



**CRISTHIANE ROHDE**

**AVALIAÇÃO DE NEMATÓIDES  
ENTOMOPATOGÊNICOS E EXTRATOS  
VEGETAIS AQUOSOS PARA O CONTROLE DA  
MOSCA-DAS-FRUTAS *Ceratitis capitata*  
(WIEDEMANN) (DIPTERA: TEPHRITIDAE)**

**LAVRAS – MG  
2011**

**CRISTHIANE ROHDE**

**AVALIAÇÃO DE NEMATÓIDES ENTOMOPATOGÊNICOS E  
EXTRATOS VEGETAIS AQUOSOS PARA O CONTROLE DA MOSCA-  
DAS-FRUTAS *Ceratitis capitata* (WIEDEMANN) (DIPTERA:  
TEPHRITIDAE)**

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-graduação em Agronomia/Entomologia, área de concentração em Entomologia Agrícola, para obtenção do título de Doutora.

Orientador: Prof. Dr. Alcides Moino Júnior

**LAVRAS - MG  
2011**

**Ficha Catalográfica Preparada pela Divisão de Processos Técnicos da  
Biblioteca da UFLA**

Rohde, Cristhiane.

Avaliação de nematoides entomopatogênicos e extratos vegetais aquosos para o controle da mosca-das-frutas *Ceratitis capitata* (Wiedemann) (Diptera: Tephritidae) / Cristhiane Rohde. – Lavras : UFLA, 2011.

120 p. : il.

Tese (doutorado) – Universidade Federal de Lavras, 2011.

Orientador: Alcides Moino Junior.

Bibliografia.

1. *Steinernema carpocapsae*. 2. *Heterorhabditis* sp. 3. *Melia azedarach*. 4. *Ruta graveolens*. 5. *Allium sativum*. I. Universidade Federal de Lavras. II. Título.

CDD – 632.96

**CRISTHIANE ROHDE**

**AVALIAÇÃO DE NEMATÓIDES ENTOMOPATOGÊNICOS E  
EXTRATOS VEGETAIS AQUOSOS PARA O CONTROLE DA MOSCA-  
DAS-FRUTAS *Ceratitis capitata* (WIEDEMANN) (DIPTERA:  
TEPHRITIDAE)**

Tese apresentada à Universidade Federal de  
Lavras, como parte das exigências do  
Programa de Pós-graduação em  
Agronomia/Entomologia, área de  
concentração em Entomologia Agrícola,  
para obtenção do título de Doutora.

APROVADA em 22 de julho de 2011

Prof. Dr. Martin Francisco Pareja Piaggio  
UFLA

Prof. Dr. Vicente Paulo Campos  
UFLA

Dr. Eustachio Tarasco  
UNIVERSITY OF BARI

Dr. Rogério Antônio Silva  
EPAMIG

Prof. Dr. Alcides Moino Junior  
UFLA  
(Orientador)

Lavras  
Minas Gerais – Brasil  
2011

Aos meus pais, Gervásio e Sirlei, pelo amor e apoio incondicional que dedicam a mim, sendo exemplo de dedicação, amor, humildade, persistência e honestidade.

**Dedico**

## **AGRADECIMENTOS**

A Deus, por guiar a minha vida, me colocar entre pessoas maravilhosas e me conceder ótimas oportunidades.

A Universidade Federal de Lavras e ao Departamento de Entomologia pela oportunidade concedida para a realização do curso.

A Universidade Estadual do Centro-Oeste pela oportunidade concedida para a realização do trabalho experimental.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq pela concessão da bolsa.

Ao professor Alcides Moino Junior pela orientação, confiança, aprendizado e amizade.

Aos professores do Departamento de Entomologia pelos ensinamentos transmitidos, apoio, estímulo e exemplo de profissionalismo.

Aos funcionários do Departamento de Entomologia pela amizade e auxílio durante todo o curso.

Aos estagiários e amigos Kaio, Patrícia, Keli e Priscila pelo auxílio na execução do trabalho.

A minha família pelo amor dedicado, apoio constante, incentivo, confiança e a certeza de que sempre estiveram comigo.

Ao Rubisson pelo amor, companheirismo, carinho, incentivo e ajuda que foram essenciais nessa etapa final do trabalho.

Aos amigos Natália, Marlon, Daiane, Fabiano, Marco Aurélio, Juliana, Cássia, e Alessandro pelos ótimos momentos de convivência, ajuda e incentivo.

A todos aqueles que, de alguma forma, contribuíram para a realização deste trabalho.

**Sinceramente agradeço**

## RESUMO

A mosca-das-frutas *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae) é considerada a principal praga da fruticultura mundial. Devido aos impactos causados pelo controle químico, o uso de novos métodos, tais como nematóides entomopatogênicos e extratos de plantas, ganham destaque para o controle deste inseto, devido à elevada seletividade, o baixo impacto no meio ambiente e a eficiência. Assim, os objetivos desse trabalho foram avaliar a eficiência dos nematóides *Steinernema carpocapsae* ALL e *Heterorhabditis* sp. JPM4, e dos extratos preparados com vegetais frescos e secos de folha, ramo ou fruto de cinamomo (*Melia azedarach*), folha de arruda (*Ruta graveolens*), alho (*Allium sativum*) e gengibre (*Zingiber officinale*) para o controle de *C. capitata*, bem como a compatibilidade entre esses dois métodos. Em relação aos nematóides entomopatogênicos, verificou-se que ambos os nematóides causaram mortalidade sobre larvas e pupas de *C. capitata*, sendo que *S. carpocapsae* ALL foi mais eficiente. Porém, esse nematóide não apresentou capacidade de deslocamento horizontal, característica essa observada para *Heterorhabditis* sp. JPM4. Os dois nematóides tiveram sua eficiência reduzida ao longo do tempo e foram eficazes no controle dessa praga, quando aplicados em solo sem cobertura ou com cobertura vegetal seca. Já para os extratos vegetais, pode-se observar que todos tiveram efeito inseticida sobre larvas e pupas de *C. capitata*, com destaque para o extrato de cinamomo, que teve efeito também sobre a fase adulta. No entanto, nenhum extrato teve efeito sobre a fecundidade de fêmeas de *C. capitata*. Não houve compatibilidade entre os dois métodos estudados, uma vez que os extratos reduziram em aproximadamente 100% a viabilidade e a infectividade dos nematóides, após 120 horas de exposição. São necessários novos estudos, em condições de campo, para confirmar a eficiência dos nematóides entomopatogênicos e dos extratos vegetais para o controle de *C.*

*capitata*, bem como a compatibilidade entre os dois métodos, já que no presente estudo, o nematóide foi exposto ao máximo à ação dos extratos vegetais.

Palavras-chave: *Steinernema carpocapsae*. *Heterorhabditis* sp.. *Melia azedarach*. *Ruta graveolens*. *Allium sativum*. *Zingiber officinale*.

## ABSTRACT

The fruit fly *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae) is considered a major pest of fruit crops worldwide. Due to the impacts caused by chemical control, the use of new methods, such as entomopathogenic nematodes and plant extracts are highlighted to control this insect, because of their high selectivity, low environmental impact and efficiency. Thus, the first aim of this study was to evaluate the efficacy of the nematodes *Steinernema carpocapsae* ALL and *Heterorhabditis* sp. JPM4, and extracts prepared with fresh and dried leaf vegetables, cinnamon twig or fruit (*Melia azedarach*), rue leaf (*Ruta graveolens*), garlic (*Allium sativum*) and ginger (*Zingiber officinale*) to control *C. capitata*. The second one was to assess the compatibility between these two methods. Concerning the entomopathogenic nematodes, it was found that the two nematodes caused mortality on *C. capitata* larvae and pupae, mentioning that *S. carpocapsae* ALL was more effective. However, this nematode showed no ability for horizontal displacement, a feature observed in *Heterorhabditis* sp. JPM4. Both nematodes had their efficiency reduced as time passed by and were effective against this pest when applied to soil without vegetation or with dry vegetation. Considering the plant extracts, it was observed that all of them had insecticidal effect on *C. capitata* larvae and pupae, especially the cinnamon extract, which also had an effect on the adult phase. However, the extracts had no effect on the fertility of *C. capitata* females. There was no compatibility between the two methods, since the extracts reduced the viability and infectivity of nematodes by approximately 100% after 120 hours of exposure. Further research on field conditions should be carried out to confirm the efficacy of entomopathogenic nematodes and plant extracts for the *C. capitata* control, as well as the compatibility between the two methods since in the current study, the nematode was exposed to the action of plant extracts to its maximum.

Keywords: *Steinernema carpocapsae*. *Heterorhabditis* sp.. *Melia azedarach*.  
*Ruta graveolens*. *Allium sativum*. *Zingiber officinale*.

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO GERAL.....</b>	<b>10</b>
<b>2 REFERENCIAL TEÓRICO.....</b>	<b>14</b>
<b>2.1 Importância da fruticultura no Brasil.....</b>	<b>14</b>
<b>2.2 Família Tephritidae.....</b>	<b>15</b>
<b>2.2.1 Aspectos gerais.....</b>	<b>15</b>
<b>2.2.2 Importância econômica.....</b>	<b>16</b>
<b>2.3 <i>Ceratitis capitata</i>.....</b>	<b>18</b>
<b>2.3.1 Aspectos morfológicos.....</b>	<b>18</b>
<b>2.3.2 Ciclo de vida.....</b>	<b>19</b>
<b>2.3.3 Controle da mosca-das-frutas.....</b>	<b>10</b>
<b>2.4 Nematóides entomopatogênicos.....</b>	<b>22</b>
<b>2.4.1 Importância.....</b>	<b>22</b>
<b>2.4.2 Aspectos biológicos.....</b>	<b>22</b>
<b>2.4.3 Controle da mosca-das-frutas com nematóides entomopatogênicos..</b>	<b>24</b>
<b>2.5 Extratos vegetais.....</b>	<b>25</b>
<b>2.5.1 Importância.....</b>	<b>25</b>
<b>2.5.2 Modo de ação.....</b>	<b>26</b>
<b>2.6 Compatibilidade entre nematóides entomopatogênicos e extratos vegetais.....</b>	<b>28</b>
<b>3 REFERÊNCIAS.....</b>	<b>28</b>
<b>ARTIGO 1.....</b>	<b>38</b>
<b>ARTIGO 2.....</b>	<b>73</b>
<b>ARTIGO 3.....</b>	<b>98</b>
<b>4 CONCLUSÕES GERAIS.....</b>	<b>119</b>

## 1 INTRODUÇÃO GERAL

O Brasil está entre os três maiores produtores mundiais de frutas, com uma produção superior a 40 milhões de toneladas/ano (INSTITUTO BRASILEIRO DE FRUTAS, 2011). Porém, a sua capacidade de exportação de frutas *in natura* ainda é muito baixa, devido às condições fitossanitárias do produto, que apresenta danos causados por pragas, principalmente a mosca-das-frutas *Ceratitis capitata* (Wiedemann) (Diptera: Tephritidae) (ZUCCHI, 2000).

