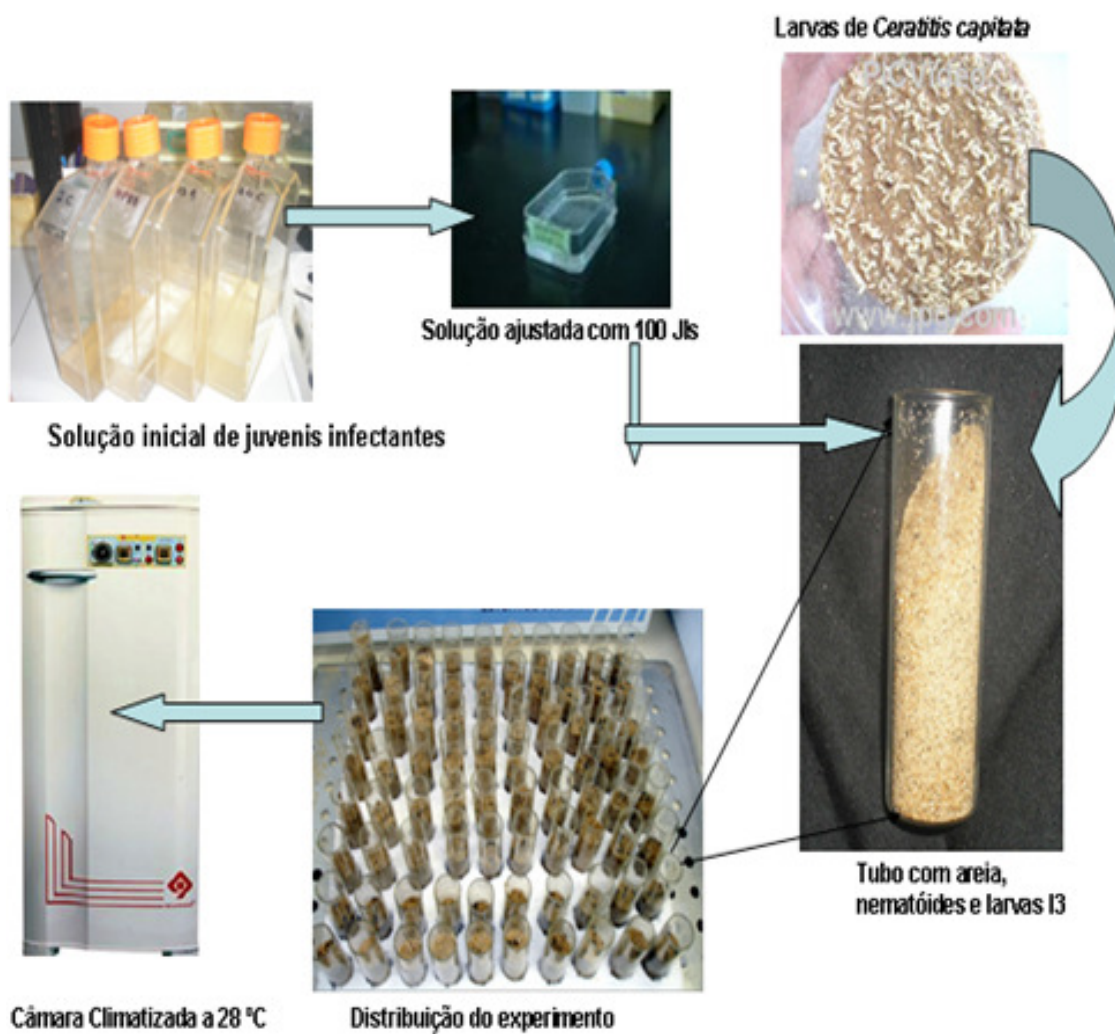


Figura 7. Detalhe da seqüência de etapas do Experimento I

3.2 - EXPERIMENTO 2

INFLUÊNCIA DA DOSAGEM DE JUVENIS INFECTANTES DE TRÊS LINHAGENS DE NEMATÓIDES ENTOMOPATOGÊNICOS NA MORTALIDADE DE LARVAS DA MOSCA-DO-MEDITERRÂNEO (*Ceratitis capitata*)

Foram utilizadas as linhagens *H. baujardi* LPP7, *Heterorhabditis* sp. LPP14 e LPP17 que mais se destacaram no porcentual de mortalidade no experimento 1, e larvas de *C. capitata* criadas no laboratório. Foram testados seis tratamentos, representados, pelas concentrações: 5, 25, 45, 65, 85, 105 JIs com 40 repetições cada. Os Eppendorfs esterilizados foram preenchidos com 1,5 gramas de areia, seca por 48 hrs. em estufa a 100 °C e umedecida a 20% com água destilada. Em cada Eppendorf foram colocados uma larva em estágio L3 de *C. capitata* e JIs. Estes foram contados e coletados com o auxílio de um capilar e transferidos para os tubos até a dosagem 45 JIs; para concentrações maiores foi usado o método volumétrico. Os Eppendorfs foram fechados e transferidos para câmara climatizada a 28 °C e 80% de umidade relativa, onde permaneceram por 10 dias, tempo suficiente para que as larvas se transformassem em pupas e posteriormente em adultos ou morressem por infecção dos JIs. Um controle foi montado seguindo o mesmo procedimento, porém sem a adição de JIs. Após o tempo em dias referido, foi avaliado o número de adultos emergidos nos tratamentos e na testemunha (Figura 8). O experimento foi montado em delineamento inteiramente casualizado (DIC) e repetido logo após o primeiro e as mortalidades nos diferentes tratamentos para cada espécie foram avaliadas por análise de regressão, com o programa Saeg.

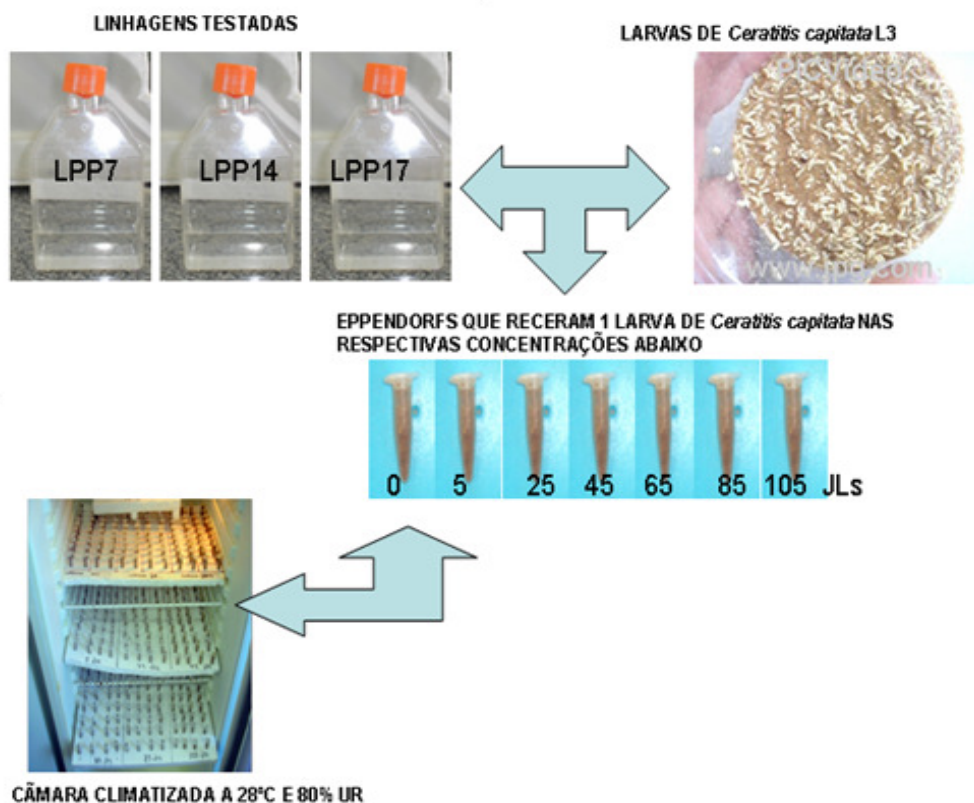


Figura 8. Detalhe da sequência de etapas do Experimento II.

3.3 - EXPERIMENTO 3

INFLUÊNCIA DO TEMPO DE EXPOSIÇÃO DE TRÊS LINHAGENS DE NEMATÓIDES ENTOMOPATOGÊNICOS EM LARVAS DE *Ceratitis capitata*

Foram utilizadas as linhagens *H.baujardi* LPP7, H.LPP14 e H.LPP17 responsáveis pela menor emergência de adultos no Experimento 1 e a dosagem 70 J/Ls, que se mostrou capaz de matar 90% dos indivíduos no Experimento 2 e larvas de *C. capitata* criadas no laboratório. O experimento foi montado em delineamento inteiramente casualizado (DIC) com seis tratamentos representados pelos tempos de exposição das larvas de *C. capitata* a J/Ls (2, 8, 16, 20, 24 e 30 hrs.), com 20 repetições cada. Três larvas em estágio L3 foram selecionadas e depositadas em cada tubo tipo Eppendorf, que anteriormente havia sido preenchido com três gramas

de areia previamente autoclavada por duas hrs. seca em estufa por 24 hrs. a 100 °C e umedecida a 20% com água destilada.

Soluções de NEPs de cada uma das três linhagens foram formuladas de maneira a conter 70 JIs em quantidade suficiente de água para que o solo não ultrapassasse os 20% de umidade. Os tubos foram lacrados e então levados à câmara climatizada a 28 °C e UR 80%. Após cada tempo de exposição, as larvas foram transferidas para ponteiras azuis de micropipeta, esterilizadas e identificadas. Os tratamentos permaneceram em câmara climatizada até que se constatasse a emergência de adultos. Uma testemunha foi montada seguindo os mesmos procedimentos, porém sem adição de JIs (Figura 9). O experimento foi repetido logo após o primeiro e as médias das mortalidades nos diferentes tratamentos para cada espécie foram avaliadas com o programa Genes.

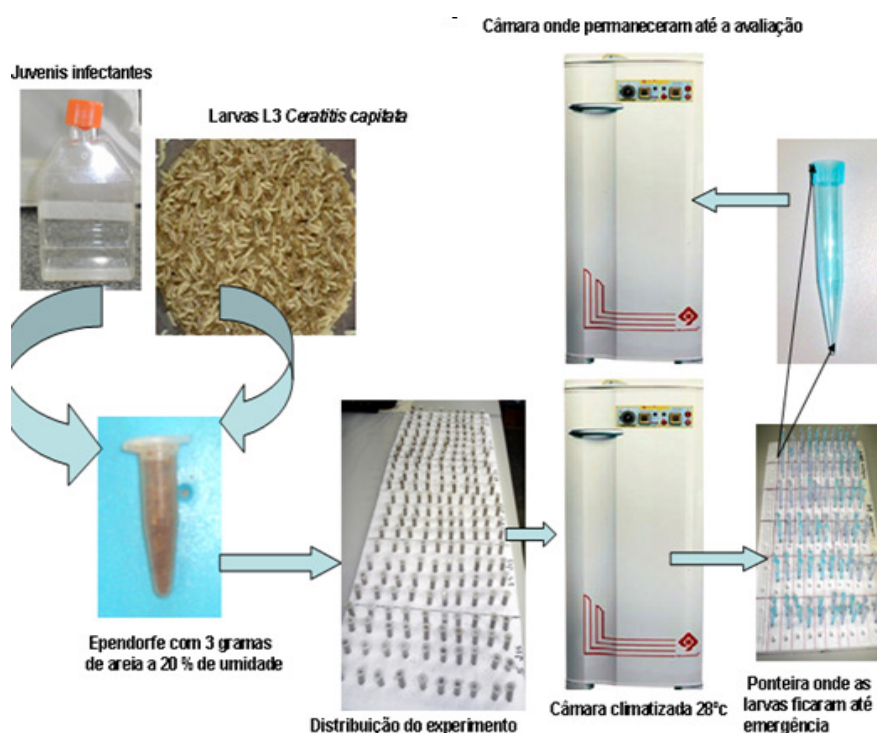


Figura 9. Detalhe da sequência de etapas do Experimento III.