*C. capitata*, também conhecida como mosca-do-mediterrâneo, é considerada uma das pragas mais sérias da fruticultura em escala mundial, por estar distribuída em todas as regiões biogeográficas do mundo, da sua diversidade de hospedeiros, da natureza do dano causado e da sua grande adaptabilidade ao meio (ZUCCHI, 2000).

Os danos causados por esta praga na fruticultura podem ser diretos, quando ocorrem em consequência da oviposição, realizada pelas fêmeas nos frutos, e o consumo da polpa dos frutos pelas larvas, e também indiretos, quando facilitam a entrada de microrganismos no fruto. Além disso, são consideradas pragas quarentenárias, o que acarreta limitação do livre trânsito de frutas frescas pelas restrições impostas por medidas quarentenárias dos países importadores (WHITE; ÉLSON-HARRIS, 1992b; BUENO, 2000; MALAVASI, 2000).

Atualmente o controle da mosca-das-frutas pode ser realizado por meio de métodos culturais, métodos mecânicos, técnica do inseto estéril, controle legislativo, biológico e químico, sendo este último o mais utilizado (NASCIMENTO; CARVALHO, 2000). No entanto, essa forma de controle tem ocasionado impactos na saúde humana, no meio ambiente, além de favorecer o aparecimento de insetos resistentes e causar a morte de inimigos naturais. A preocupação com os diversos problemas causados pelo uso indiscriminado de produtos químicos tem conduzido à crescente busca por medidas eficazes de

controle de pragas, que proporcionem um menor impacto ambiental e que sejam compatíveis com os programas de manejo integrado de pragas.

Nematóides entomopatogênicos pertencentes às famílias Heterorhabditidae e Steinernematidae são considerados excelentes agentes de controle biológico, devido à elevada eficiência, seletividade aos inimigos naturais, inocuidade ao meio ambiente e aos demais seres vivos, incluindo o homem, sendo um ótimo recurso a ser utilizado como componente do manejo integrado de pragas (GEORGIS et al., 2006; SHAPIRO-ILAN et al., 2006). Esses entomopatógenos demonstram maior potencialidade para o controle de insetos-praga de solo e de ambientes críticos, como é o caso da mosca-das-frutas, que possui o comportamento de abandonar o fruto e penetrar no solo para desenvolvimento das pupas, permitindo a ação do entomopatógeno.

Nematóides pertencentes à família Steinernematidae apresentam uma associação simbiótica com bactérias do gênero *Xenorhabdus*, enquanto os representantes da família Heterorhabditidae têm uma associação simbiótica com bactérias do gênero *Photorhabdus*. O conjunto desta associação representa um sistema único de controle biológico de insetos, já que as bactérias são introduzidas pelos juvenis infectivos na hemocele do inseto, causando septicemia e morte do hospedeiro em apenas 24 a 48 horas (FERRAZ, 1998; BOEMARE 2002).

Extratos vegetais também se destacam como importantes ferramentas para o controle de pragas, pois apresentam favoráveis propriedades toxicológicas para os insetos. Os efeitos inseticidas dos extratos vegetais ocorrem principalmente devido à presença de substâncias produzidas pelo metabolismo secundário do vegetal, em resposta ao ataque de insetos. Essas substâncias podem ser encontradas nas raízes, caules, folhas, sementes e frutos, dentre as quais destacam-se os limonóides, rotenóides, piretróides alcalóides e terpenóides, que podem interferir severamente no metabolismo dos insetos,

causando impactos variáveis, como repelência, deterrência alimentar e de oviposição, esterilização, bloqueio do metabolismo e interferência no desenvolvimento, podendo ou não causar a morte (MEDEIROS, 1990).

Além de apresentarem características favoráveis para serem utilizados em programas de manejo integrado de pragas, os nematóides entomopatogênicos e os extratos vegetais também são promissores para o controle da mosca-das-frutas *C. capitata* (LINDEGREN; VAIL, 1986; LINDEGREN; WONG; MCINNIS, 1989; LINDEGREN, 1990; GAZIT; ROSSLER; GLAZER, 2000; LABORDA et al., 2003; SALVATORE et al., 2004; ZAPPATA et al., 2006; ROHDE et al., 2010), sendo, no entanto, necessários novos estudos para determinar as melhores condições de aplicação desses produtos, aumentando assim, a eficiência do controle.

Essas formas de controle podem ser utilizadas de maneira isolada ou combinadas em programas de manejo integrado da mosca-das-frutas. Entretanto, para a utilização integrada dessas formas de controle, é necessário conhecer o grau em que os nematóides podem ser afetados pelos extratos, determinando assim a compatibilidade entre as mesmas. Assim, os objetivos desse trabalho foram:

- Avaliar a melhor concentração de *Steinernema carpocapsae* ALL e *Heterorhabditis* sp. JPM4 para o controle de larvas e pupas de *C. capitata*, em condições de laboratório e casa-de-vegetação;
- Avaliar a capacidade de migração horizontal de *S. carpocapsae* ALL e *Heterorhabditis* sp. JPM4, para o controle de larvas e pupas de *C. capitata*;
- Avaliar a eficiência desses entomopatógenos ao longo do tempo, para o controle de larvas e pupas de *C. capitata*;

- Avaliar a eficiência desses nematóides entomopatogênicos quando aplicados sobre o solo descoberto ou com cobertura vegetal seca, para o controle dessa praga;
- Avaliar o efeito de extratos preparados com com vegetais frescos e secos de folha, ramo e fruto de cinamomo (*Melia azedarach*), folha de arruda (*Ruta graveolens*), alho (*Allium sativum*) e gengibre (*Zingiber officinale*) sobre larvas, pupas e adultos de *C. capitata*;
- Avaliar a compatibilidade desses extratos vegetais com os nematóides *S. carpocapsae* ALL e *Heterorhabditis* sp. JPM4.

## **2 REFERÊNCIAL TEÓRICO**

### **2.1 Importância da fruticultura no Brasil**

Atualmente o Brasil é um dos três maiores produtores mundiais de frutas, com uma produção que supera o valor de 45 milhões de toneladas/ano, o que representa 5% da produção mundial. O agronegócio da fruticultura tem grande importância na economia brasileira, representando aproximadamente 15% do valor total da produção agrícola brasileira. Além disso, este setor é responsável por gerar, em média, seis milhões de empregos diretos, ou seja, 27% do total da mão-de-obra agrícola ocupada no país (INSTITUTO BRASILEIRO DE FRUTAS, 2011).

A produção brasileira, nos dias de hoje, está voltada para frutas tropicais, subtropicais e temperadas, graças a sua extensão territorial, posição geográfica, solo e condições climáticas. São 500 variedades de plantas produtoras de frutas comestíveis, com destaque para a produção de laranja, banana e abacaxi. Cerca de 53% da produção brasileira é destinada ao mercado de frutas processadas e 47% ao mercado de frutas frescas (INSTITUTO BRASILEIRO DE FRUTAS, 2011).

Apesar de a fruticultura brasileira ser considerada uma das maiores do mundo, a produção de frutas frescas, destinada à exportação, ainda é muito reduzida. Segundo Souza-Filho (2002), o índice reduzido de exportação de frutas brasileiras se deve, principalmente, ao baixo nível tecnológico aplicado ao cultivo das frutíferas, tendo reflexo direto na qualidade dos frutos produzidos, com destaque para a presença de pragas, doenças e plantas invasoras.

Dentre as pragas que ocorrem nas frutíferas, as espécies pertencentes à família Tephritidae são relatadas como principais, causando prejuízos para o setor mundial de fruticultura.

## 2.2 Família Tephritidae

### 2.2.1 Aspectos gerais

A família Tephritidae (Diptera) pertence à superfamília Tephritoidea e encontra-se subdividida em seis subfamílias: Tachiniscinae, Blepharoneurinae (5 gêneros), Phytalmiinae (6 gêneros), Trypetinae (235 gêneros, incluindo *Anastrepha*, *Rhagoletis* e *Toxotrypana*), Dacinae (39 gêneros, incluindo *Ceratitis*, *Bactrocera* e *Dacus*) e Tephritinae (211 gêneros). Esta família compreende os insetos conhecidos comumente por mosca-das-frutas, sendo descritas aproximadamente 4000 espécies agrupadas em 500 gêneros (WHITE; ELSON-HARRIS, 1992a; KORNEYEV, 1999).

As espécies de tefritídeos podem ser divididas em dois grandes grupos, com base em suas características fisiológicas e ecológicas, sendo que, no primeiro grupo, incluem-se as espécies univoltinas, ou seja, aquelas que apresentam uma única geração anual, com diapausa de inverno e de ocorrência em regiões de clima temperado. Em oposição, o segundo grupo abrange as espécies multivoltinas, que são aquelas que apresentam mais de uma geração por ano, sem diapausa de inverno e de ocorrência tropical ou subtropical (BATEMAN, 1972).

Os representantes desta família apresentam, ainda, grande diversidade morfológica e comportamental, incluindo os diferentes hábitos alimentares, tendo indivíduos fitófagos, saprófagos e zoófagos, sendo que os primeiros são predominantes e muitos são considerados pragas de frutíferas, com destaque para os gêneros *Anastrepha*, *Ceratitis*, *Bactrocera*, *Dacus*, *Toxotrypana* e *Ragoletis* (KORNEYEV, 1999).

Ainda com relação às espécies que apresentam hábito alimentar fitófago, estas podem ser especialistas, quando utilizam somente uma espécie de planta hospedeira, ou generalistas, que utilizam várias famílias diferentes de plantas

hospedeiras. Outras espécies podem, ainda, apresentar diferentes graus de especialização entre esses dois extremos (SELIVON, 2000).

A distribuição geográfica das moscas-das-frutas está intimamente relacionada a distribuição do seu hospedeiro, sendo mais provável que as espécies generalistas apresentem maior distribuição geográfica em relação às especialistas (SELIVON, 2000).

A família Tephritidae encontra-se distribuída em todo o mundo, exceto na Antártica. Com relação aos gêneros de importância econômica, tem-se a seguinte distribuição: *Anastrepha*: América do Sul, América Central, Caribe e, na América do Norte, apenas no México, no sul do Texas e no centro-sul da Flórida; *Toxotrypana*: Américas do Norte, Central e do Sul; *Ceratitis*: África, sul da Europa, Oriente Médio, Caribe, Austrália, Ilhas do Pacífico, Américas do Norte, Central e do Sul; *Rhagoletis*: Europa, Américas do Norte, Central e do Sul; *Bactrocera*: Ásia tropical e temperada, África tropical, Austrália, Ilhas do Pacífico, sul da Europa e norte da América do Sul e *Dacus*: África tropical, Austrália, Oriente Médio e Ilhas do Oceano Índico (MALAVASI; ZUCCHI, 2000).

No Brasil, as espécies de moscas-das-frutas de importância econômica pertencem aos gêneros *Anastrepha*, *Ceratitis*, *Bactrocera* e *Rhagoletis*. Os dois primeiros gêneros destacam-se dos demais por apresentarem ocorrência generalizada no país, além da diversidade de plantas hospedeiras (ZUCCHI, 2000).

### **2.2.2 Importância econômica**

A mosca-das-frutas é considerada uma das principais pragas da fruticultura mundial, acarretando perdas significativas devido aos danos diretos e indiretos que ocasiona.

Os danos diretos ocorrem devido à oviposição realizada pelas fêmeas no fruto em amadurecimento. Em diversas espécies de frutas, tais como ameixa, pêra, maçã e citros, a epiderme fica marcada no local da oviposição e, com o desenvolvimento fisiológico do fruto, forma-se uma concavidade ou deformação, depreciando-o. Em outras frutíferas, como a manga, observa-se, no local da oviposição, material exudado de seiva (CARVALHO, 2005).

As larvas também causam danos nos frutos, visto que se alimentam da sua polpa, causando, em geral, apodrecimento da área e queda precoce do mesmo (WHITE; ÉLSON-HARRIS, 1992b; SALDANHA; SILVA, 1999).

Além destes danos diretos causados no fruto infestado, ocorre ainda o dano indireto, pois o local de oviposição pode servir como porta de entrada para microrganismos, causando a contaminação e apodrecimento do mesmo (CARVALHO, 2005).

Esses danos são responsáveis pela redução na produção, uma vez que os frutos infestados caem precocemente da frutífera ou são inviáveis para comercialização; pelo aumento no custo da produção, devido ao emprego de medidas de controle; pelo menor valor da produção, já que os frutos de baixa qualidade têm menor valor comercial e também, pelo menor tempo de prateleira, pois os frutos infestados pela mosca apodrecem mais rapidamente.

Outro problema a ser considerado é o fato da mosca-das-frutas ser praga quarentenária, o que ocasiona sérios prejuízos ao setor, devido à imposição, dos países importadores, de barreiras fitossanitárias e da exigência de que a área de origem dos frutos seja livre de mosca-das-frutas (WHITE; ÉLSON-HARRIS, 1992b; BUENO, 2000).

Esse fato representa um grande obstáculo para o Brasil, em relação à produção e à livre comercialização de frutas frescas, limitando o rendimento obtido com a exportação desses produtos à valores inferiores a 30% em relação

ao valor gerado com a exportação de frutas processadas no país (INSTITUTO BRASILEIRO DE FRUTAS, 2011).

Segundo a FAO (Organização das Nações Unidas para a Alimentação e a Agricultura), os danos diretos e indiretos causados pelas moscas-das-frutas geram um prejuízo de aproximadamente 1,7 bilhões de dólares por ano no mundo, sendo que 10% deste valor encontra-se concentrado no Brasil (INSTITUTO BRASILEIRO DE FRUTAS, 2011).

Dentre todas as espécies pertencentes à família Tephritidae, a *C. capitata* é considerada a mais cosmopolita e invasora, está presente em todas as regiões biogeográficas, sendo, conseqüentemente, a espécie que mais causa danos à fruticultura em todo o mundo. No Brasil, esta espécie encontra-se disseminada em 16 estados brasileiros, com ocorrência em um grande número de plantas hospedeiras comerciais, além de utilizar mais de 200 outros hospedeiros alternativos (NASCIMENTO; CARVALHO, 2000; ZUCCHI, 2001).

### **2.3 *Ceratitís capitata***

#### **2.3.1 Aspectos morfológicos**

Os ovos de *C. capitata* apresentam formato alongado e ligeiramente curvo, com 1 mm de comprimento, apresentando coloração que varia entre o branco e o amarelo, com uma das extremidades levemente escurecidas.

A larva é do tipo vermiforme, com o corpo liso, dividido em onze segmentos de igual comprimento, apresentando uma coloração que varia de branco a branco amarelado. A larva completamente desenvolvida mede cerca de 8 mm de comprimento (WHITE; ELSON-HARRIS, 1992a).

A pupa é do tipo coarctada, recoberta por uma estrutura rígida e de cor marrom escura, denominada pupário. A pupa apresenta uma coloração que varia de branco até amarelo, com formato indefinido (SALLES, 1995).

O adulto apresenta um comprimento que varia entre 4 e 5 mm por 10 a 12 mm de envergadura, apresentando coloração predominantemente amarela. O tórax é preto na face superior, com desenhos simétricos brancos. As asas são transparentes, com listras amarelas. O abdome é amarelo, com duas listras transversais acinzentadas. A distinção do sexo do adulto é facilitada, já que a fêmea possui o ovipositor saliente no final do abdome, que termina em um alongamento pontiagudo, enquanto no macho, o abdome termina em forma arredondada (WHITE; ELSON-HARRIS, 1992b; SALLES, 1995).

### **2.3.2 Ciclo de vida**

A fêmea madura sexualmente e acasalada, ao localizar o hospedeiro, introduz seu ovipositor através da epiderme do fruto e oviposita em uma câmara, onde coloca um número variável de ovos, de acordo com a planta hospedeira, sendo que, em pêsego, são colocados, em média, 10,5 ovos por postura, em café, 5,8 e em maçã, 5,3 (SOUZA et al., 1983; ZUCCHI, 2001). O número de ovos depositados por fêmea, ao longo de sua vida reprodutiva, varia de 300 a 1000 (ZUCCHI, 2001).

No interior do fruto, a larva passa por três ínstars. Ao eclodir, alimenta-se continuamente da polpa do fruto até atingir seu último ínstar, período este em que abandona o fruto e passa para o solo para transformar-se em pupa.

Os adultos copulam sobre as plantas hospedeiras, com frutos em amadurecimento. Após a cópula, a fêmea permanece por um período que varia entre 13 e 19 dias (período de pré-oviposição), em processo de maturação dos ovos, alimentando-se de proteínas e carboidratos para produzir descendentes férteis. Passado este período, a fêmea procura frutos, em amadurecimento, para realizar a oviposição (ZUCCHI, 2001). Embora as fêmeas, após a oviposição, marquem o fruto com feromônio, várias fêmeas podem ovipositar no mesmo fruto (PROKOPY; ZIEGLER; WONG, 1978).

O ciclo ovo-adulto de *C. capitata*, a 25°C, apresenta duração média de 30 dias, sendo a duração média do período embrionário de dois dias; da fase larval de 11 dias; e da fase de pupa de 17 dias. A longevidade dos adultos, em condições de laboratório, tem duração média de um ano, no entanto, na natureza este período reduz para três meses (ZUCCHI, 2001).

### **2.3.3 Controle da mosca-das-frutas**

Atualmente, o controle da mosca-das-frutas pode ser realizado por meio de métodos culturais, mecânicos, técnica do inseto estéril, controle legislativo, biológico e químico, sendo esse último o mais utilizado, devido a sua eficiência (NASCIMENTO; CARVALHO, 2000). No entanto, essa forma de controle tem ocasionado impactos na saúde humana, no meio ambiente e, quando usada de maneira excessiva e incorreta, tem favorecido o aparecimento de insetos resistentes e causado a morte de inimigos naturais.

Além dos impactos causados, o controle químico apresenta a desvantagem do efeito residual deixado nos frutos, sendo necessário um período de carência entre a aplicação do inseticida e a colheita do produto para o consumo. Esse problema é agravado na produção de frutas, uma vez que a aplicação do inseticida é feita diretamente sobre o produto comercializado, que é muitas vezes consumido fresco, aumentando assim a possibilidade de contaminação do consumidor.

Esses problemas são ainda maiores em áreas de pequenos e médios produtores, que detêm a maior parte de produção de frutas no Brasil, pois, geralmente, não possuem acesso a tecnologia, apresentam baixo nível de conhecimento e falta de acompanhamento técnico (INSTITUTO BRASILEIRO DE FRUTAS, 2011).

Diante dos efeitos negativos causados pelo controle químico, da crescente preocupação com o meio ambiente e com a produção de alimentos

mais saudáveis, a busca por novas formas de controle de pragas menos impactantes, eficientes e acessíveis também ao pequeno produtor tem aumentado.