3.4 - EXPERIMENTO 4

AValiação da mortalidade de pupas de mosca-do-Mediterrâneo (*Ceratitis capitata*) utilizando diferentes doses de *Heterorhabditis baujardi* LPP7

O experimento foi montado em delineamento inteiramente casualizado (DIC) testando uma linhagem de NEPs linhagem (*H. baujardi* LPP7) e nove concentrações de JIs (5, 30, 55, 80, 105, 130, 155, 180, 205) com 40 repetições cada. No estabelecimento do experimento foram utilizadas ponteiras azuis de micropipeta, esterilizadas, preenchidas até a metade com um grama de areia previamente autoclavada por 2 hrs., seca por 48 hrs. em estufa a 100 °C e umedecida a 20 % com água destilada. Com o auxílio de um capilar foram obtidos os cinco JIs e para as demais concentrações foram feitas suspensões de JIs ajustadas pelo método volumétrico. Nas suas respectivas concentrações foram adicionadas individualmente a cada ponteira, Juntamente com uma pupa. Foram fechadas com plástico PVC e distribuídas sobre uma base feita de isopor (20 mm), quando então foram acondicionadas em câmara climatizada a 28 °C e a 80% de umidade relativa, onde permaneceram até que se observasse a emergência dos adultos. Um controle foi montado igual aos demais tratamentos, porém sem adição de nematóides (Figura 10). Foi feita a análise de variância e comparação das mortalidades médias, com base nos resultados dos tratamentos. Para as diferentes concentrações foi testado o ajuste por equações de regressão com o programa Saeg. O experimento foi repetido para confirmação dos dados.

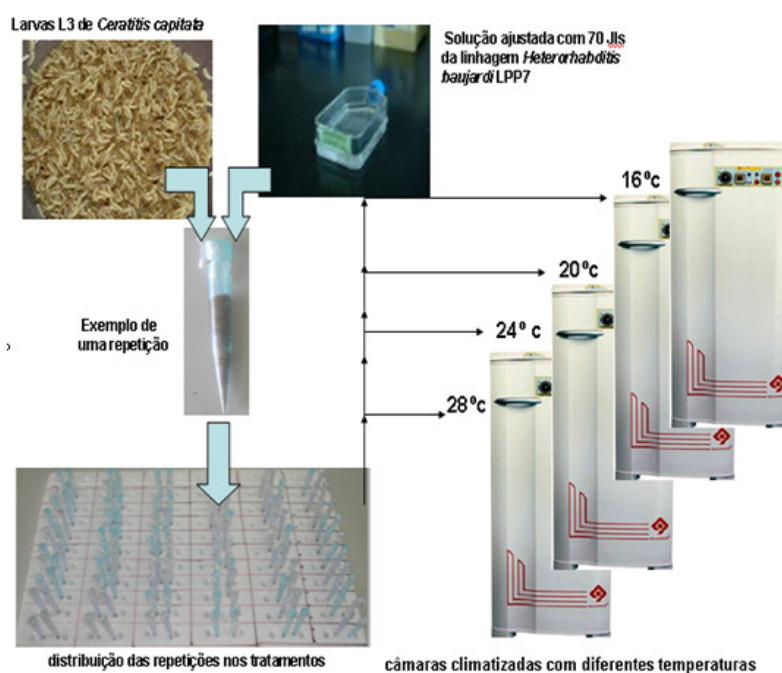


Figura 10. Detalhe da sequência de etapas do Experimento IV.

3.5 - EXPERIMENTO 5

INFLUÊNCIA DA TEMPERATURA NA MORTALIDADE DE LARVAS DE MOSCA-DO-MEDITERRÂNEO, *Ceratitis capitata* DE *Heterorhabditis baujardi* LPP7

Foi utilizada a linhagem *Heterorhabditis baujardi* LPP7 e larvas de *C. capitata* criadas no laboratório como descrito anteriormente. O experimento foi montado em delineamento inteiramente casualizado (DIC), sendo constituído por quatro tratamentos (16, 20, 24, 28 °C) com 20 repetições cada. Foram utilizadas ponteiras azuis de micropipeta preenchidas com 1,5 g de areia previamente autoclavada por 2 hrs., seca em estufa a 100 °C por 48 hrs. e umedecida a 20%. Foi adicionado a cada ponteira uma suspensão contendo 70 JIs, por ser esta a que proporcionou 90% de mortalidade no Experimento 2. Após a adição dos nematóides, uma larva no terceiro

estágio de *C. capitata* foi depositada em cada ponteira, sendo estas fechadas com filme plástico PVC e feito um pequeno furo no plástico para facilitar a entrada de ar. As ponteiras foram distribuídas em uma base de isopor (3 cm de altura), e posteriormente levadas a câmaras climatizadas ajustadas às temperaturas acima descritas, e umidade relativa a 80 %.

Os tratamentos permaneceram em suas respectivas temperaturas e umidade constantes até que se observou a emergência de adultos. Um controle foi montado idêntico aos outros tratamentos, mas sem adição dos JIs (Figura 11). Foi feita a análise de variância e as médias dos tratamentos analisados pelo ajuste de equação de regressão com o programa Genes. O experimento foi repetido para confirmação dos dados.

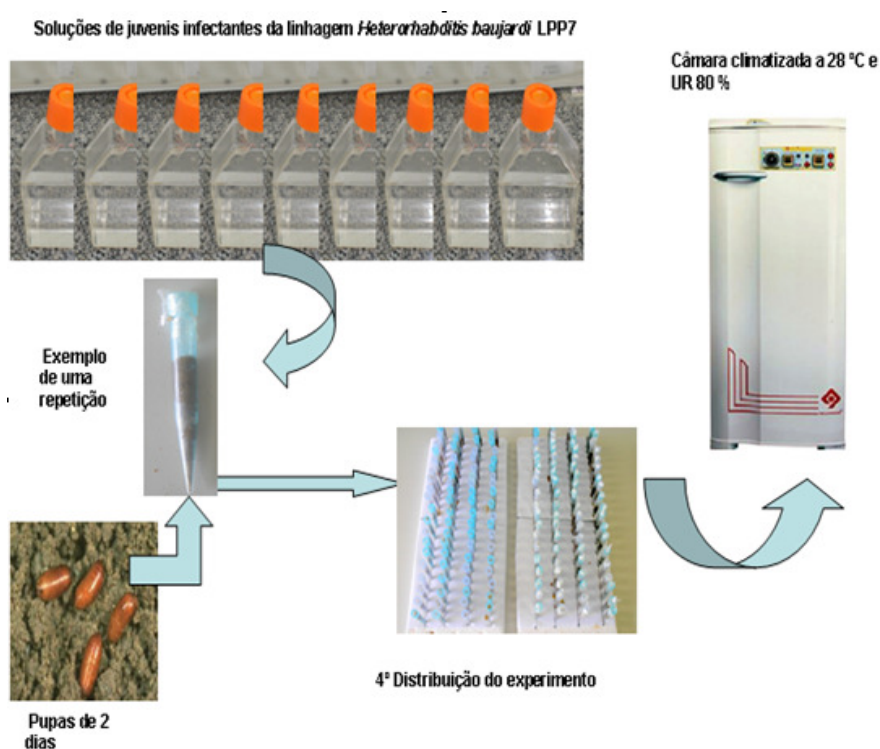


Figura 11. Detalhe da sequência de etapas do Experimento V.

3.6 - EXPERIMENTO 6

INFLUÊNCIA DA TEMPERATURA NA INFECÇÃO DE *Heterorhabditis baujardi* LPP7 EM PUPAS DE MOSCA-DO-MEDITERRÂNEO, *Ceratitis capitata*

Foi utilizada a linhagem utilizada no teste anterior, e ainda pupas de *C. capitata* advindas de larvas criadas no laboratório, como descrito anteriormente. O experimento foi montado com 4 tratamentos (16, 20, 24 e 28 °C) e 40 repetições cada. Foram utilizadas ponteiras azuis de micropipeta, preenchidas com 1,5 g de areia previamente autoclavada por duas hrs., seca em estufa a 100 °C por 48 hrs. e umedecida com água destilada a 20%. As ponteiras foram distribuídas em fileiras de 20 sobre folha de isopor (2 cm de altura), uma pupa de *C. capitata* foi adicionada manualmente a cada uma das ponteiras, assim como uma suspensão contendo 200 JIs, que foi definida com base nos resultados do Experimento 4. As ponteiras foram então lacradas com plástico PVC que foi perfurado, com auxílio de um alfinete para facilitar a aeração.

Os tratamentos foram levados às câmaras climatizadas de acordo com as temperaturas referentes a cada tratamento, até a emergência de adultos. Um controle foi montado seguindo os mesmos procedimentos, porém sem a adição do JIs (Figura 12). Foi feito a análise de variância e para os diferentes tratamentos foi feito o ajuste de equações de regressão com programa Genes. O experimento foi repetido para confirmação dos dados.

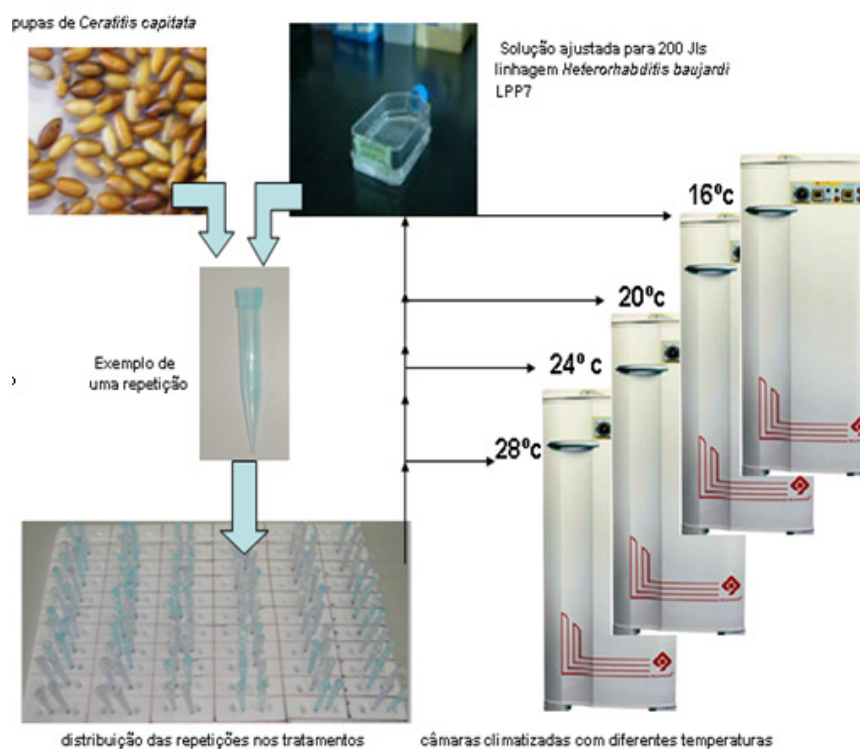


Figura 12. Detalhe da sequência de etapas do Experimento VI.

3.7 - EXPERIMENTO 7

AVALIAÇÃO DA MORTALIDADE DA MOSCA-DO-MEDITERRÂNEO (*Ceratitidis capitata*) UTILIZANDO NEMATÓIDES ENTOMOPATOGÊNICOS EM NÍVEL DE CAMPO.

Para o estabelecimento do experimento foi utilizada a linhagem. *H. baujardi* LPP7, e larvas de *C. capitata* em estágio L3. O experimento foi montado seguindo delineamento inteiramente casualizado (DIC), com dois tratamentos (com e sem nematóide) e sete repetições cada. Foram confeccionadas quatorze gaiolas utilizando-se sombrite e bambu (2 x 2 x 2 m), as quais foram distribuídas em uma plantação comercial de goiabas no município de Cachoeira de Macacu RJ, que foi escolhido por não haver incidência de *C. capitata*.

A área no interior das gaiolas foi limpa com o auxílio de enxadas de modo que o solo ficasse isento de ervas daninhas, visando diminuir os obstáculos a serem

enfrentados pelos JIs no processo de migração. Foram distribuídas com o auxílio de um pincel nº 12, 100 larvas de *C. capitata*, de maneira aleatória no solo do interior de cada uma das gaiolas.

Sete suspensões contendo 100.000 JIs em 500 mL de água da linhagem *H. baujardi* LPP7 foram preparadas e armazenadas em garrafas plásticas, com capacidade para um litro de água, e posteriormente levadas para o local do experimento (2,5 JIs/cm²). Com o auxílio de um pulverizador manual cada suspensão foi distribuída uniformemente no solo das 7 gaiolas representando o tratamento com nematóides. No tratamento sem nematóides. As gaiolas testemunhas receberam apenas água sem nematóides. No interior das gaiolas foram distribuídas uma armadilha do tipo McPhail, que usa como atraente alimentar o hidrolisado de proteína (Figura 13). A eficiência do controle das larvas por nematóides foi avaliada comparando-se a emergência de *C. capitata* capturadas nas armadilhas nos dois tratamentos, e subtraindo-se do número total da população inicial de larvas L3 introduzidas em cada gaiola. Foi realizada análise de variância, e as médias das mortalidades dos tratamentos, foram comparadas pelo teste Tukey em 5% de significância com a utilização do programa estatístico Genes.

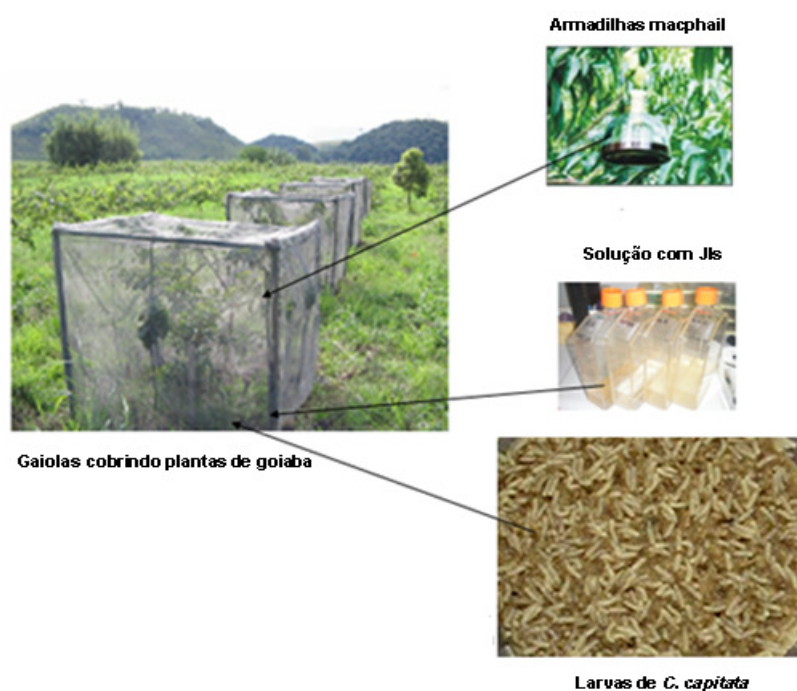


Figura 13. Detalhe da sequência de etapas do Experimento VII.

4- RESULTADOS

4.1 - RESULTADO EXPERIMENTO 1

Diferenças significativas na mortalidade das larvas de *C. capitata* foram encontradas entre as linhagens testadas e a testemunha ($F=102,45$; $gl=8$; $P=0$) (Figura 14). Todas as oito linhagens foram virulentas e causaram mortalidade entre 75 % e 98,5 %. Com sintomas característicos (Figura 16) Quando o teste foi repetido, a tendência se manteve com as mortalidades novamente significativamente diferentes entre si e diferentes da testemunha ($F=105,44$, $gl=8$, $P=0$). A mortalidade na repetição variou de 74 % a 98 % (Figura 15).

As linhagens *H. baujardi* LPP7, *Heterorhabditis* sp. LPP 14 e LPP17 alcançaram os maiores valores absolutos de mortalidade. Essas linhagens são procedentes da Floresta Amazônica em Monte Negro, RO, e vêm se mostrando excelentes controladores (Figura 14).

Etapa 1

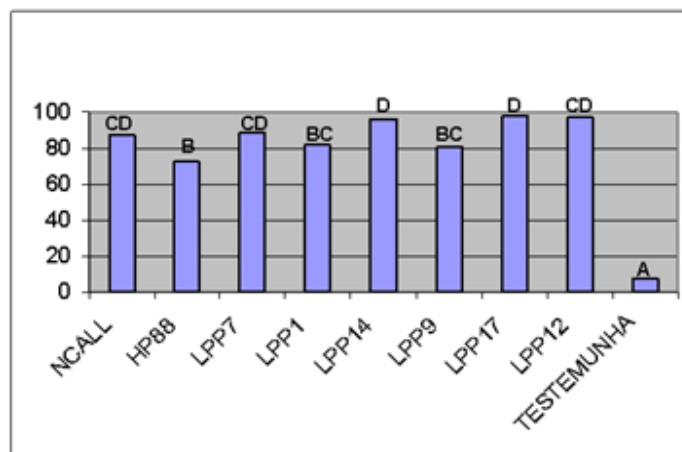


Figura 14. Mortalidade em porcentagem de larvas de *Ceratitis capitata* expostas a diferentes linhagens de nematóides entomopatogênicos. Médias seguidas pela mesma letra não são diferentes em 5 % de significância pelo teste Tukey.

Etapa 2

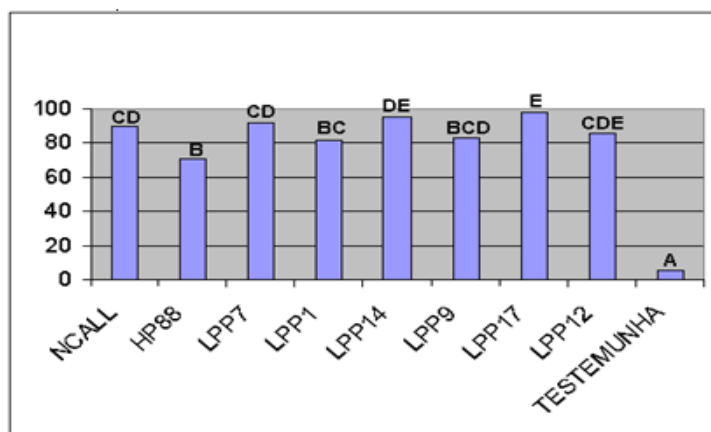


Figura 15. Porcentagem de mortalidade de larvas de *Ceratitis capitata* expostas a diferentes linhagens de nematóides entomopatogênicos (figura 16). Médias seguidas pela mesma letra não são diferentes em 5 % de significância pelo teste Tukey.

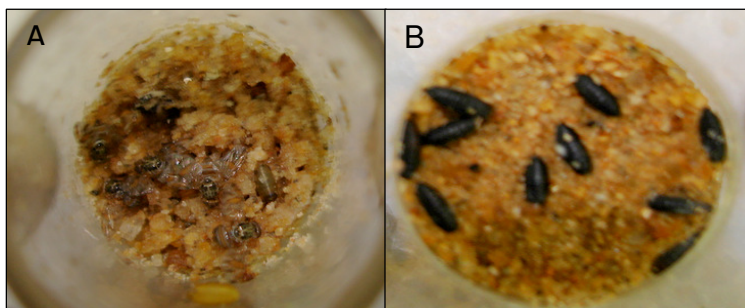


Figura 16. *Ceratitis capitata*, recém-emergidas em repetição da testemunha sem nematóides, B Pupas mortas pelos nematóides entomopatogênicos, *Heterorhabditis baujardi* LPP7.

4.2 – RESULTADO DO EXPERIMENTO 2

As linhagens *H. baujardi* LPP7, *Heterorhabditis* sp. LPP14 e LPP17 se mostraram eficientes em todas as doses testadas com relação ao percentual de mortalidade de larvas de *C. capitata*. A análise de regressão, para as três linhagens em ambos os ensaios, mostrou uma relação diretamente proporcional entre as maiores dosagens de JIs e o aumento das mortalidades médias em todas as linhagens bem como nas duas etapas do experimento (Figuras 17, 18, 19, 20, 21, 22,).

Etapas 1 e 2

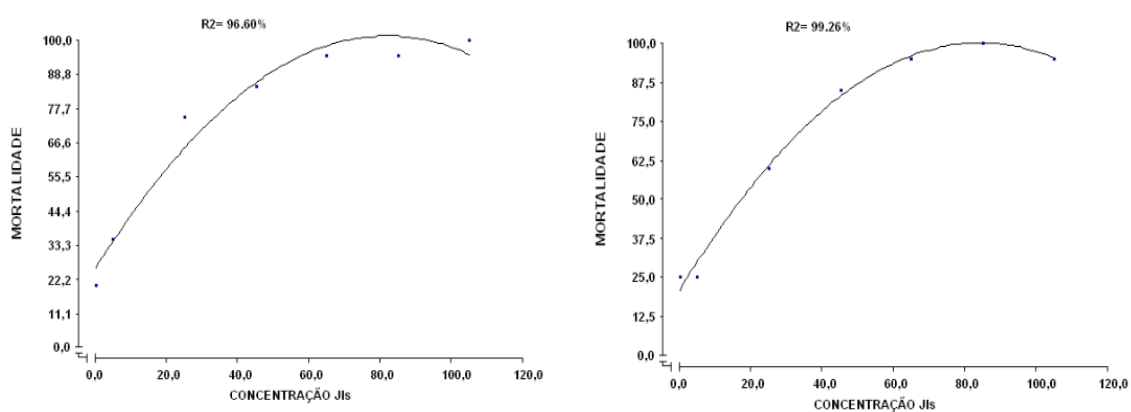


Figura 17, 18. Gráfico mostrando análise de regressão avaliando a mortalidade em função da concentração utilizando JIs de LPP7.

Etapas 1 e 2

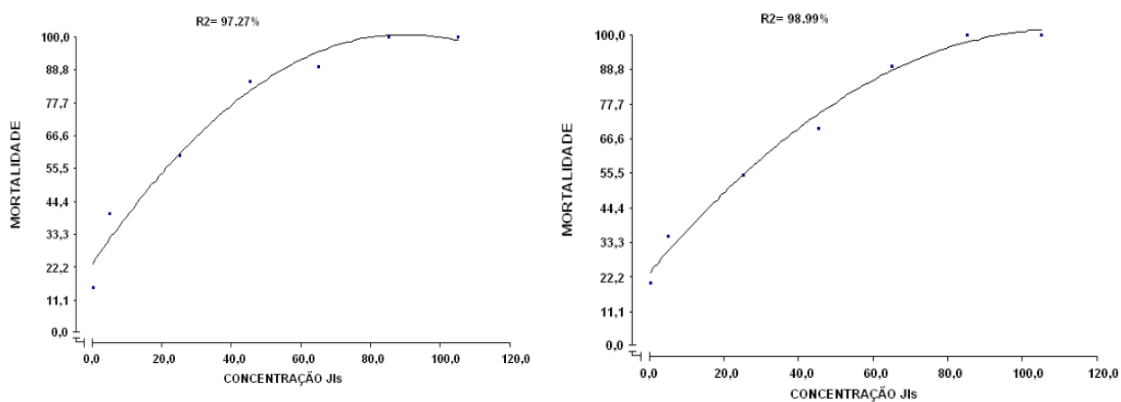


Figura 19, 20. Gráfico mostrando análise de regressão avaliando a mortalidade em função da concentração utilizando JIs de LPP14.

Etapas 1 e 2

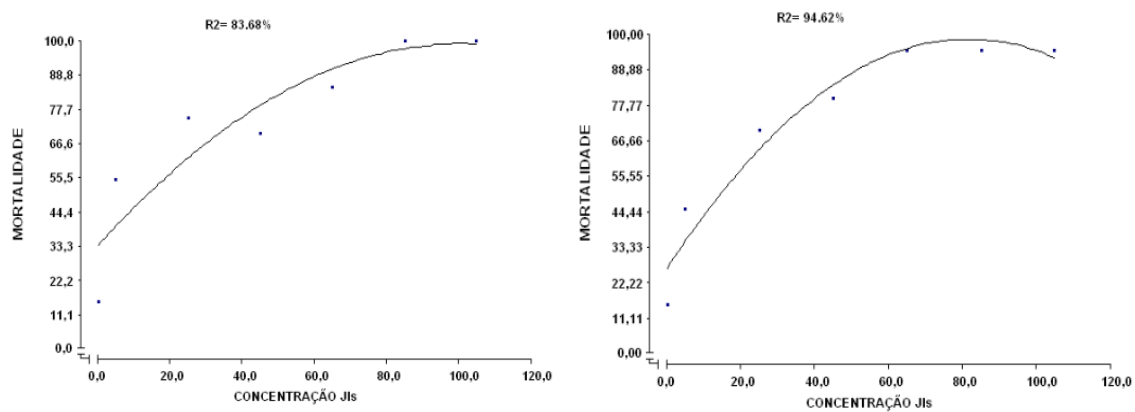


Figura 21, 22. Gráfico mostrando análise de regressão avaliando a mortalidade em função da concentração de utilizando JIs de LPP17.

4.3 – RESULTADO DO EXPERIMENTO 3

Diferenças significativas na mortalidade das larvas de *C. capitata* foram encontradas entre as linhagens testadas e a testemunha ($F=38,45$; $gl=2$; $P=0$), entre os tempos de exposição ($F=10,14$; $gl=4$; $P=0$) e entre a interação linhagens e tempos de exposição ($F=4,45$; $gl=19$; $P=0$). Todas as três linhagens foram virulentas e causaram mortalidade entre 36,7 % com 2 horas de exposição e 91,7 % com 30 horas.

Quando o teste foi repetido, a tendência se manteve, com as mortalidades sendo significativas entre linhagens e testemunha ($F= 50,08$; $gl=2$; $P=0$), para os tempos de exposição ($F=10,93$; $gl=4$; $P=0$) e para a interação linhagens com tempo de exposição ($F=3,14$; $gl=19$; $P=0$). A mortalidade na repetição variou de 41,6 % a 93,3 %. As linhagens *H. baujardi* LPP7, *Heterorhabditis* sp. LPP14 e LPP17 não diferiram entre si.