Nesse contexto, o uso do controle biológico, com agentes entomopatogênicos, tem ganhado importância, pois além da eficiência no controle da praga, esses microrganismos têm apresentado especificidade pelo hospedeiro, seletividade aos insetos benéficos, inocuidade aos animais endotérmicos, não poluem o meio ambiente e possuem formas de resistência, que aumentam a persistência no campo (ALVES, 1998).

Dentre os microrganismos entomopatogênicos, os nematóides estão entre os mais promissores para o controle de mosca-das-frutas, já que o comportamento deste inseto, de abandonar o fruto e passar para o solo para desenvolvimento das pupas, permite a ação do entomopatógeno em seu habitat natural (CARVALHO; NASCIMENTO; MATRANGOLO, 2000; GREWAL; DE NARDO; AGUILLERA, 2001).

Outra forma que vem se destacando para o controle de pragas é o uso de extratos vegetais, pois são de fácil acesso também ao pequeno produtor e apresentam boa ação inseticida (VASCONCELOS; GODIN JUNIOR; BARROS, 2006).

Vale ressaltar, no entanto, que mesmo apresentando inúmeras vantagens, essas formas de controle não devem ser utilizadas de forma isolada, podendo fazer parte de um conjunto de medidas que, atuando em harmonia entre si e com o meio ambiente, sejam capazes de reduzir a população de insetos-praga a níveis que não causem danos econômicos, dentro de programas de manejo integrado de pragas.

Nesse sentido, a combinação de nematóides entomopatogênicos com extratos vegetais pode ser promissora para o uso em programas de manejo integrado da mosca-das-frutas. Entretanto, para a utilização integrada dessas

formas de controle, é necessário conhecer o grau em que os nematóides podem ser afetados pelos extratos, determinando assim a compatibilidade entre as mesmas.

## **2.4 Nematóides entomopatogênicos**

### **2.4.1 Importância**

Nematóides entomopatogênicos pertencentes às famílias Heterorhabditidae e Steinernematidae são considerados excelentes agentes de controle biológico, demonstrando maior potencialidade em insetos-praga de solo e de ambientes crípticos. Nesse sentido, Georgis; Hom (1992) ressaltam que cerca de 90% dos insetos-praga passam pelo menos uma fase do seu ciclo de vida no solo, sendo alvo em potencial para os nematóides entomopatogênicos.

Estudos, em laboratório e campo, demonstraram que estes entomopatógenos possuem um amplo espectro de hospedeiros, sendo que aproximadamente 17 ordens e 135 famílias de insetos, nos diferentes estágios de desenvolvimento, são suscetíveis aos nematóides entomopatogênicos (AKHURST; SMITH, 2002).

Estes entomopatógenos são ainda seletivos a um grande número de insetos não alvo, por serem restritos às pragas de solo e por apresentarem inocuidade ao meio ambiente e aos demais seres vivos, sendo um ótimo recurso a ser utilizado como componente do manejo integrado de pragas (GEORGIS et al., 2006; SHAPIRO-ILAN et al., 2006).

### **2.4.2 Aspectos biológicos**

Nematóides pertencentes à família Steinernematidae apresentam uma associação simbiótica com bactérias do gênero *Xenorhabdus*, enquanto os representantes da família Heterorhabditidae têm uma associação simbiótica com bactérias do gênero *Photorhabdus* (BOEMARE, 2002). O conjunto desta

associação representa um sistema único de controle biológico de insetos. Nesta relação, os nematóides contribuem oferecendo proteção à bactéria, fora do corpo do inseto e atuando como transportadores dela, do cadáver de um inseto para a hemocele de um novo hospedeiro. A bactéria, por sua vez, torna os nutrientes do hospedeiro disponíveis para os nematóides (FERRAZ, 1998).

Essas bactérias produzem antibióticos que impedem o crescimento de outras bactérias e produzem pigmentos que dão aos cadáveres dos insetos coloração do tegumento característica. Na associação Steinernematidae - *Xenorhabdus*, os cadáveres infectados adquirem coloração que varia do bronzeado até pardo escuro. Na associação Heterorhabditidae - *Photorhabdus*, os cadáveres apresentam coloração avermelhada ou alaranjada (BOEMARE, 2002).

O ciclo de vida dos nematóides entomopatogênicos, pertencentes à família Steinernematidae, apresenta três fases de desenvolvimento: ovo, juvenil e adulto (fêmeas e machos). A fase juvenil é composta por quatro estádios (J1, J2, J3 ou JI, J4), sendo o JI (juvenil infectante) o estágio infectante (ADAMS; NGUYEN, 2002).

Inicialmente, os JI penetram no corpo do inseto pelas aberturas naturais (boca, ânus e espiráculos) e, em seguida, passam à hemocele, onde liberam as bactérias, por regurgitação. Estas se multiplicam rapidamente e, após curto período de vida, causam septicemia fatal ao hospedeiro. Subsequentemente, os JI alimentam-se dos tecidos decompostos pela bactéria e passam para o último estágio juvenil (J4), formando, em seguida, adultos da primeira geração (machos e fêmeas). Os nematóides podem permanecer duas ou três gerações dentro do hospedeiro (ciclo longo) ou, quando o hospedeiro não oferece alimento suficiente, os JI, produzidos na primeira geração, emergem do cadáver, completando o ciclo de vida curto. Os JI, ao emergirem do cadáver, já carregam certa quantidade de bactéria no intestino e permanecem no solo até a localização

e infecção de novos insetos hospedeiros, reiniciando o ciclo (FERRAZ, 1998; ADAMS; NGUYEN, 2002).

O ciclo de vida dos nematóides, pertencentes à família Heterorhabditidae, é semelhante ao ciclo anteriormente explicado, porém com a diferença de que os heterorhabditídeos podem penetrar pelas aberturas naturais (boca, ânus e espiráculos) e pela cutícula, através do rompimento desta. Outra diferença é o fato de que na primeira geração desenvolvem-se somente fêmeas hermafroditas, que produzem os demais estádios (ovos, J1, J2, J3 ou JI, J4). A partir da segunda geração, no hospedeiro, ocorre a formação de machos e fêmeas (ADAMS; NGUYEN, 2002).

#### **2.4.3 Controle da mosca-das-frutas com nematóides entomopatogênicos**

Vários trabalhos comprovam a eficiência dos nematóides entomopatogênicos, em condições de laboratório e campo, sobre diferentes espécies de mosca-das-frutas, tais como *Anastrepha suspensa* (BEAVERS; CALKINS, 1984), *A. ludens* (TOLEDO et al., 2005; TOLEDO et al., 2006), *A. fraterculus* (BARBOSA-NEGRISOLI et al., 2009), *Bactrocera zonata* (ATTALLA; FATMA; EWEIS, 2002), *B. oleae* (SIRJANI; LEWIS; KAYA, 2009), *Dacus curcubitae* e *D. dorsalis* (LINDEGREN; VAIL, 1986; LINDEGREN, 1990), *Rhagoletis indifferens* (STARK; LACEY, 1999; YEE; LACEY, 2003) e *R. cerasi* (KOPPLER; PETERS; VOGT, 2003).

A suscetibilidade da mosca-das-frutas *C. capitata* também já foi comprovada para várias espécies de nematóides entomopatogênicos, em condições de laboratório e campo. Nesse sentido, Lindegren; Vail (1986) e Lindegren; Wong; Mcinnis (1989) verificaram elevada virulência de *S. feltiae*, sobre a fase larval, em condições de laboratório e campo, respectivamente. Já Lindegren (1990) observou que o nematóide *S. carpocapsae* causou

mortalidade, sobre a fase larval, superior a 80%, em condições de laboratório e campo.

Grande variabilidade nas taxas de mortalidade de larvas de *C. capitata* foi verificada entre 12 isolados de *Steinernema* e *Heterorhabditis*, sendo que somente dois isolados (*S. riobrave* e *Heterorhabditis* sp.) apresentaram mortalidade superior a 80%, seis mataram mais que 30% e quatro isolados não causaram mortalidade superior a 20% (GAZIT; ROSSLER; GLAZER, 2000).

Laborda et al. (2003) estudaram a suscetibilidade de larvas e pupas de *C. capitata* ao produto Biorend C (mistura de *Steinernema* spp. e quitosan, idebio/ABF, Espanha), verificando mortalidade larval superior a 90%, sem apresentar no entanto, efeito sobre a fase de pupa. Malan; Manrakhan (2009) também observaram elevada virulência de nematóides pertencentes aos gêneros *Steinernema* e *Heterorhabditis* sobre larvas e adultos de *C. capitata* e nenhum efeito sobre a fase de pupa.

Os trabalhos referidos anteriormente demonstraram a suscetibilidade da mosca-das-frutas aos nematóides entomopatogênicos pertencentes aos gêneros *Steinernema* e *Heterorhabditis*, indicando o potencial deste grupo de entomopatógeno para o controle da praga. No entanto, são necessários mais estudos referentes ao comportamento do nematóide e às estratégias de aplicação, visando o desenvolvimento de um controle mais eficiente para mosca-das-frutas e menos prejudicial para o meio ambiente, para o produtor e para o consumidor.

## **2.5 Extratos vegetais**

### **2.5.1 Importância**

O uso de plantas, com propriedades inseticidas, é uma prática que já foi muito utilizada para o controle de insetos, até a primeira metade do século passado, período em que ocorreu a descoberta dos inseticidas organossintéticos. Essa forma de controle foi gradativamente substituída pelos inseticidas

sintéticos, devido à menor eficiência, ao maior tempo de ação e ao baixo efeito residual, em comparação aos produtos químicos (ROEL et al., 2000).

Atualmente, essa forma de controle ressurgiu como uma ótima ferramenta a ser adotada em programas de manejo integrado de pragas, pois, além da eficiência, é uma prática de fácil acesso aos produtores.

Extratos de diferentes plantas têm sido estudados para diversos insetos-praga, com resultados promissores (HERNÁNDEZ; VENDRAMIM, 1996; CARPINELLA et al., 2003; PADRÓN et al., 2003; SANTIAGO et al., 2008; TAGLIARI; KNAAK; FIUZA, 2010).