Tratamentos/Tempo de exposição*	2 horas		8 horas		16 horas		24 horas		30 horas	
	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2
<i>H. baujardi</i> LPP7	46,7	48,3	63,3	60,0	71,7	80,0	88,3	86,7	91,7	93,3
	Ca	Ca	BCa	BCa	ABa	ABa	Aa	Aa	Aa	Aa
<i>Heterorhabditis</i> sp. LPP17	38,3	41,7	56,7	63,3	53,3	58,3	86,7	80,0	86,7	85,0
	Ba	Ca	Ba	BCa	Ba	BCa	Aa	ABa	Aa	Aa
<i>Heterorhabditis</i> sp. LPP14	36,7	41,7	56,7	51,7	70,0	75,0	81,7	85,0	90,0	86,6
	Ca	Ba	BCa	Ba	ABa	Aa	Aa	Aa	Aa	Aa
Testemunha	13,3	10,0	10,0	11,7	13,3	11,7	15,0	16,7	18,3	18,3
	Ab	Ab	Ab	Ab	Ab	Ab	Ab	Ab	Ab	Ab

Tabela 2. Mortalidade de larvas de *Ceratitis capitata* em após infecção de diferentes linhagens com diferentes tempos de exposição em duas etapas. *Médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas na mesma linha e minúsculas na mesma coluna, não diferem pelo teste Tukey em 5%.

4.4- RESULTADO DO EXPERIMENTO 4

Diferentes doses de *H. baujardi* LPP7 contra pupas de *C. capitata*, proporcionou mortalidade entre 60 % na menor dose e 92,5 % quando 180 e 205 JIs foram aplicados. A mortalidade foi diretamente proporcional a dosagem, e as curvas de regressão obtidas com os coeficientes de determinação bastante elevados evidenciam esta afirmação.

Quando o experimento foi repetido, a tendência se manteve reafirmando o potencial de *H. baujardi* LPP7 como bastante promissora, causando 60,0 % de mortalidade com 55 JIs e máxima mortalidade de 95 % com 205 JIs. (Figuras 23, 24), (Etapas 1 e 2).

Etapas 1 e 2

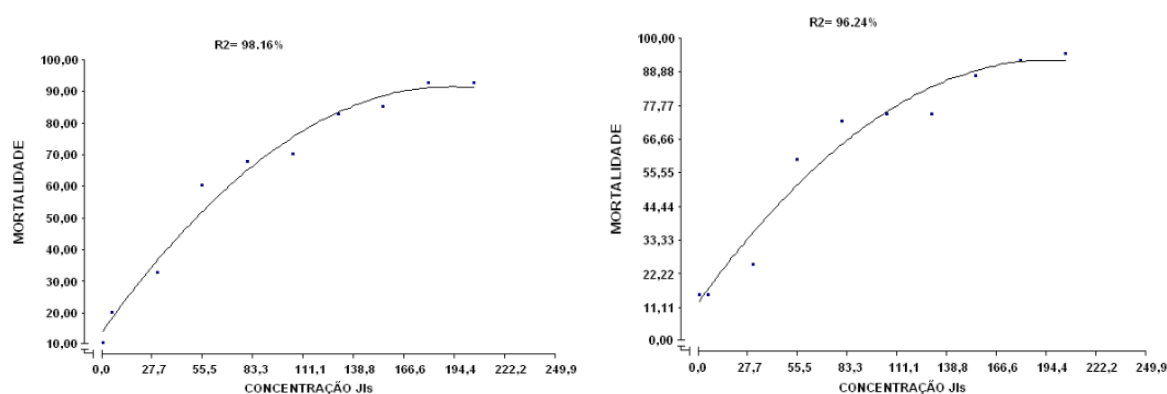


Figura 23, 24. Gráfico mostrando análise de regressão avaliando a mortalidade em função da concentração de JIs de LPP7.

4.5 – RESULTADO DO EXPERIMENTO 5

H. baujardi LPP7 se comportou diferentemente de acordo com a temperatura aplicada. Quanto maior a temperatura aplicada, maior foi a mortalidade. Pelo teste X^2 todos os tratamentos apresentam diferenças quando comparados com as suas respectivas testemunhas, nas duas etapas. Figuras (25, 26, 27e 28)

Etapa 1

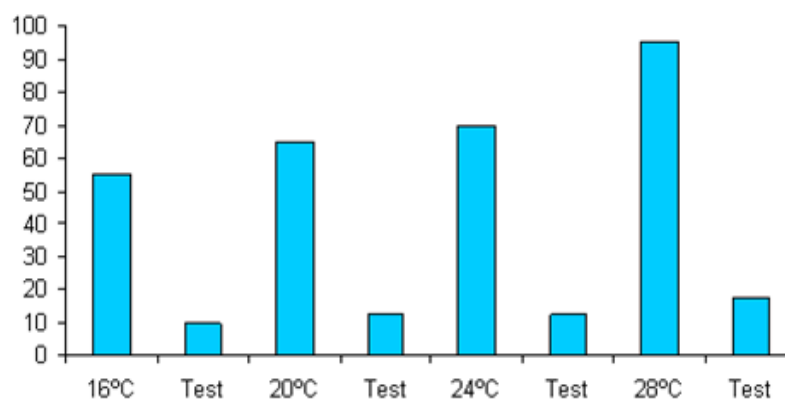


Figura 25. Evolução da mortalidade nas diferentes temperaturas

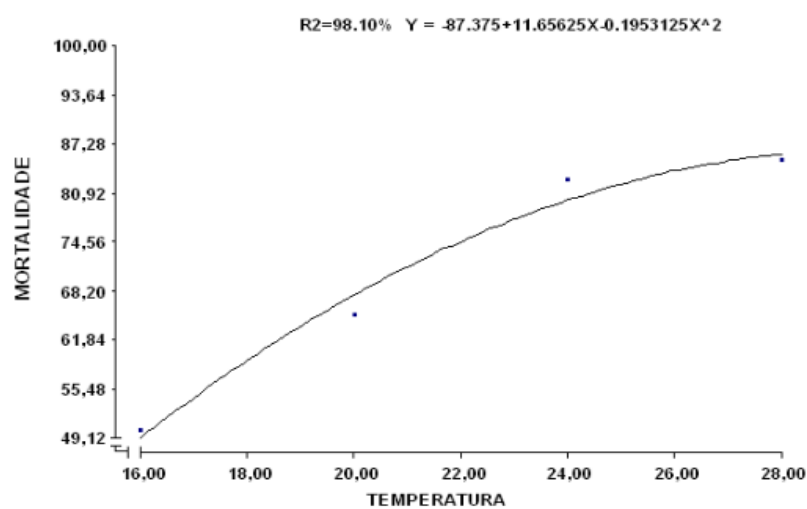
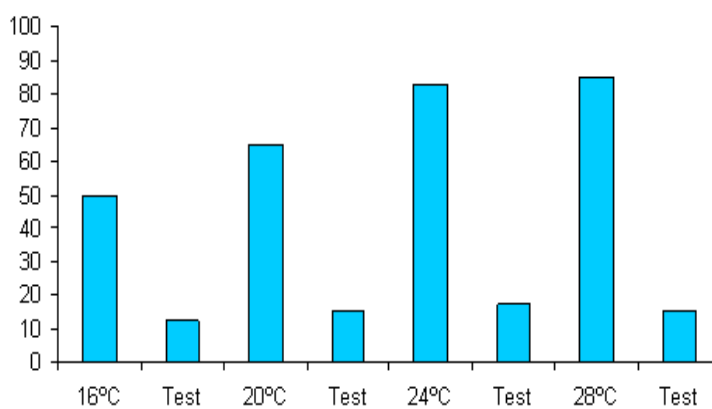
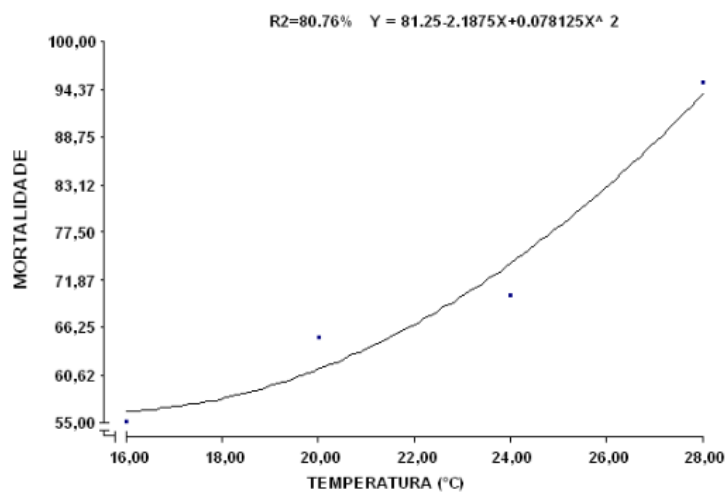


Figura 26. Curva de regressão para mortalidade nas diferentes temperaturas

Etapa 2**Figura 27.** Evolução da mortalidade nas diferentes temperaturas**Etapa 2****Figura 28.** Curva de regressão para mortalidade nas diferentes temperaturas

4.6 – RESULTADO DO EXPERIMENTO 6

No teste com pupas, usando *H. baujardi* LPP7 em diferentes temperaturas foi observado que todos os tratamentos apresentam diferenças significativas na mortalidade quando comparado com as suas respectivas testemunhas nas duas etapas. Quando a análise de regressão foi realizada, observou-se que com o aumento da temperatura ocorreu uma maior mortalidade de pupas. Os coeficientes de determinação com valores elevados demonstram a confiabilidade do experimento, e explica qual a relação entre as duas variáveis. Figuras (29, 30, 31,32)

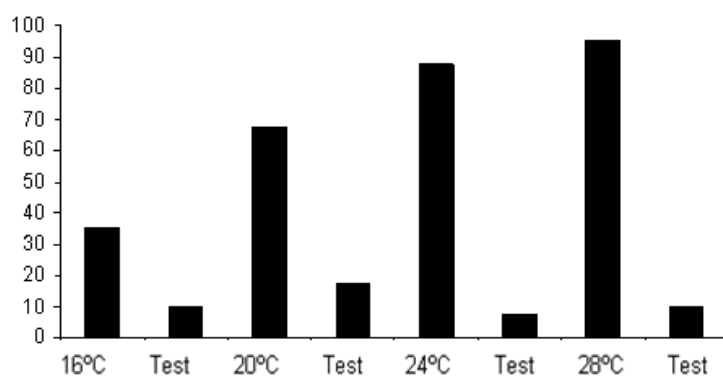


Figura 29. Etapa 1 mostrando a evolução da mortalidade entre os tratamentos e as testemunhas.

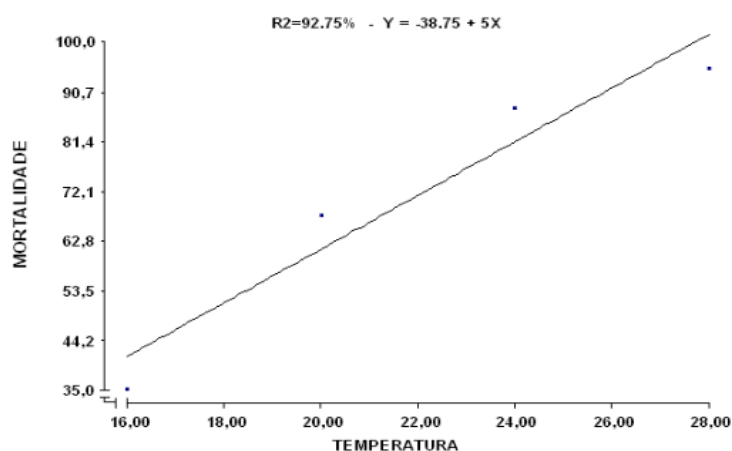


Figura 30. Etapa 1 mostrando a regressão para mortalidade nas diferentes temperaturas.

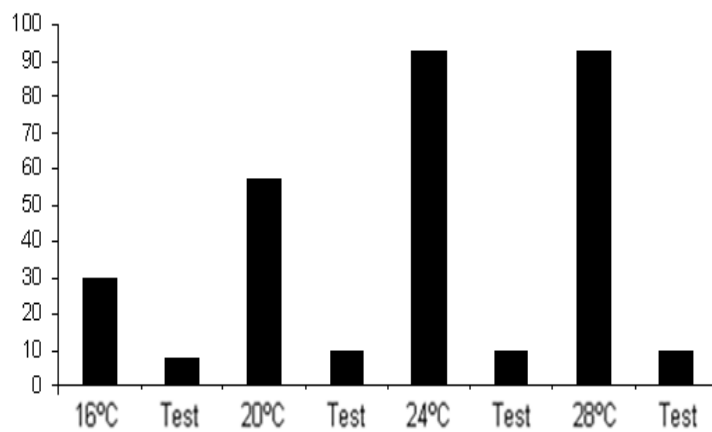


Figura 31. Etapa 2 mostrando a evolução da mortalidade entre os tratamentos e as testemunhas.

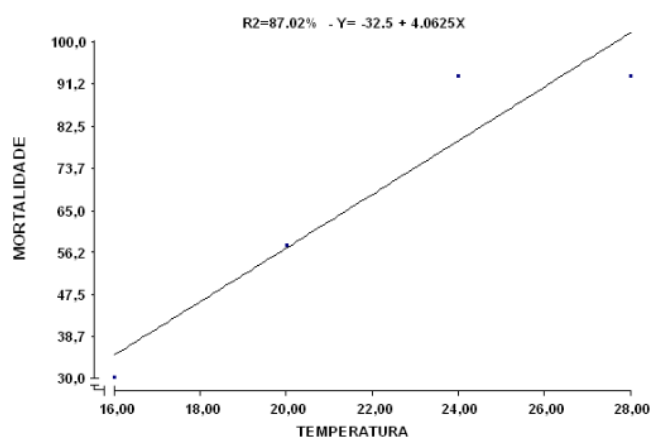


Figura 32. Etapa 2 mostrando a avaliação da regressão para mortalidade nas diferentes temperaturas.

4.7 – RESULTADO DO EXPERIMENTO 7

Foi observado nesse experimento resultado bastante expressivo quando se avaliou a emergência de adultos capturados nas armadilhas, sendo a emergência nas gaiolas tratadas significativamente diferente em relação à testemunha (30,43 % e 87,43 %, respectivamente) com ($F=1492,51$; $gl=1$; $P=0,00$), quando o experimento foi repetido houve uma emergência também acentuada com intervalos de (7,71 % e 58,57%, respectivamente) com ($F=241,86$, $GL=1$; $P=0,00$) os coeficientes de correlação encontrados $R^2 = 0,99$ na primeira etapa e $R^2=0,95$ na segunda etapa demonstra que existe uma relação altíssima entre a aplicação de juvenis infectantes de nematóides entomopatogênicos no solo e a emergência de adultos de *C.capitata*

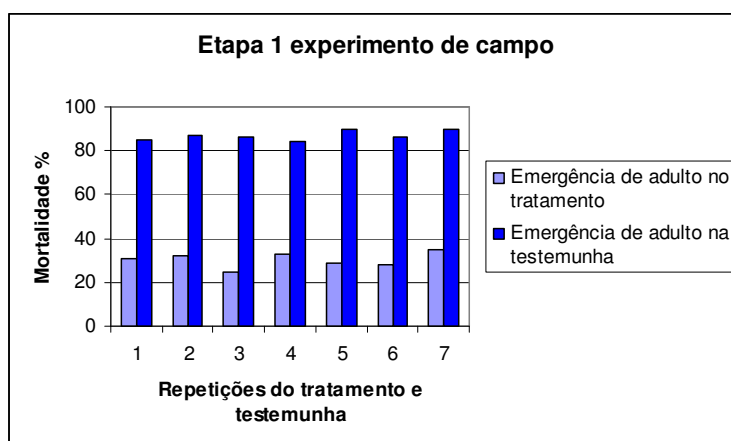


Figura 33. Etapa 1 do experimento de campo.

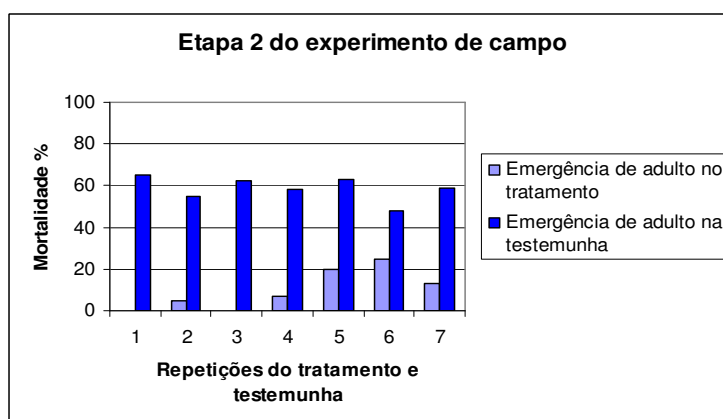


Figura 34. Etapa 2 do experimento de campo.

Tabela 3 etapa 1

Variável	N	R ²	R ² ajust
Coluna2	14	0,99	0,99

Quadro de Análise de Variância

F.V.	SC	gl	CM	F	p
Modelo	11371,50	1	11371,50	1492,51	0,00
Coluna1	11371,50	1	11371,50	1492,51	0,00
Error	91,43	12	7,62		
Total	11462,93	13			

Test: Tukey Alfa: 0,05 DMS: 3,2154

Todas as medias	Medias	n	
1,00	30,43	7	A
2,00	87,43	7	B

Letras distintas indicam diferenças significativas (p<=0,05)**Tabela 4 etapa 2****Análise de Variância**

Variável	N	R ²	R ² ajust
Columna3	14	0,95	0,95

Quadro de Análise de Variância

F.V.	SC	gl	CM	F	p
Modelo	9052,57	1	9052,57	241,86	0,00
Coluna1	9052,57	1	9052,57	241,86	0,00
Error	449,14	12	37,43		
Total	9501,71	13			

Test : Tukey Alfa: 0,05 DMS: 7,1266

Todas as medias	Medias	n	
1,00	7,71	7	A
2,00	58,57	7	B

Letras distintas indicam diferenças significativas (p<=0,05)

5. DISCUSSÃO

O presente trabalho comprovou que existe virulência dos NEPs às fases de solo (larvas e pupas) de *C. capitata*. Os resultados do primeiro experimento mostram que as oito linhagens utilizadas são virulentas, contudo as linhagens *H. baujardi* LPP7, *Heterorhabditis* sp. LPP9 e LPP14 se mostraram mais eficientes por proporcionarem valores de mortalidade mais destacados em relação às outras. Os altos índices de mortalidades encontrados em todas as linhagens aqui testadas dão indicativo que essas linhagens podem ser mais estudadas e testadas em outras pragas agrícolas.

Alguns trabalhos realizados têm demonstrado o potencial dos NEPs como excelentes agentes de controle de moscas-das-frutas. LEZAMA (1996) utilizando 4000 JIs/cm² de *Heterorhabditis* sp. por larva de *Anastrepha ludens* encontrou uma mortalidade de 82 %. GAZIT et al. (1994) afirmaram em seu trabalho que usando *S. riobrave* Texas contra larvas L3 de *C. capitata* na dosagem 2000 JIs/cm² alcançaram a mortalidade de 90 %. TAYLOR et al. (1998) utilizando *S. carpocapsae* obtiveram 50% de mortalidade utilizando 58 JIs por larva de *C. capitata*. LINDEGREN & VAIL (1986) avaliaram e encontraram uma mortalidade de 50% utilizando 560 JIs por larva de *C. capitata*. Contudo, as linhagens aqui apresentadas se mostraram bem mais eficientes, uma vez que no primeiro experimento utilizando somente 100 JIs para 10 larvas de *C. capitata* (em média 10 JIs por larva) foram obtidas mortalidades próximas a 100%.

A dosagem de juvenis é de extrema importância, pois quanto maior o número de JIs, maiores serão as chances do hospedeiro ser infectado. BURGUES & THOMPSON (1971) em seus experimentos avaliaram que existe uma relação muito forte entre a dosagem de JIs e a mortalidade do hospedeiro. Nesse trabalho, as dosagens mais eficientes foram, respectivamente, acima de 45 JIs para larvas e 55 JIs para pupas. A análise de regressão mostra que esse aumento não é infinito, pois acima de 85 JIs e 180 JIs para larvas e pupas, respectivamente, a mortalidade se torna constante. Isso provavelmente se deu devido à competição intra-específica para penetrar no cadáver.

Sabe-se que o tempo de exposição dos hospedeiros a JIs tem influência no percentual de mortalidade e isto pode estar relacionado com o estágio em que se encontra a larva, no caso de *C. capitata*. TOLEDO et al. (1999) afirmaram que pode existir alta mortalidade do hospedeiro se este se encontrar em fase mais jovem, uma vez que o tempo de contato entre os nematóides e eles se torna maior. No presente trabalho foi observado que existe uma relação bastante significativa entre as variáveis do tempo de exposição e mortalidade obtida. Foi observado que para as três linhagens testadas houve mortalidades bastante semelhantes entre elas nos diferentes tempos de exposição. Com 30 horas de exposição foi encontrado um percentual de mortalidade bastante superior ao tempo 2 horas. Reafirmando a relação que há entre as variáveis mortalidade e tempo de exposição.

Nematóides entomopatogênicos penetram por aberturas naturais do corpo (ânus, boca e espiráculos) (GLAZER & SALAME, 2000). GEDEN et al. (1999) relatam que o percentual de patogenicidade do nematóide a pupas de *A. ludens* foi maior quando as pupas estavam em estágio mais jovem e sem esclerotização do tecido que as reveste. Em trabalho realizado com *A. ludens* utilizando *H. bacteriphora* e *H. marelatus*, Patterson & Lacey (1999) encontraram uma mortalidade entre 40 e 72%, respectivamente, utilizando 6300 JIs/mL. Da mesma forma, SAUDERS & WEBSTER (2000) encontraram mortalidade entre 10 e 30% em pupas de uma díptera (*Anthomyidae*). Sabe-se que a penetração dos juvenis da família *Heterorhabditidae* é favorecida pela presença de um dente quitinoso na extremidade anterior do nematóide, com o qual pode raspar a cutícula que facilita a entrada na hemocele de certos hospedeiros.

Nesse trabalho a linhagem *H. bacteriphora* HP88 apresentou menor valor absoluto de mortalidade. TOLEDO (1999) também observou baixos valores quando essa linhagem foi utilizada contra larvas de *A. ludens*, e atribuiu ao porcentual de umidade do solo (15%) como um dos fatores que influenciou na sobrevivência e potencial investivo da linhagem. Tal hipótese se sustenta com (GLAZER & SALAME, 2000) que em um estudo sobre sobrevivência e dessecação de *H. bacteriphora* encontrou que juvenis infectantes dessa espécie requerem um maior período para adaptação a variações de temperatura e umidade. Em meus trabalhos a umidade utilizada foi sempre de 15% para evitar essa influência negativa. Meu trabalho fortifica o pressuposto que algumas linhagens são normalmente mais virulentas que outras.

Nematóides entomopatogênicos possuem estratégias para sobreviver em condições adversas (dessecação, anidrobiose, congelamento, radiação ultravioleta, doenças e predação). Podem evitar tais condições migrando para outras partes do solo, entrando em quiescência ou mesmo permanecendo no cadáver dos insetos por períodos mais longos (GLAZER, 2002). De acordo com GREWAL (2002), cada nematóide tem uma temperatura ótima de desenvolvimento e infecção, e uma baixa temperatura pode afetar seu desempenho. Portanto, o estudo das melhores condições para os JIs é importante para aumentar sua persistência no solo e favorecer sua atuação no campo em programas de controle biológico. Essa afirmação corrobora com os resultados obtidos nesse estudo tanto com pupas como em larvas de estágio L3. Os experimentos testando diferentes temperaturas mostraram que no tratamento com maior temperatura (28 °C), em ambos os casos a mortalidade foi maior. Isso provavelmente se deveu ao fato do nematóide testado ser proveniente da Floresta Amazônica, e, portanto melhor adaptado às altas temperaturas.

Sabe-se que os principais fatores que atuam sobre o sistema de vida dos tefritídeos são umidade, temperatura, luminosidade, alimento, inimigos naturais e organismos simbiotes (BATERMAN, 1972). Ovos e adultos das moscas-das-frutas têm seu desenvolvimento influenciado pela temperatura e umidade do ar, enquanto que as larvas L3 e pupas pela temperatura e umidade do solo (MORGANTE, 1991). Em laboratório, onde as condições são controladas, já ocorre alta mortalidade, no campo essas taxas aumentam. Isso foi mostrado no experimento de campo, onde

JIs foram distribuídos nas gaiolas. As chuvas constantes e a umidade mais alta parecem ter favorecido a mobilidade dos JIs, pois foi alcançado índice de mortalidade de até 90% com média de 88,86%. Por outro lado, afetou negativamente as larvas no solo, pois nas gaiolas testemunhas a mortalidade média ficou em torno de 33%. Esta mortalidade ocorrida na testemunha pode estar relacionada também pela presença de outros animais predadores como formigas.

De uma maneira geral a linhagem *Heterorhabditis baujardi* LPP7 se mostrou extremamente eficaz no controle de larvas e pupas de *C. capitata*, e poderá ser incorporada como ferramenta no controle biológico dessa praga nas mais diferentes culturas.