Para a mosca-das-frutas, *C. capitata*, foi avaliada somente a ação inseticida de casca-de-limão *Citrus limonia* (Rutaceae) (SALVATORE et al., 2004) e *Cestrum parqui* (Solanaceae) (ZAPPATA et al., 2006), sendo necessários novos estudos para determinar a descoberta de novas espécies com potencial para serem utilizadas na forma de extratos vegetais para o controle dessa praga.

Dentre as diversas plantas que produzem substâncias com ação inseticida, as espécies pertencentes às famílias Meliaceae, Rutaceae, Annonaceae, Asteraceae, Cannellaceae e Labiateae têm se destacado, tanto pelo número de espécies vegetais, com propriedades inseticidas, quanto pela eficiência de seus extratos (ROEL et al., 2000). Todavia, são escassos os estudos sobre o potencial inseticida para a maioria das espécies, o que implica na necessidade do desenvolvimento de pesquisas para a descoberta de novas alternativas.

### **2.5.2 Modo de ação**

Os efeitos inseticidas, de determinadas plantas e de seus extratos, ocorrem, principalmente, devido à presença de substâncias produzidas pelo metabolismo secundário do vegetal, em resposta ao ataque de insetos. Essas

substâncias podem ser encontradas nas raízes, caules, folhas, sementes e frutos, dentre as quais se destacam: os limonóides, rotenóides, piretróides alcalóides e terpenóides (MEDEIROS, 1990).

Tais substâncias podem interferir severamente no metabolismo dos insetos, causando impactos variáveis, como repelência, deterrência alimentar e de oviposição, alterações do sistema hormonal e no comportamento sexual, esterilização e interferência no desenvolvimento, podendo ou não causar a morte (MEDEIROS, 1990; FERNANDES et al., 1996; VENDRAMIM, 1997).

Ainda não existem estudos que determinam, de maneira precisa, o mecanismo de ação dos extratos sobre os insetos. No entanto, vários autores observaram que um dos principais efeitos causados é a deterrência alimentar (FERNANDES et al., 1996; CARPINELLA et al, 2003; DEFAGÓ et al., 2011).

De acordo com Mordue; Nisbet (2000), a deterrência é um distúrbio que está associado aos mecanismos sensoriais do inseto e causa redução do consumo de alimento. Para estes autores, o comportamento alimentar dos insetos depende da integração do sistema nervoso central com os quimorreceptores, localizados nos tarsos, peças bucais e cavidade oral, e de determinadas substâncias, que podem atuar sobre os quimiorreceptores, estimulando as “células deterrentes específicas” ou bloqueando os fagoestimulantes, como as “células receptoras de açúcar”, inibindo a alimentação. A redução no consumo alimentar provoca deficiência nutricional, podendo causar redução na capacidade de movimentação, atraso no desenvolvimento ou ainda, deformações no inseto (COSTA; SILVA; FIUZA, 2004).

As substâncias presentes nos extratos vegetais também podem inibir a ação de enzimas no sistema digestório (oxidases) e no sistema nervoso (colinesterases). Na primeira situação, ocorre a redução na degradação e absorção de nutrientes, enquanto na segunda interfere na contração muscular e na atividade locomotora, reduzindo o consumo alimentar do inseto. Apesar de

ser por mecanismos diferentes, a inibição das duas enzimas também pode causar a deficiência nutricional, interferindo assim, no desenvolvimento do inseto (RODRÍGUEZ; VENDRAMIM, 1996).

Outro efeito que os extratos vegetais podem causar sobre os insetos é a interferência no sistema hormonal responsável pela regulação da metamorfose e ecdise. Vários trabalhos observaram esse efeito sobre diferentes espécies de insetos (HUERTA et al., 2003; MEDINA et al., 2004; DEQUECH et al., 2008; ANDRADE-COELHO et al., 2009). Entretanto, ainda não é conhecido o mecanismo de ação desses extratos sobre o sistema hormonal dos insetos.

## **2.6 Compatibilidade entre nematóides entomopatogênicos e extratos vegetais**

Dentro de programas de manejo integrado de pragas é comum o uso de mais de uma tática de controle, desde que essas apresentem harmonia entre si e com o meio ambiente. De acordo com Pereira et al. (1998), a utilização do controle biológico, incluindo o uso de práticas culturais adequadas para promovê-lo, formam a base do manejo integrado, que pode ser complementado com a utilização de inseticidas químicos ou outras práticas de controle. Assim, a combinação de nematóides entomopatogênicos com extratos vegetais pode ser promissora.

Nesse sentido, Abdel-Rasek; Gowen (2002) e Mahmoud (2007) observaram que a combinação de nematóides entomopatogênicos com extrato de plantas de nim pode ser favorável para o controle de *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Yponomeutidae) e de *Bactrocera zonata* (Diptera: Tephritidae), indicando a compatibilidade entre os dois métodos de controle. Os autores concluíram ainda, que a associação dos dois métodos pode incrementar o controle desses insetos-praga.

No entanto, para a utilização integrada dessas formas de controle, é necessário conhecer o grau em que os nematóides podem ser afetados pelos extratos, determinando assim a compatibilidade entre as mesmas. Assim, Abdel-Rasek; Gowen (2002), Krishnayya; Grewal (2002) e Mahmoud (2007) verificaram que extratos de nim são compatíveis com diferentes nematóides entomopatogênicos. Por outro lado, Rovesti; Deseo (1989) e Ramirez et al. (2009) observaram elevada toxicidade do extrato de nim e de mostarda para os nematóides pertencentes aos gêneros *Steinernema* e *Heterorhabditis*.

Espécies de nematóides podem ser diferentes quanto à sensibilidade aos diversos extratos vegetais, sendo necessários novos estudos para avaliar a compatibilidade entre diferentes espécies de nematóides entomopatogênicos e extratos vegetais.

### 3 REFERÊNCIAS

ABDEL-RASEK, A. S.; GOWEN, S. The integrated effect to the nematode-bacteria complex and neem plant extracts against *Plutella xylostella* (L.) larvae (Lepidoptera: Yponomeutidae) on chinese cabbage. **Archive Phytopathology**, v. 35, p. 181-188, 2002.

ADAMS, B. J.; NGUYEN, K. B. Taxonomy and systematics. In: GAUGLER, R. **Entomopathogenic nematology**. Wallingford: CABI Publishing, 2002. p. 1-28.

AKHURST, R. J.; SMITH, K. Regulation and safety. In: GAUGLER, R. **Entomopathogenic nematology**. Wallingford: CABI Publishing, 2002. p. 311-332.

ALVES, S. B. Patologia e controle microbiano: vantagens e desvantagens. In: ALVES, S. B. **Controle Microbiano de Insetos**. 2. ed. Piracicaba: Fealq, 1998. v. 4, p. 21-37.

ANDRADE-COELHO, SOUZA, N. A.; GOUVEIA, C.; SILVA, V. C.; GONZALEZ, M. S.; RANGEL, E. F. Effect of fruit and leaves of meliaceae plants (*Azadirachta indica* and *Melia azedarach*) on the development of *Lutzomyia longipalpis* larvae (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) under experimental conditions. **Journal of Medical Entomology**, v. 46, n. 5, p. 1125-1130, 2009.

ATTALLA, A.; FATMA, A.; EWEIS, M. A. Preliminary investigation on the utilization of entomopathogenic nematodes as biological control agents against the peach fruit fly, *Bactrocera zonata* (Saunders) (Diptera: Tephritidae). **Egyptian Journal of Agricultural Research**, Cairo, v. 80, n. 3, p. 1045-1053, 2002.

BARBOSA-NEGRISOLI, C. R. C.; GARCIA, M. S.; DOLINSKI, C.; NEGRISOLI JR., A. S.; BERNARDI, D.; NAVA, D. E. Efficacy of indigenous entomopathogenic nematodes (Rhabditida: Heterorhabditidae, Steinernematidae), from Rio Grande do Sul Brazil, against *Anastrepha fraterculus* (Wied.) (Diptera: Tephritidae) in peach orchards. **Journal of Invertebrate Pathology**, San Diego, v. 102, n. 01, p. 6-13, May. 2009.

BATEMAN, M. A. The ecology of fruit flies. **Annual Review of Entomology**, Palo Alto, v. 17, p. 493-518, 1972.

BEAVERS, J. B.; CALKINS, C. O. Susceptibility of *Anastrepha suspense* (Diptera: Tephritidae) to steinernematid and heterorhabditid nematodes in laboratory studies. **Environmental Entomology**, Lanham, v. 13, n. 1, p. 137-139, Feb. 1984.

BOEMARE, N. Biology, taxonomy and systematic of *Photorhabdus* and *Xenorhabdus*. In: GAUGLER, R. **Entomopathogenic nematology**. Wallingford: CABI Publishing, 2002. p. 35-56.

BUENO, L. N. Las moscas de las frutas: importancia económica, aspectos taxonómicos, distribución mundial de los géneros de importancia económica. In: SEMINARIO TALLER SOBRE EL MANEJO DE LAS MOSCAS DE LAS FRUTAS EN EL DEPARTAMENTO DE ARAUCA, 1., 2000, Saravena, Colombia. **Primer...** Saravena, Colombia. 2000. p. 1-19.

CARPINELLA, M. C.; DEFAGO, M. A.; VALLADARES, G.; PALACIOS, S. M. Antifeedant and insecticide properties of a limonoid from *Melia azedarach* (Meliaceae) with potential use for pest management. **Journal of Agricultural Food Chemistry**, v. 51, p. 369-374, 2003.

CARVALHO, R. S. **Metodologia para monitoramento populacional de mosca-das-frutas em pomares comerciais**. Cruz das Almas: EMBRAPA/CNPMPF, 2005. p. 1-17. (EMBRAPA/ CNPMPF. Comunicado Técnico, n. 75).

CARVALHO, R. S.; NASCIMENTO, A. S.; MATRANGOLO, W. J. R. Controle biológico. IN: MALAVASI, A.; ZUCCHI, R. A. **Moscas-das-frutas de importância econômica no Brasil**: conhecimento básico e aplicado. Ribeirão Preto: Holos, 2000. p. 113-117.