6. CONCLUSÕES

Das oito linhagens testadas contra larvas de *C. capitata*, três foram escolhidas por causar maior mortalidade e por serem espécies nativas, *H. baujardi* LPP7, *Heterorhabditis* sp. LPP14 e LPP17;

Observou-se que a dose é diretamente proporcional a mortalidade em todas as linhagens testadas. Contudo, após certa dose ocorre um patamar e a mortalidade não aumentou mais. Isso ocorreu para pupas e larvas, o que dá indicativo de que as competições intra-específicas podem limitar a mortalidade com dosagens muito altas.

Nas diferentes linhagens testadas, verificou-se que quanto maior o tempo de exposição maior a mortalidade de larvas de *C. capitata*. O que torna este tipo de controle usando NEPs bastante vantajoso, uma vez que o mesmo pode persistir por muito tempo no solo a espera de um hospedeiro e ainda por se multiplicar não sendo necessário reinfecções.

Com relação à temperatura, observou-se que a linhagem testada responde positivamente a temperaturas mais altas. Talvez por ser proveniente de uma região tropical e estar adaptada a temperaturas mais elevadas, a mesma se comportou melhor e proporcionou uma maior mortalidade.

No teste a campo foi observada uma menor emergência de adultos nas gaiolas tratamentos reforçando a capacidade de *H. baujardi* LPP7 no controle biológico de larvas de *C. capitata*, em dose aceitável à aplicação.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADAMS, B.J., NGUYEN, K.B., GAUGLER, R. (eds). (2002). Taxonomy and systematics. *In: entomopathogenic nematology*. New York: CABI publishing, p311-332.
- AGRIFANUAL: *Anuário da agricultura brasileira*. São Paulo: FNP Consultoria & Comércio, 2005. p.314-318.
- AKHURST, R. J., AND N. E. BOEMARE. 1990. Biology and taxonomy of *Xenorhabdus*, p. 75–90. *In* R. Gaugler and H. K. Kaya (ed.), Entomopathogenic nematodes in biological control. CRC Press, Boca Raton, Fla.
- AKHURST, R. J. (1990) Safety to non-target invertebrates of nematodes of economically important pests. *In*: Laird, M.; Lacey, L.A.; Davidson, E.W. (eds.) *Safety of microbial Insecticides*. Boca Raton, FL, p.234-3-38
- ALUJA, M. A pesquisa com moscas-das-frutas (Diptera: Tephritidae) na América Latina: mitos, realidades e perspectivas. *Anais da Sociedade Entomológica do Brasil*, v.28, n.4, p.565-594, 1999.
- ALUJA, M. A. 1994. Bionomics and management of *Anastrepha*. *Annual Review of Entomology*, v.39, p.155-178.

- ALUJA, M., CABRERA, M. GUILLEN, J. CELEDONIO, H. AYORA, F. 1989 Behaviour of *Anastrepha ludens*, *A. obliqua* and *A. serpentina* (Diptera: Tephritidae) on a wild mango tree (*Mangifera indica*) harbouring three McPhail traps. *Insect Science and its Application*, v.10, n.3, p.309-318.
- ALVARENGA, C. D, BRITO E. S., LOPES E. N., SILVA M. A., ALVES D.A C. MATRANGOLO. A. R. & R. A. ZUCCHI. 2005. Introdução e recuperação do parasitóide exótico *Diachasmimorpha longicaudata* (Asmead) (Hymenoptera: Braconidae) em pomares comerciais de goiaba no norte de Minas Gerais. *Neotrop. Entomol.* 34: 133-135.
- ASHLEY, T.R. & D.L. CHAMBERS. 1979. Effects of parasite density and host availability on progeny production by *Biosteres (Opus) longicaudatus*, (Hym.: Braconidae), a parasite of *Anastrepha suspensa* (Dip.: Tephritidae). *Entomophaga* 24: 363-369.
- AZEVEDO, E. M., V. W. PARRA, J.R.P., Influência da umidade em dois tipos de solo, na emergência de *Ceratitis capitata*. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v.24, n.3, p.321-327, 1989.
- BAKER, A.C., STONE, W.E., PLUMMER, C.C., McPHAIL, M. *A review of studies on the mexican fruit fly an related mexican species. Washington: USDA, 1944. 155p. (Miscellaneous Publication, 531).*
- BATEMAN, M. A. (1972). The ecology of fruit flies. *Annu. Rev. Entomol.* 17. p.493-518. BARRETO, E. L. S.; DOLINSK, C.M. (2005) Controle das larvas do gorgulho-da-goiaba (*Conotrachelus psidii*) com torta de nim e nematoides entomopatogênicos. *In: ENCONTRO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA, Campos dos Goytacazes. Anais. Campos dos Goytacazes:UENF.*
- BATEMAN, M.A. *The ecology of fruit flies. Annual Review of Entomology*, v.17, p.493-518, 1972.

- BIOLOGICAL. CONTROL DISPONIVEL
<http://www.nysaes.cornel.edu/enthibiocontrol/photogens/nematodes.html>. Acesso em 10/2005
- BARBERCHECK, M. E., 1992. *Effect of soil physical factors on biological control agents of soil insect pests. Florida Entomol.* 75: 539-548.
- BEDDING, R. A. 1981. Low cost in vitro mass production of *Neoaplectana* and *Heterorhabditis* species (Nematoda) for field control of insect pests. *Nematologica* 27:109-114.
- BOTTON, M. (2003). Novas alternativas para o monitoramento e controle de *Anastrepha fraterculus* (Wied 1830) em fruteiras temperadas. *In: Encontro Nacional sobre Fruticultura de Clima Temperado*, 5, 2002, Fraiburgo, SC. Anais do 6º Encontro Nacional sobre Fruticultura de Clima Temperado. , v.1. p.163 – 172.
- BURDITT JR., A.K. & SEO, S.T. Dose requirements for quarantine treatment of fruit flies with gamma irradiation. *In: SEMINAR ON FOOD IRRADIATION FOR DEVELOPING COUNTRIES IN ASIA AND THE PACIFIC*, 1982. Tokyo. Report... Vienna: AIEA, 1982. p.57-87.
- BURGUES, H. D., Y THOMPSON, E. M. (1971). Standardization and assay of microbial insecticides. *En D. Burgues y N. W. Huseey (Eds.). Microbial control of insects and mites* (pp. 591- 622). New York: Academic.
- CALKINS, C.O., SCHROEDER, J.; CHAMBERS, D.L. Probability of detecting Caribbean fruit fly, *Anastrepha suspense* (Loew) (Diptera: Tephritidae), populations with McPhail traps. *Journal of Economic Entomology*, v.77, n.1, p.198-201, 1984.
- CAMPBELL, L. R.; GAUGLER, R. (1991A) Mechanisms for exsheathment of entomopathogenic nematodes. *International Journal of Parasitology* 21:219-224.

- CANAL, N. A., ZUCCHI, R. A. Parasitóides – Braconidae. In: MALAVASI, A.; ZUCCHI, R.A. (Ed.). Moscas-das-frutas de importância econômica no Brasil: conhecimento básico e aplicado. Ribeirão Preto: Holos, 2000. p.119-126.
- CARVALHO, R. da S., A. S. NASCIMENTO. Criação e utilização de *Diachasmimorpha longicaudata* para controle biológico de moscas-das-frutas. In J. R. P. Parra; P. S. M. Botelho; B. S. Corrêa-Ferreira e J. M. S. Bento (Ed). Controle Biológico no Brasil: Parasitóides e Predadores. São Paulo, Manole. 2002. 635p.
- CARVALHO, R.S., Metodologia para monitoramento populacional de moscas-das-frutas em pomares comerciais. Cruz das Almas, BA. EMBRAPA Mandioca e Fruticultura Tropical. 2005. (EMBRAPA-MFT, Circular Técnica, 75).
- CARVALHO. R., DA S. 2003. Estudos de laboratório e de campo com o parasitóide exótico *Diachasmimorpha longicaudata* Ashmead (Hymenoptera: Braconidae) no Brasil. Tese de Doutorado, Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, São Paulo, 182p.
- CARVALHO, R. da S., Estudos de laboratório e de campo com o parasitóide exótico *Diachasmimorpha longicaudata* Ashmead (Hymenoptera : Braconidae) no Brasil. 2003. 182p. Tese (Doutorado), Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, São Paulo.
- CARVALHO, R. S. DE; HAJI, F. N. P.; MIRANDA, I. DA G. & COUTINHO, C. DE C. (1991). Levantamento de moscas- das - frutas na região do submédio do São Francisco. In: Congresso Brasileiro De Entomologia, 13, 1991, Recife. Anais..., Recife: SEB, v. 2, p.615. (Resumo).
- CARVALHO, R.S., NASCIMENTO, A.S., MATRANGOLO, W.J.R. Controle biológico. In: MALAVASI, A.; ZUCCHI, R.A. (Ed.). Moscas-das-frutas de importância econômica no Brasil: conhecimento básico e aplicado. Ribeirão Preto: Holos Editora, 2000. cap.14, p.113-117.

- CARVALHO, S. R., NASCIMENTO, A. S., MATRANGOLO, W. J. R. (2000). Controle Biológico. *In*: Malavasi, A.; ZUCCHI, R. A. Moscas-das-frutas de importância econômica no Brasil. São Paulo: Holos,. 327 p.
- CHAMBERS, D.L., Attractants for fruit fly survey and control. *In*: SHOREY, H.H.A. & MCKELVEY JUNIOR, J.J. (Eds.). *Chemical control of insect behavior – theory and application*. New York: Wiley-Interscience, 1977. p.327-344.
- CLAUSEN, C.P., Entomophagous insects. London: McGraw-Hill Company, 1940. 688p.
- COSTA, G. M. M., MACEDO, F. P., MAIA LIMA, F. A., MEDEIROS, M. A. A., SOUZA, J. M.G. A., MAIA, S. C. A., MALVASI, A. (1993). Ocorrência das moscas - das- frutas *Ceratitis capitata* (Diptera, Tephritidae) em Natal-RN. *In*: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENTOMOLOGIA, 14, 1993, Piracicaba. Anais, Piracicaba: SEB, p. 177. (Resumo).
- CURRAN, J. (1992) Influence of application method and pest population size on the field efficacy of entomopathogenic nematodes. Supplement to Journal of Nematology 24 (4S): 631-636.
- DEMILO, A.B. CHANG-JOO, L. LEVI, V.A. M ORENO, D.S. Volatile components of a chicken feather hydrolysate that is highly attractive to the West Indian and Mexican fruit fly (Diptera: Tephritidae). *Journal of Entomological Science*, v.32, n.3, p.245-256, 1997.
- DOLINSK, C. M.(2006) uso de nematóides entomopatogênicos no controle de pragas agrícolas. *In*: VENZON, M.; JUNIOR, T. J. P.; PALLINI, A. *Pragas e doenças* 1.ed. Viçosa:EPAMIG. Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais

- DOWDS, B. C. A., PETERS (2002). A virulence mechanisms. *in* Gaugler .R.(ed) entomopathogenic nematology .New York : CABI publishing , p 79-98.
- DUTKY, S. R., (1959). Advances in applied microbiology. *Insect -Microbiology* 1: 175-200.
- DUTKY, S.R, THOMPSON, J.V, & CANTWELL, G.W. 1964. A technique for the propagation of the DD-136 nematode. *Journal of Insect Pathology* 6, 417-422.
- FLATH, R.A., MATSUMOTO, K.E., BINDER, R.G., CUNNINGHAM, R.T., MON , T.R. Effect of pH on the volatiles of hydrolyzed protein insect baits. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v.37, n.3, p.814-819, 1989.
- FORTS, S., CLARKE, GAUGLER, R. (2002). D. bacteria –nematode symbiosis *in*: entomopathogenics nematology . Boca Raton : CRC pres, p 57-77.
- FRIEDMAN, M.J., 1990. Commercial production and development.(Gaugler, R & Kaya, H.K, Eds) CRC Press, Boca Raton, FL, USA, pp. 153-172.
- FLANDERS, K.L., J.M. MILLER, & E.J. SHIELDS. 1996. In vivo production of *Heterorhabditis bacteriophora* 'Oswego' (Rhabditida: Heterorhabditidae), a potential biological control agent for soil-inhabiting insects in temperate regions. *J. Econ. Entomol.* 89: 373-380.
- GALLO, D. 1988. Manual de entomologia agrícola. São Paulo: Ceres, 649 p
- GALLO, D.; NAKANO, O.; SILVEIRA NETO, S.; CARVALHO, R. P. L.; BAPTISTA, G. C.; BERTI FILHO, E.; PARRA, J. R. P.; ZUCHI, R. A.; ALVES, S. B.; VENDRAMIM, J. D.; MARCHINI, L. C.; LOPES, J. R. S.; OMOTO, C. Entomologia agrícola. Piracicaba: fealq, 2002. 920 p.
- GARCIA, F. R. M., CAMPOS, J. V., CORSEUIL, E. Flutuação populacional de *Anastrepha fraterculus* (Wiedemann, 1830) (Diptera, Tephritidae) na Região

Oeste de Santa Catarina, Brasil. Revista Brasileira de Entomologia, São Paulo, v. 47, n. 3, 2003.