COSTA, E. L. N.; SILVA, R. F. P.; FIUZA, L. M. Efeitos, aplicações e limitações de extratos de plantas inseticidas. **Acta Biologica Leopoldensia**, v. 26, n. 2, p. 173-185, julho/dezembro 2004.

DEFAGÓ, M. T.; DUMÓN, A.; AVALOS, D. S.; PALACIOS, S. M.; VALLADARES, G. Effects of *Melia azedarach* extract on *Cotesia ayerza*, parasitoid of the alfalfa defoliator *Colias lesbia*. **Biological Control**, v. 57, p. 75-78, 2011.

DEQUECH, S. T. B.; SAUSEN, C. D.; LIMA, C. G.; EGEWARTH, R. Efeito de extratos de plantas com atividade inseticida no controle de *Microtheca ochroloma* Stal (Col.: Chrysomelidae), em laboratório. **Biotemas**, v. 21, n. 1, p. 41-46, março 2008.

FERNANDES, W. D.; FERRAZ, J. M. G.; FERRACINI, V. L.; HABIB, M. E. M. Deterrência alimentar e toxidez de extratos vegetais em adultos de *Anthonomus grandis* Boh. (Coleoptera: Curculionidae). In: **ANAIS DA SOCIEDADE ENTOMOLÓGICA DO BRASIL**, v.25, p.553-556, 1996.

FERRAZ, L. C. C. B. Nematóides entomopatogênicos. In: ALVES, S. B. **Controle microbiano de insetos**, 2. ed. Piracicaba: Fealq, 1998. v. 4, p. 541-569.

GAZIT, Y.; ROSSLER, Y.; GLAZER, I. Evaluation of entomopathogenic nematodes for the control of mediterranean fruit fly (Diptera: Tephritidae). **Biocontrol Science and Technology**, Abingdon, v. 10, n. 2, p. 157-164, Apr. 2000.

GEORGIS, R.; HOM, A. Introduction of entomopathogenic nematode products into Latin America and the Caribbean. **Nematropical**, Auburn, v. 22, n. 1, p. 81-98, June 1992.

GEORGIS, R.; KOPPENHÖFER, A. M.; LACEY, L. A.; BÉLAIR, G.; DUNCAN, L. W.; GREWAL, P. S.; SAMISH, M.; TAN, L.; TORR, P.; van TOL, R.W.H.M. Successes and failures in the use of parasitic nematodes for pest control. **Biological Control**, San Diego, v. 38, n. 1, p. 103-123, July 2006.

GREWAL, P. S.; DE NARDO, E. A. B.; AGUILLERA, M. M. Entomopathogenic nematodes: potential for exploration and use in South America. **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 30, n. 2, p. 191-205, Apr./June 2001.

HERNÁNDEZ, C. R.; VENDRAMIM, J. D. Uso de índices nutricionales para el efecto insectistático de extratos de Meliáceas sobre *Spodoptera frugiperda*. **Manejo integrado de plagas**, v.48, p.79-88, 1998.

HUERTA, A.; MEDINA, P.; CASTAÑERA, P.; VIÑUELA, E.. Lab studies with *Trichilia havanensis* Jacq., a botanical pesticide, on adults of *Chrysoperla carnea* (Stephens). **Bull. IOBC/WPRS**, v. 26, p. 25-32, 2003.

INSTITUTO BRASILEIRO DE FRUTAS (IBRAF). Disponível em: <<http://www.ibraf.org.br/>>. Acesso em: 25 jan. 2011.

KOPPLER, K.; PETERS, A.; VOGT, H. First results of the use of entomopathogenic nematodes against the cherry fruit fly *Rhagoletis cerasi* L. **DgaaE-Nachrichten**, Stuttgart, v. 17, n. 1, p. 14-15, 2003.

KORNEYEV, V. A. Phylogenetic relationships among higher groups of Tephritidae. IN: ALUJA, M.; NORRBOM, A. L. **Fruit flies (Tephritidae): phylogeny and evolution of behavior**. Washington: CRC Press, 1999. p. 73-113.

KRISHNAYYA, P. V.; GREWAL, P. S. Effect of neem and selected fungicides on viability and virulence of the entomopathogenic nematode *Steinernema feltiae*. **Biocontrol Science and Technology**, v. 12, p. 259-266, 2002.

LABORDA, R.; BARGUES, L.; NAVARRO, C.; BARAJAS, O.; ARROYO, M.; GARCIA, E. M.; MONTORO, E.; LLOPIS, E.; MARTINEZ, A.; SAYAGUES, J. M. Susceptibility of the mediterranean fruit fly (*Ceratitis capitata*) to entomopathogenic nematode *Steinernema* spp. ("Biorend C"). **Bulletin OILB/SROP**, Dijon, v. 26, n. 6, p. 95-97, 2003.

LINDEGREN, J. E. Field suppression of three fruit fly species (Diptera: Tephritidae) with *Steinernema carpocapsae*. In: INTERNATIONAL COLLOQUIUM ON INVERTEBRATE MICROBIAL CONTROL, 5., 1990, Foz de Iguaçu. **Proceedings and abstracts...** Foz de Iguaçu, 1990. p.223.

LINDEGREN, J. E.; VAIL, P. V. Susceptibility of mediterranean fruit fly, melon fly, and oriental fruit fly (Diptera: Tephritidae) to the entomogenous nematode *Steinernema feltiae* in laboratory tests. **Environmental Entomology**, Lanham, v. 15, n. 3, p. 465-468, June 1986.

LINDEGREN, J. E.; WONG, T. T.; MCINNIS, D. O. Response of mediterranean fruit fly (Diptera: Tephritidae) to the entomogenous nematode *Steinernema feltiae* in field tests in Hawaii. **Environmental Entomology**, Lanham, v. 19, n. 2, p. 383-386, Apr. 1989.

MAHMOUD, F. Combining the botanical insecticides nsk extract, neemazal t 5%, neemix 4.5% and the entomopathogenic nematode *Steinernema feltiae* cross n 33 to control the peach fruit fly, *Bactrocera zonata* (Saunders). **Plant Protection Science**, v. 43, n. 1, p. 19-25, 2007.

- MALAVASI, A.; ZUCCHI, R. A.; SUGAYAMA, R. L. Biogeografia. In: MALAVASI, A.; ZUCCHI, R. A. **Moscas-das-frutas de importância econômica no Brasil**: conhecimento básico e aplicado. Ribeirão Preto: Holos, 2000. p. 93-98.
- MEDEIROS, A. R. M. Alelopatia: importância e suas aplicações. **Hortisul**, v.1, n.3, p.27-32, 1990.
- MALAN, A. P.; MANRAKHAN, A. Susceptibility of the Mediterranean fruit fly (*Ceratitis capitata*) and the natal fruit fly (*Ceratitis rosa*) to entomopathogenic nematodes. **Journal of Invertebrate Pathology**, San Diego, v. 100, n. 01, p. 47-49, Jan. 2009.
- MEDINA, P.; BUDIA, F.; DEL ESTAL, P.; VIÑUELA, E. Influence of azadirachtin, a botanical insecticide, on *Chrysoperla carnea* (Stephens) reproduction: toxicity and ultrastructural approach. **Journal of Economic Entomology**, v. 97, p. 43-50, 2004.
- MORDUE, A. J.; NISBET, A. J. Azadirachtin from the neem tree *Azadirachta indica*: its actions against insects. **Anais da Sociedade Entomológica Brasileira**, v. 29, p. 615-632, 2000.
- NASCIMENTO, A. S.; CARVALHO, R. S. Manejo integrado de mosca-das-frutas. IN: MALAVASI, A.; ZUCCHI, R. A. **Moscas-das-frutas de importância econômica no Brasil**: conhecimento básico e aplicado. Ribeirão Preto: Holos, 2000. p. 169-174.
- PEREIRA, R. M.; ALVES, S. B.; SOSA-GÓMEZ, D. R.; MACEDO, N. Utilização de entomopatógenos no manejo integrado de pragas. In: ALVES, S. B. **Controle Microbiano de Insetos**, 2. ed. Piracicaba: Fealq, 1998. v. 4, p. 1097-1118.
- PROKOPY, R. J.; ZIEGLER, J. R.; WONG, T. T. Y. Deterrence of repeated oviposition by fruit-marking pheromone in *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae). **Journal of Chemical Ecology**, New York, v. 4, n. 1, p. 55-63, 1978.
- RAMIREZ, R. A.; HENDERSON, D. R.; RIGA, E.; LACEY, L. A.; SNYDER, W. Harmful effects of mustard bio-fumigants on entomopathogenic nematodes. **Biological Control**, v. 48, n. 147-154, 2009.

- RODRÍGUEZ, C.H.; VENDRAMIM, J.D. Toxicidad de extractos acuosos de Meliaceae en Spodoptera frugiperda (Lepidoptera: Noctuidae). **Manejo Integrado de Plagas**, v.42, p.14-22, 1996.
- ROEL, A. R.; VENDRAMIM, J. D.; FRIGHETTO, R. T. S.; FRIGHETTO, N. Atividade tóxica de extratos orgânicos de *Trichilia pallida* Swartz (Meliaceae) sobre *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith). **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v.29, p.799-808, 2000.
- ROHDE, C.; MOINO JR., A.; SILVA, M. A. T.; CARVALHO, F. D.; FERREIRA, C. S. Influence of soil temperature and moisture on the infectivity of entomopathogenic nematodes (Rhabditida: Heterorhabditidae e Steinernematidae) against larvae of *Ceratitis capitata* (Wiedemann) (Diptera: Tephritidae). **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 39, n. 04, p. 608-611, Aug. 2010.
- ROVESTI, L.; DESEO, K.K. Effect of neem kernel extract on Steinernematid and Heterorhabditid nematodes. **Nematologica**, v. 35, p. 493- 496, 1989.
- SALDANHA, L. A.; SILVA, N. M. Metodologia de criação de larvas de *Anastrepha obliqua* (Macquart, 1835) (Diptera: Tephritidae) em dieta semi-artificial. **Florida Entomologist**, Gainesville, v. 82, n. 1, p. 82-87, Mar. 1999.
- SALLES, L. A. B. **Bioecologia e controle da mosca-das-frutas sul-americana**. Pelotas: EMBRAPA, 1995. 58 p.
- SALVATORE, A.; BORKOSKY, S.; WILLINK, E.; BARDÓN, A. Toxic effects of lemon peel constituents on *Ceratitis capitata*. **Journal of Chemical Ecology**, v. 30, n. 2, Feb. 2004.
- SANTIAGO, G. P.; PÁDUA, L. E. M.; SILVA, P. R. R.; CARVALHO, E. M. S.; MAIA, C. B. Efeitos de extratos de plantas na biologia de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) mantida em dieta artificial. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 32, n. 3, p. 792-796, maio/jun., 2008
- SELIVON, D. Relações com plantas hospedeiras. In: MALAVASI, A.; ZUCCHI, R. A. **Moscas-das-frutas de importância econômica no Brasil: conhecimento básico e aplicado**. Ribeirão Preto: Holos, 2000. p. 87-91.