GARCIA, F. R. M., CORSEUIL, E. Native hymenopteran parasitoids associated with fruit flies (Diptera: Tephritidae) in Santa Catarina State, Brazil. Florida Entomologist, Florida, v. 87, n. 4, p. 517-521, 2004.

GAUGLER, R. (1988). Ecological considerations *in*: the biological control of soilinhabiting insects pests with entomopathogenic nematodes. Agricultural Ecosystem Environment 24(1-3): 351-360.

GEORGIS, R., and POINAR, G.O. Jr. (1994). Nematodes as bioinsecticides in turf and ornamentals. Pp. 477-489. *In*: A.R. Leslie and U.S. EPA, eds. Handbook of integrated pest management for turf and ornamentals. Boca Raton, FL, CRC Press.

GEORGIS, R., (1990) Formulation and application technology. *In*: Gaugler, R.; Kaya, H.K. (eds.) Entomopathogenic nematodes in biological control. Boca Raton: CRC Press 173-191.

GLAZER, I. Survival Biology. *In*: GAUGLER, R. (Ed). Entomopathogenic Nematology. New Jersey: Rutgers University, p. 169-187, 2002.

GLAZER, R. W., 1931. The cultivation of a nematode parasite of an insect. Science 73:614-615.

GLAZER, I AND SALAME L. 2000. Osmotic survival of the entomopathogenic nematode *Steinernema carpocapsae*. *Biological control* 18:251-257

GLAZER, I., (2002) Survival Biology. *In*: Gaugler, R. (ed.) *Entomopathogenic Nematology*, p. 169-187.

- GREWAL, P.S., Formulation and application technology. In: GAUGLER, R (ed.) Entomopathogenic nematology. Wallingford: CABI Publishing, 2002, p.265-287.
- GAZIT, E., BACH, D., KERR, I. D., SANSOM, M. S. P., CHEJANOVSKY, N., SHAI, Y. The alpha-5 segment of *Bacillus thuringiensis* delta endotoxin: in vitro activity, ion channel formation and molecular modeling. *Bioch. Jour.*, v.304, p.895-902, 1994.
- GONÇALVES, O. , KOBER, E., VARGAS, E. O controle da mosca das frutas em citrus. *A Granja*, Porto Alegre, 1958. 14 (133): 50-52.
- GONZAGA NETO, L., SOARES, J.M., TEIXEIRA, A.H.C., MOURA, M.S.B. Goiaba: produção: aspectos técnicos. Petrolina: Embrapa Semi-Árido; Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2001. 72p. (Frutas do Brasil, 17).
- GREWAL, P. S., GEORGIS, R. (1998) Entomopathogenic nematodes. *In:* Hall, F.R., Menn, J. J. (eds.) *Biopesticides: Uses and Delivery. Methods Biotechnol.* Totowa, Humana Press Inc. 5:15-271.
- GREWAL, RAJDEEP AND RAVI DHARWADKAR (2002), "The Role of the Institutional Environment in Marketing Channels," *Journal of Marketing*, 66 (July), 82-97.
- GEDEN, C.J., J.A. HOGSETTE, AND R.D. JACOBS. 1999. Effect of airflow on house fly (Diptera: Muscidae) distribution in poultry houses. *J. Econ. Entomol.* 92: 416-420.
- GUIMARÃES, J. A.; DIAZ, N. B.; GALLARDO, F. E.; ZUCCHI, R. A. Eucoilinae species (Hymenoptera: Cynipoidea: Figitidae) parasitoids of fruit-infesting

dipterous larvae in Brazil: identify, geographical distribution and host associations. *Zootaxa*, [S.l.], v. 278, p. 1-23, 2003.

HEATH, R.R., EPSKY, N.D., BLOEM, S., BLOEM, K., ACAJABON, F., GUZMAN, A.; C HAMBERS, D. pH effect on the attractiveness of a corn hydrolysate to the Mediterranean fruit fly and several *Anastrepha* species (Diptera: Tephritidae). *Journal of Economic Entomology*, v.87, n.4, p.1008-1013, 1994.

HENDRICH, J., FRANZ, G. & RENDON, P. (1995). Increased effectiveness and applicability of the sterile insect technique through male-only releases for control of Mediterranean fruit flies during fruit seasons. *J. Appl. Ent.* 119: 371-377.

HICKEL, E. R., DUCROQUET, J. P. H. Flutuação populacional de espécies de *Anastrepha* sp. (Diptera: Tephritidae) relacionadas com a fenologia de frutificação do pêssgo e ameixa em Santa Catarina. *Anais da Sociedade Entomológica do Brasil*, Jaboticabal, v. 22, p. 591-596, 1993.

HUSSAINI, M.A., AMANS, E.B., RAMALAN, A.A. Yield, bulb size distribution, and storability of onion (*Allium cepa* L.) under different levels of N fertilization and irrigation regime. *Tropical Agriculture*, v.77, p.145-149, 2000.

IEA- instituto de Economia Agrícola. Disponível em: <http://www.iea.sp.gov.br/out/verTexto.php?codTexto=1902>. Acesso em: 12 fev. 2006.

ISHIBASHI, N., KONDO, E., 1990. Behavior of infective juveniles. In: Gaugler, R., Kaya, H.K. (Eds.), *Entomopathogenic Nematodes in Biological Control*. CRC Press, Boca Raton, FL, pp. 139–152.

KAYA, K. K. Soil ecology. In: R. GAUGLER; KAYA, K.K. (Eds.). *Entomopathogenic nematodes in biological control*. Boca Raton: CRC Press, 1990. p.93-116.

- KAYA, H. K. AND R. GAUGLER. 1993. Entomopathogenic nematodes. *Annu. Rev. Entomol.* 38: 181-206.
- KUNG JR., L.; SATTER, L.D.; JONES, B.A. et al. Microbial inoculation of low moisture alfalfa silage. *Journal of Dairy Science*, v.70, n.10, p.2069-2077, 1987.
- KNIPLING, E.F. (1955). Possibilities of insect control of eradication through the use of sexually Sterile males. *J. Econ. Entomol.* 48: 459-462.
- KOVALESKI, A., URAMOTO, K., SUGAYAMA, R. L., CANAL, D. N. A., MALAVASI, A. A survey of *Anastrepha* Schiner (Diptera: Tephritidae) species in the apple growing área of the state of Rio Grande do Sul, Brasil. *Revista Brasileira de Entomologia*, São Paulo, v. 43, p. 229-234, 1999.
- LEZAMA, G.R., ALATORRE, R.R., BODAJIL, J.L.F., 1996. Virulência de cinco cepas de los hongos entomopatógenos contra *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) en huevos y larvas neonatas. *Revista Internacional de Control Biológico*, v.3, n.1, p.35-39.
- LEONEL JR., F. L., ZUCCHI R. A. , WHARTON, R. A. Distribution and tephritid hosts (Diptera) of braconid parasitoids (Hymenoptera) in Brazil. *International Journal of Pest Management*, v.41, n.4, p.208-213. 1995.
- LEWIS, E. E., GAUGLER, R., HARRISON, R. (1992) Entomopathogenic nemtode host finding: response to host contact cues by cruise and ambush foragers. *Parasitology* 105:109-115.
- LINDQUIST, D. (2000). Pest management strategies: Area-Wide and conventional. *in: Tan (Ed.). Area-wide control of Fruit Flies and Other Insect Pests.* 13-19.
- LINDEGREN, J. E., Y VAIL, P. V. (1986). Susceptibilidad of mediterrain fruit fly melon

fly and oriental fruit fly (Diptera: Tephritidae) to entomogenous nematode *teinernema feltiae* in laboratory test. *Environmental Entomology*, 15, 465-468

LORENZATO, D., CHOUENE, E. C. Flutuação populacional, efeitos de temperatura e manejo de moscas das frutas de gênero *Anastrepha* (Díptera: Tephritidae) em pomares de macieira (*Malus domestica* Bork) no município de Farrupilha, RS. *Agron. Sulriogrand.*, v. 21, n. 2, p. 297-319, 1985.

MASON, J. The biochemical pathogenesis of molybdenum-induced copper deficiency syndromes in ruminants: Towards the final chapter. *Irish Veterinary Journal*, v.43, p.18 – 21, 1990.

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

MAIA, M. L., GARCIA, A. E. B., LEITE, R. S. da S. F. Aspectos econômicos da produção e mercado. In: ITAL. Goiaba: cultura, matéria-prima, processamento e aspectos econômicos. 2. ed. São Paulo, 1991. p. 177-224, 224 p. (Série frutas tropicais, 6).

MALAVASI, A., NASCIMENTO, A. S. Programa Biofábrica Moscamed Brasil. In: *SICONBIOL*, 5., 2003, São Pedro. Resumos... São Pedro: [s.n.], 2003. p. 52.

MALAVASI, A., ZUCCHI, R. A. (2000). Moscas-das-frutas de importância econômica no Brasil. São Paulo: Holos, 327 p.

MALAVASI, A., ZUCCHI, R.A., SUGAYAMA, R.L. Biogeografia. In: MALAVASI, A. & ZUCCHI, R.A. (Eds.). *Moscas-dasfrutas de importância econômica no Brasil – conhecimento básico e aplicado*. Ribeirão Preto: Holos Editora, 2000. p.41-48.

- MANICA, I., ICUMA, I. M., JUNQUEIRA, N. T. V., SALVADOR, J. O., MOREIRA, A., MALAVOLTA, E. Fruticultura tropical 6. Goiaba. Porto Alegre: Cinco Continentes, 2000. 374 p.
- MOTRANGOLO, W. J. R, NASCIMENTO, A. S., CARVALHO, R. S; MELO, E. D. & JESUS, M.. Parasitóides de moscas-das-frutas (Diptera: Tephritidae) associados a fruteiras tropicais. Anais da Sociedade Entomológica do Brasil, v. 27, n. 4, p. 593-603. 1998.
- MOLINA, A.J.P. & LÓPEZ, N.J.C. Producción *in vivo* de três entomonematodos con dos sistemas de infección en dos hospedantes. *Rev. Colomb. Entomol.*, v.27, n.1-2, p.73-78, 2001
- MESSING, R.H. & E.B. JANG. 1992. Response of the fruit fly parasitoid *Diachasmimorpha longicaudata* (Hymenoptera: Braconidae) to host-fruit stimuli. *Environ. Entom.* 21: 1189-1195.
- MESSING, R.H., L.M. KLUNGNESS & M.F. PURCELL. 1994. Short-range dispersal of mass-reared *Diachasmimorpha longicaudata* and *D. tryoni* (Hymenoptera: Braconidae), parasitoids of Tephritid fruit flies. *J. Econ. Entom.* 87: 975-985.
- MORGANTE, J.E. Moscas-das-frutas (Tephritidae): características biológicas. Detecção e controle. Ministério da Agricultura e Reforma Agrária, Secretaria Nacional de Irrigação (SENIR), 1991. 19p. Boletim Técnico.
- MORGANTE, J.S. (1991). Moscas-das-frutas (Tephritidae): características biológicas, detecção e controle. Brasília: FAO/SENIR. (Boletim técnico de Recomendado para os Perímetros Irrigados do Vale do São Francisco, 2).
- MOY, J.H., KANESHIRO, K.Y., OHTA, A.T., NAGAI, N.Y. Radiation disinfestation of California stone fruits infested by Medfly: effectiveness and fruit quality. *Journal of Food Science*, Chicago, v.48, n.3, p.928-934, 1983.