SHAPIRO-ILAN, D. I.; GOUGE, D. H.; PIGGOTT, S. J.; FIFE, J. P. Applications technology and environmental considerations for use of entomopathogenic nematodes in biological control. **Biological Control**, San Diego, v. 38, n. 1, p. 124-133, July 2006.

SIRJANI, F. O.; LEWIS, E. E.; KAYA, H. K. Evaluation of entomopathogenic nematodes against the olive fruit fly *Bactrocera oleae* (Diptera: Tephritidae). **Biological Control**, San Diego, v. 38, n. 1, p. 124-133, July 2009.

SOUZA, H. M. L.; CYTRYNOWICZ, M.; MORGANTE, J. S.; PAVAN, O. H. Occurrence of *Anastrepha fraterculus* (Wied.), *Ceratitis capitata* (Wied.) and *Silba* spp. eggs in ovoposition bores on three host fruits. **Revista Brasileira de Entomologia**, Curitiba, v. 27, n. 3/4, p. 191-195, dez. 1983.

SOUZA FILHO, M. F. Mosca-das-frutas. In: REUNIÃO ITINERANTE DE FITOSSANIDADE DO INSTITUTO BIOLÓGICO: Frutas, 7., 2002, Indaiatuba. **Anais...** Indaiatuba: Instituto Biológico, 2002. p. 14-23.

STARK, J. E. P.; LACEY, L. A. Susceptibility of western cherry fruit fly (Diptera: Tephritidae) to five species of entomopathogenic nematodes in laboratory studies. **Journal of Invertebrate Pathology**, San Diego, v. 74, n. 2, p. 206-208, Sept. 1999.

TAGLIARI, M. S.; KNAAK, N.; FIUZA, L. M. efeito de extratos de plantas na mortalidade de lagartas de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae). **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v.77, n.2, p.259-264, abr./jun., 2010

TOLEDO, J.; IBARRA, J. E.; LIEDO, P.; GÓMEZ, A.; RASGADO, M. A.; WILLIAMS, T. Infection of *Anastrepha ludens* (Diptera: Tephritidae) larvae by *Heterorhabditis bacteriophora* (Rhabditida: Heterorhabditidae) under laboratory and field conditions. **Biocontrol Science and Technology**, Abingdon, v. 15, n. 6, p. 627-634, Sept. 2005.

TOLEDO, J.; RASGADO, M. A.; IBARRA, J. E.; GÓMEZ, A.; LIEDO, P.; WILLIAMS, T. Infection of *Anastrepha ludens* following soil applications of *Heterorhabditis bacteriophora* in a mango orchard. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, Dordrecht, v.119, n. 2, p. 155-162, May 2006.

VASCONCELOS, G. J. N.; GODIN JUNIOR, M. G. C.; BARROS, R. Extratos aquosos de *Leucaena leucocephala* e *Sterculia foetida* no controle de *Bemisia tabaci* biótipo B (Hemíptera: Aleyrodidae). **Ciência Rural**, v.36, n.5, p.1353-1359, 2006.

VENDRAMIM, J.D. Uso de plantas inseticidas no controle de pragas. In: CICLO DE PALESTRAS SOBRE AGRICULTURA ORGÂNICA, 2., 1997, São Paulo, SP. **Anais...** São Paulo: Fundação Cargill, 1997. p.64-69.

WHITE, I. A.; ELSON-HARRIS, M. M. The classification of Tephritid fruit flies. In: White, I. A.; Elson-Harris, M. M. **Fruit flies of economic significance: their identification and bionomics**. Australia: CAB International, 1992a. p. 44-52.

WHITE, I. A.; ELSON-HARRIS, M. M. Introduction. In: WHITE, I. A.; ELSON-HARRIS, M. M. **Fruit flies of economic significance: their identification and bionomics**, Australia: CAB International, 1992b. p. 1-14.

YEE, W. L.; LACEY, L. A.. Stage-specific mortality of *Rhagoletis indifferens* (Diptera: Tephritidae) exposed to three species of *Steinernema* nematodes. **Biological Control**, San Diego, v. 27, n. 3, p. 349-356, July 2003.

ZAPPATA, N.; BUDIA, F.; VINUELA, E.; MEDINA, P. Insecticidal effects of various concentrations of selected extractions of *Cestrum parqui* on adult and immature *Ceratitis capitata*. **Journal of Economic Entomology**, College Park, v. 99, n. 2 p. 359-365, 2006.

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

ZUCCHI, R. A. Mosca-do-mediterrâneo, *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae). In: VILELA, E. F.; ZUCCHI, R. A.; CANTOR, F. **Histórico e impacto das pragas introduzidas no Brasil**. Ribeirão Preto: Holos, 2001. p. 15-22.

**ARTIGO 1**

**AVALIAÇÃO DE NEMATÓIDES ENTOMOPATOGÊNICOS PARA O  
CONTROLE DA MOSCA-DAS-FRUTAS *Ceratitidis capitata*  
(WIEDEMANN) (DIPTERA: TEPHRITIDAE)**

## RESUMO

A mosca-das-frutas é considerada uma das principais pragas da fruticultura mundial, acarretando perdas significativas para este setor, devido aos danos diretos e indiretos que ocasiona. Este inseto passa uma fase de sua vida no solo, sendo alvo em potencial para nematóides entomopatogênicos. Os objetivos desse trabalho foram avaliar a melhor concentração de *Steinernema carpocapsae* ALL e *Heterorhabditis* sp. JPM4 para controle de *Ceratitidis capitata* (Diptera: Tephritidae), determinar a capacidade de deslocamento horizontal e o comportamento ao longo do tempo desses entomopatógenos, bem como a eficiência dos mesmos quando aplicados sobre o solo descoberto ou com cobertura vegetal seca para o controle dessa praga. Para a avaliação da melhor concentração foram utilizadas placas com papel filtro ou vasos com 200 g de solo. Para cada recipiente foram transferidos 20 indivíduos (larvas ou pupas) e aplicada a suspensão dos nematóides nas concentrações 0, 140, 180, 220, 260 e 300 JI/cm<sup>2</sup>. Para avaliação do deslocamento horizontal, foram utilizados vasos contendo solo e a cada 10 cm de distância foi colocada uma tela de metal, para delimitar as diferentes áreas (0, 10, 20 e 30 cm do local de aplicação do nematóide). Para cada área, foram transferidas 10 larvas e 10 pupas. Na distância zero, foram aplicados 10 mL de suspensão dos nematóides contendo 31500 JI. Para o estudo da eficiência desses nematóides, ao longo do tempo, em cada vaso foram aplicados 10 mL de suspensão de nematóide com 220 JI/cm<sup>2</sup> e, em cada período, (0, 10, 20 e 30 dias pós-aplicação do nematóide) foram transferidas 10 larvas e 10 pupas. Foi avaliada ainda a eficiência desses entomopatógenos aplicados sobre o solo descoberto e com cobertura vegetal seca. Para cada vaso, foram transferidas 10 larvas e 10 pupas e aplicados 10 mL de suspensão, com 220 JI/cm<sup>2</sup>. Verificou-se que os dois nematóides causaram mortalidade sobre larvas e pupas de *C. capitata*, sendo que *S. carpocapsae* ALL

foi mais eficiente. Porém, esse nematóide não apresentou capacidade de deslocamento horizontal, característica essa observada para *Heterorhabditis* sp. JPM4. Ambos os nematóides tiveram sua eficiência reduzida ao longo do tempo e foram eficazes no controle dessa praga, quando aplicados em solo sem cobertura ou com cobertura vegetal seca.

**Palavras-chave:** Mosca-do-mediterrâneo, *Steinernema carpocapsae*, *Heterorhabditis* sp., controle biológico.

## ABSTRACT

The fruit fly is considered as one of the major pests of fruit production worldwide, causing significant losses for this sector. This insect has a phase in the soil, and is a potential target for entomopathogenic nematodes. This work had aims to evaluate the optimal concentration of *Steinernema carpocapsae* ALL and *Heterorhabditis* sp. JPM4 for the control of *Ceratits capitata* (Diptera: Tephritidae), to determine the capacity of horizontal displacement and behavior of these entomopathogens for a certain time, as well as their efficiency when applied on bare soil or with dry vegetation to control this pest. To assess the optimal concentration, plates with filter paper or 200 g pots with soil were used. For each container, 20 individuals (larvae or pupae) were transferred and the suspension of nematodes was applied at concentrations of 0,140, 180, 220, 260 and 300 JI/cm<sup>2</sup>. To evaluate the horizontal displacement, pots containing soil were used and at each 10 cm, it was placed a metal screen to define the different areas (0, 10, 20 and 30 cm from the site of application of nematode). For each area, 10 larvae and 10 pupae were transferred. At zero distance, it was applied 10 mL of nematodes suspension containing 31500 JI. To study the effectiveness of these nematodes over time, 10 mL of nematode suspension with 220 JI/cm<sup>2</sup> were applied to each pot and in each period (0, 10, 20 and 30 days post-nematode application) 10 larvae and 10 pupae were transferred. It was also evaluated the effectiveness of these entomopathogens applied over bare soil and with dry vegetation. For each pot 10 larvae and 10 pupae were transferred and 10 mL of 220 JI/cm<sup>2</sup> suspension were applied. It was found that the two nematodes caused mortality on larvae and pupae of *C. capitata*, and *S. carpocapsae* ALL was more effective. However, this nematode showed no ability for horizontal displacement which is the feature observed for *Heterorhabditis* sp. JPM4. Both nematodes had their efficiency reduced over

time and were effective against this pest when applied to soil without vegetation or with dry vegetation.