- MOY, J.H., REYES, L.J., RAMIREZ, G.T., BUSTOS, R.E. The economics of radiation disinfestation of Mexican mangoes and citrus as quarantine treatment. In: ANNUAL MEETING OF THE INSTITUTE OF FOOD TECHNOLOGISTS, 1986. Dallas. Proceedings... Dallas: Institute of Food Technologists, 1986. p.231-42.
- NORA, I., HICKEL, E.(1997). Controle integrado de moscas-das-frutas: manual do produtor. Florianópolis: EPAGRI, 21 p.
- NORRBOM, A.L. The diptera site: Systematic Entomology Laboratory. <http://www.sel.barc.usda.gov/diptera/tephriti/tephclas.htm>. (15 out. 2001).
- NÚÑEZ-BUENO, L., (1987). La mosca del mediterráneo. Rev. ICA, Bogotá,v. 21, n. 1, p. 1-8. ORLANDO, A.; SAMPAIO, A.S. (1973). "Moscas-das-frutas". Biológico, São Paulo, v. 39, n.6, p. 143-150.
- OVRUSKI, S., ALUJA, M., SIVINSKI, J., WHARTON,R. Hymenopteran parasitoids on fruit-infesting tephritidae (Diptera) in Latin America and the Southern United States: diversity, distribution, taxonomic status and their use in fruit fly biological control. Integrated Pest Management Reviews, [S.l.], v. 5, n. 2, p. 81-107, 2000.
- PARANHOS, B.J., J.M.M. WALDER & N.T. Papadopoulos. 2003. A simple *Diachasmimorpha longicaudata* (Hymenoptera: Braconidae) on *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae). Biocontrol Sci. Technol. 13: 631-639.
- PARRA, J.R.P., ZUCCHI, R.A., SILVEIRA NETO, S. Flutuação populacional e atividade diária de vôo da mosca-domediterrâneo em cafeeiros 'Mundo Novo'. *Pesqui.Agropec. Bras.*, v.17, n.7, p.985-992, 1982.
- Patterson, S.J.E, y Lacey, L. A. (1999). Susceptibility of western cherry fruit fly (Diptera: Tephritidae) to five species of entomopathogenic nematodes in laboratory studies. *Journal of Invertebrate Pathology*, 74, 206 -208.

- PATEL, M. N., WRIGHT, D. J. Fatty acid composition of neutral lipid energy reserves from infective juveniles of entomopathogenic nematodes. *Comparative Biochemistry and Physiology*, v. 118B, p. 341-348, 1997.
- PEDIGO, L. (1996). Sterile-insect technique and other pest genetic tactics. *in*: Prentice Hall (Ed.) *Entomology and pest management*. 479-504.
- PEREIRA, R., BARBOSA, A., SILVA, N., DANTAS, L., CALDEIRA, J. & PACHECO, J. (2000). Madeira-Med Program, Sterile Insect Technique against Mediterranean fruit fly in Madeira, Portugal. *in*: Tan (Ed.). *Area-wide control of Fruit Flies and Other Insect Pests*. 433-438.
- PETERS, A., (1996) the natural host range of steinernema and heterorhabditis. Spp. and their impact on insect populations. *Biocontrol sci. technol.* 6: 389-402.
- PIÑERO, J., ALUJA, M., VÁZQUEZ, A., EQUIHUA, M., VARÓN, J. Human urine and chicken feces as fruit fly (Diptera: Tephritidae) attractants for resource-poor fruit growers. *Journal of Economic Entomology*, v.96, n.2, p.334-340, 2003.
- PIZA JÚNIOR, C.T. A poda da goiabeira de mesa. Campinas: Coordenadoria de Assistência Técnica Integral, 1994. 30p. (Boletim técnico, 222).
- POINAR, JR., GAUGLER, R.; KAYA, H.K EDS . (1990) G.O biology and taxonomy of steinernematidae, and Heterorhabditidae *in*: entomopathogenic nematodes. *biocontrol Sci. technol.* 6: 477-480.
- PUZZI, D., & ORLANDO, A. (1965). Estudos sobre a ecologia das "moscas das frutas" (Trypetidae) no Estado de São Paulo, visando o controle racional da praga. *Arq. Inst. Biol., São Paulo*, v. 32, n.1, p. 7-20.
- PUZZI, D., OLARNDON, A. Uma nova substância atrativa a *Ceratitis capitata* (Wied.) para emprego nas pulverizações de iscas envenenadas. *Biológico* , v. 23, p. 181-196, 1957

- CHIRINOS-TORRES, D., LARREAL, M.M., PALMAR, C.G., LARA, C. Crecimiento y producción de plantas de guayabo (*Psidium guajava* L.) bajo riego e incidencia de frutos enfermos. *Revista de La Facultad de Agronomía*, v.23, p.60-69, 2006.
- RAMPAZZO, E. F., Dinâmica populacional de moscas-das-frutas do gênero *Anastrepha* (Wiedmann) (Díptera: Tephritidae), seus parasitóides e predadores coletados em pomares de goiaba (*Psidium guajava* L.) nos municípios de Jaboticabal e Monte Alto – SP. 1994. 133 f. Dissertação (Mestrado em Entomologia) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 1994.
- ROS, J.P., CASTILLO, E., CRESPO, J., LATORRE, Y., MARTÍN, P., MIRANDA, M.A., MONER, P., SASTRE, C. Evaluación en campo de varios atrayentes sintéticos para la captura de la mosca mediterránea de la fruta *Ceratitis capitata* Wied. (Diptera: Tephritidae). *Boletín Sanidad Vegetal y Plagas*, v.23, p.393-402, 1997.
- ROS, J.P., WONG, E., OLIVERO, J., CASTILLO, E. Mejora de los mosqueros, atrayentes y sistemas de retención contra la mosca mediterránea de la fruta *Ceratitis capitata* Wied. - Como hacer de la Técnica de Trampeo Masivo una buena herramienta para controlar esta plaga. *Boletín Sanidad Vegetal y Plagas*, v.28, p.591-597, 2002.
- ROSA, J. I. da. Ensacamento de frutos. Porto Alegre. EMATER/RS, 2002. (Informativo DAT, 70).
- SALLES, L. A. B. (1995). Bioecologia e controle da mosca das frutas sul americana. Pelotas, RS. *An. Soc. Entomol. Brasil* ., v. 24, n. 3, p. 573–578.
- SALLES, L. A. B. (1995a). Estratificación vertical da incidência de *Anastrepha fraterculus* (Wied.) em fruteiras no sul do Brasil. *An. Soc. Ent. do Brasil*, 24: 423-28.

- SALLES, L. A. B. (1995b). Bioecologia e controle da mosca-das-frutas sul-americana. CNPFT - Embrapa. 58p.
- SAUNDERS, J. E., WEBSTER, J. M. (2000). Laboratory test of susceptibility of some forest insect pest to *Heterorhabditis megidis* H90 (Nematoda). *Journal of Invertebrate Pathology*, 76, 76-78.
- SALLES, L. A. B. & A. KOVALESKI. 1990. Inseticidas para controle da mosca-das-frutas. *Horti Sul*. 1:10-11.
- SELA, S., NESTEL, D., PINTO, R., NEMNY-LAVY, E., BAR-JOSEPH, M. Mediterranean fruit fly as a potential vector of bacterial pathogens. *Applied and Environmental Microbiology*, v.71, n.7, p.4052-4056, 2005.
- SELIVON, D. (2000). Relações com as plantas hospedeiras. *In: Malavasi, A., Zucchi, R.A. (Eds.). Moscas-das-frutas de importância econômica no Brasil: Conhecimento básico e aplicado. Ribeirão Preto: Holos, p.87-91.*
- SELIVON, D., Biologia e padrão de especiação. *In: MALAVASI, A.; ZUCCHI, R. A.(Ed.). Moscas-das-frutas de importância econômica no Brasil: conhecimento básico e aplicado. São Paulo: Holos, 2000. p. 25-28.*
- SINGH, G.. SINGH, A.K.. RAJAN, S., Influence of pruning date on fruit of guava (*Psidium guajava* L.) under subtropics. *Journal of Applied Horticulture*, v.3, p.37-40, 2001.
- SCHROER, S., EHLERS-U., R. Foliar application of the entomopathogenic nematode *Steinernema carpocapsae* for Biological control of diamondback moth larvae (*Plutella xylostella*) *Biological control*, San Diego, v33, n1 p 81-86 Apr. 2005.

- SHAPIRO-ILAN, DI., REILLY, CC., HOTCHKISS, MW., WOOD, BW. 2002. The potential for enhanced fungicide resistance in *Beauveria bassiana* through strain discovery and artificial selection. *Journal of Invertebrate Pathology* 81:86-93.
- SUPLICY FILHO, N., SAMPAIO, A.S., MYAZAKI, I. Flutuação populacional das "moscas-das-frutas" (*Anastrepha* spp. e *Ceratitis capitata* (Wied., 1824)) em citros na fazenda Guanabara, Barretos, SP. *O Biológico*, v.44, p.279-284, 1978.
- TAYLOR, A. L., SASSER, J. N., *Biology: identification and control of root-knot nematodes (Meloidogyne species)*. Raleigh: North Carolina State University, 1978. 111 p.
- TOLEDO A.J., PEREZ, C.M., LIEDO, P. Y LBARRA.(1999). Parasitismo de larvas de *Anastrepha obliqua* (Diptera: Tephritidae) por *Steinernema feltiae* (Rhabditidae: Steinernematidae): Efecto del tipo de suelo y profundidad del huésped, (pp. 466 - 471). En: *Memorias del XXXIV. Congreso Nacional de Entomología Aguascalientes. México.*
- UCHOA-FERNANDES, M. A., ZUCCHI, R. A. Metodología de colecta de tephritidae y lonchaeidae frugívoros (Díptera: Tephritoidea) y sus parasitoides (Hymenoptera). *Anais da Sociedade Entomológica do Brasil, Jaboticabal*, v. 28, p. 601-610, 1999.
- VARGAS, R.I, J.D. STARK, G.K. UCHIDA & M. PURCELL. 1993. Opiine parasitoid (Hymenoptera: Braconidae) of oriental fruit fly (Diptera: Tephritidae) on Kauai Island, Hawaii: Islandwide relative abundance and parasitism rates in wild and orchard guava habitats. *Environ. Entomol.* 22: 246-53.
- VILLALBA, G., D.A., (2003) Tecnología y equipos de aspersión para el control de La broca del café. *In: Curso Tecnología y Equipos de aspersión para El control de la broca del café. Chinchiná (Colombia).*

- WALDER, J.M., L.A. LOPES, M.L.Z. COSTA, J.N. SESSO, G. TONIN, M.L. CARVALHO & P. LARA. 1995. Criação e liberação do parasitóide *Diachasmimorpha longicaudata* (Ashmead) (Hymenoptera: Braconidae) para controle de moscas-das-frutas no estado de São Paulo. *Laranja* 16: 149-153.
- WHARTON, R. A., P. M. MARSH & M. J. SHARKEY (eds.). 1997. Manual of the New World Genera of the Family Braconidae (Hymenoptera). Washington, Special Publication of The International Society of Hymenopterists, N° 1, 439 p.
- WHITE, I. M. & M. M. ELSON-HARRIS. 1994. Fruit flies of economic significance: their identifications and bionomic. Wallingford: CAB International. 601p.
- WHITE, G.F. 1927. A method for obtaining infective nematode larvae from cultures. *Scienc*,66: 302-303
- ZAHLER, P.M. Moscas-das-frutas (Diptera, Tephritidae) em dois pomares de
- ZUCKERMAN, B.M. AND JANSSON, H.B. 1984. Nematode chemotaxis and possible mechanisms of host-prey recognition. *Ann. Rev. of Phytopathol.* 22:95-114.
- ZAMBÃO, L.C., NETO A. M.B. Cultura da Goiaba, Boletim Técnico – CATI 236, Cap.1, p. 01-03, 1998.
- ZUCCHI, R.A. (2000^a). Espécies de *Anastrepha*, sinónimas, plantas hospedeiras e parasitóides. In: Malavasi, A. e Zucchi, R.A. (Ed.). Moscas-das-frutas de Importância Econômica no Brasil - conhecimento básico e aplicado. Ribeirão Preto: Holos Editora, p. 41-48.
- ZUCCHI, R.A. 2000. Espécies de *Anastrepha*, sinónimas, plantas hospedeiras e parasitóides, p. 41-48. In A. Malavasi & R.A. Zucchi (eds.), Moscas-das-frutas de importância econômica no Brasil. Conhecimento básico e aplicado. FAPESP - Holos Editora, Ribeirão Preto, 327p.

- ZUCCHI, R.A. & D.N.A. CANAL. 1996. Braconídeos parasitóides de moscas-das-frutas na América do Sul. In Simpósio de Controle Biológico, 5., Foz de Iguaçu, 1996, Foz de Iguaçu, SEB, p. 89-92.
- ZUCCHI, R.A. Taxonomia. In: MALAVASI, A. & ZUCCHI, R.A. (Eds.). *Moscas-das-frutas de importância econômica no Brasil: conhecimento básico e aplicado*. Ribeirão Preto: Hollos, 2000a. p.13-24.
- WOUTS, W. M. (1991), *Steinernema* (Neoaplectana) and *Heterorhabditis* species. In: Nickle, W. R. (Ed.). *Manual of agricultural nematology*. New York. pp. 855-897.
- WOMERSLEY, H.B.S. 1990. Biogeography of Australasian marine macroalgae, Chapter 16, pp. 367-38 1. In M.N. Clayton and R.J. King(eds). *Biology of Marine Plants*. Longman Cheshire, Melbourne.