**Keywords:** Mediterranean fly; *Steinernema carpocapsae*; *Heterorhabditis* sp.; Biological control.

## 1 INTRODUÇÃO

A mosca-das-frutas é considerada uma das principais pragas da fruticultura mundial, acarretando perdas significativas para este setor. Os danos causados por esta praga na fruticultura podem ser diretos, quando ocorrem em consequência da oviposição, realizada pelas fêmeas nos frutos, e o consumo da polpa dos frutos pelas larvas, e também indiretos, quando facilitam a entrada de microrganismos no fruto. Além disso, são consideradas pragas quarentenárias, o que acarreta limitação do livre trânsito de frutas frescas pelas restrições impostas por medidas quarentenárias dos países importadores (WHITE; ÉLSON-HARRIS, 1992b; BUENO, 2000; MALAVASI, 2000).

Dentre as espécies de mosca-das-frutas, destaca-se a *Ceratitis capitata* (Wiedemann) (mosca-do-mediterrâneo), por ser a espécie mais cosmopolita e invasora, com ocorrência em todas as regiões biogeográficas do mundo, sendo, consequentemente, a espécie que mais causa danos à fruticultura em todo o mundo (ZUCCHI, 2001).

Atualmente, o controle da mosca-do-mediterrâneo pode ser realizado por meio de métodos culturais, métodos mecânicos, técnica do inseto estéril, controle legislativo, biológico e químico, sendo esse último o mais utilizado (NASCIMENTO; CARVALHO, 2000). Porém, esta forma de controle, tanto em pulverização em cobertura quanto em isca tóxica, contribui de forma acentuada para o desequilíbrio do agroecossistema, atingindo os inimigos naturais e outros organismos não alvos, além de deixar resíduos tóxicos nos frutos, prejudicando a comercialização e o consumo do fruto *in natura*.

Nematóides entomopatogênicos, pertencentes às famílias Heterorhabditidae e Steinernematidae, são considerados excelentes agentes de controle biológico, devido a elevada eficiência, seletividade aos inimigos naturais, inocuidade ao meio ambiente e aos demais seres vivos, incluindo o homem, sendo um ótimo recurso a ser utilizado como componente do manejo

integrado de pragas (GEORGIS et al., 2006; SHAPIRO-ILAN et al., 2006). Esses entomopatógenos demonstram maior potencialidade para o controle de insetos-praga de solo e de ambientes crípticos, como é o caso da mosca-das-frutas, que possui o comportamento de abandonar o fruto e penetrar no solo para desenvolvimento das pupas, permitindo a ação do entomopatógeno.

Nesse sentido, trabalhos foram desenvolvidos, em condição de laboratório e campo, para determinar a eficiência de diferentes espécies e isolados de nematóides entomopatogênicos sobre as diferentes fases de desenvolvimento de *C. capitata*, sendo observada elevada suscetibilidade deste inseto (LINDEGREN; VAIL, 1986; LINDEGREN; WONG; MCINNIS, 1989; LINDEGREN, 1990; GAZIT; ROSSLER; GLAZER, 2000; LABORDA et al., 2003; MALAN; MANRAKHAN, 2009; ROHDE et al., 2010).

No entanto, são necessários ainda, estudos para determinar as melhores condições e estratégias de aplicação para obter a máxima eficiência desses entomopatógenos no controle da mosca-das-frutas *C. capitata*. Assim, os objetivos desse trabalho foram avaliar a melhor concentração de *Steinernema carpocapsae* ALL e *Heterorhabditis* sp. JPM4, para controle de larvas e pupas de *C. capitata*, determinar a capacidade de deslocamento horizontal e o comportamento ao longo do tempo desses entomopatógenos, bem como a eficiência dos mesmos quando aplicados sobre o solo descoberto ou com cobertura vegetal seca para o controle dessa praga.

## **2 MATERIAL E MÉTODOS**

### **2.1 Criação de *C. capitata***

Para o início da criação, foram utilizadas pupas provenientes do Centro de Energia Nuclear na Agricultura – CENA (Piracicaba, SP). A criação foi mantida em condições controladas de temperatura de  $25 \pm 2^\circ\text{C}$ , umidade relativa

de  $70 \pm 10\%$  e fotofase de 12 horas, segundo metodologia proposta por Silva (1990).

## **2.2 Obtenção dos nematóides entomopatogênicos**

Para a realização dos bioensaios, foram utilizados os isolados *Heterorhabditis* sp. JPM4 (originário de Minas Gerais, Brasil) e *S. carpocapsae* ALL (originário da Carolina do Norte, EUA). A multiplicação dos nematóides foi realizada por meio do método *in vivo*, adaptado a partir de Woodring; Kaya (1988), utilizando-se lagartas de último ínstar de *Galleria mellonella* (Lepidoptera: Pyralidae).

## **2.3 Avaliação da concentração de nematóides entomopatogênicos sobre larvas e pupas de *C. capitata*, em placa, em condições de laboratório**

Para o bioensaio com larvas, estas foram padronizadas no final do 3º instar. Já para as pupas, o bioensaio foi realizado em duas etapas, sendo avaliado o efeito do nematóide sobre pupas novas (0 a 2 dias de idade) e pupas velhas (6 a 8 dias de idade). Para cada placa de Petri (9 cm de diâmetro) contendo duas folhas de papel filtro, foram transferidos 20 indivíduos (larvas, pupas novas ou pupas velhas) e aplicado 1 mL de suspensão de nematóide. Os tratamentos foram: *Heterorhabditis* sp. JPM4 ou *S. carpocapsae* ALL nas concentrações 0, 140, 180, 220, 260 e 300 juvenis infectivos (JI)/cm<sup>2</sup>. As concentrações foram determinadas em estudos preliminares. No tratamento testemunha, foi aplicado 1 mL de água destilada. Os bioensaios foram realizados em delineamento experimental inteiramente casualizado, com sete repetições, cada uma constituída de uma placa de Petri. As placas foram mantidas em câmara climatizada ( $25 \pm 1^\circ\text{C}$ , UR  $70 \pm 10\%$ , 12h de fotofase). A avaliação foi realizada após cinco dias e a confirmação da mortalidade foi realizada por meio da observação da sintomatologia (cadáveres infectados por *Steinernema* sp.

apresentam coloração marrom escura e aqueles infectados por *Heterorhabditis* sp. exibem coloração vermelha) e da dissecação dos cadáveres. Os dados foram submetidos à análise de variância (teste F) e as médias estudadas por meio de regressão ( $P \leq 0,05$ ), utilizando-se o programa estatístico Sisvar (FERREIRA, 2000).

#### **2.4 Avaliação da concentração de nematóides entomopatogênicos sobre larvas e pupas de *C. capitata*, em solo, condições de laboratório e casa-de-vegetação**

Os tratamentos estudados foram: *Heterorhabditis* sp. JPM4 ou *S. carpocapsae* ALL nas concentrações 0, 140, 180, 220, 260 e 300 juvenis infectivos (JI)/cm<sup>2</sup>. Para cada tratamento foram utilizadas sete repetições, cada uma constituída de um vaso plástico (capacidade para 1L), contendo 200g de solo esterilizado (latossolo com umidade inicial padronizada em 25%). No bioensaio em laboratório, para cada vaso foram transferidas 20 larvas no final do 3º instar ou 20 pupas com idade entre 6 e 8 dias, no bioensaio, em casa-de-vegetação, foram utilizadas 10 larvas no final do 3º instar e 10 pupas com idade entre 6 e 8 dias. Foram aplicados 10 mL de suspensão do nematóide e no tratamento testemunha, foram aplicados 10 mL de água destilada. Os vasos foram mantido em câmara climatizada ( $25 \pm 1^\circ\text{C}$ , UR  $70 \pm 10\%$ , 12h de fotofase) ou casa-de-vegetação, em delineamento inteiramente casualizado. A umidade foi repostada quando necessário, de maneira uniforme entre as repetições. A avaliação e a análise dos dados foram realizadas seguindo o mesmo procedimento do bioensaio anterior.

#### **2.5 Deslocamento horizontal de nematóides entomopatogênicos**

Foi avaliada a capacidade de deslocamento de *Heterorhabditis* sp. JPM4 ou *S. carpocapsae* ALL nas distâncias de 0, 10, 20 e 30 cm do local de aplicação

do nematóide. Foram utilizadas seis repetições por tratamento, cada uma constituída de um vaso plástico (40 cm de comprimento × 13 cm de largura × 11 cm de altura), contendo solo esterilizado (solo do tipo latossolo, com umidade inicial padronizada em 25%, cobrindo aproximadamente 3 cm do fundo do vaso). A cada 10 cm de distância, foi colocada uma tela de metal (60 mesh), que permite a passagem ao nematóide, mas impede a passagem de larvas de *C. capitata*, para delimitar as diferentes áreas (0, 10, 20 e 30 cm do local de aplicação do nematóide). Em cada área, foram adicionadas 10 larvas no final do 3º instar e 10 pupas com idade entre 6 e 8 dias. Na distância zero, foi realizada a aplicação de 10 mL de suspensão de nematóide (*Heterorhabditis* sp. JPM4 ou *S. carpocapsae* ALL), contendo 31500 JI. No tratamento testemunha, foram aplicados 10 mL de água destilada. Os vasos foram acondicionados em casa-de-vegetação, em delineamento inteiramente casualizado. Após 10 dias da aplicação do nematóide, foi feita a avaliação do bioensaio e a análise dos dados, seguindo o mesmo procedimento do bioensaio anterior.

## **2.6 Avaliação da eficiência de nematóides entomopatogênicos sobre larvas e pupas de *C. capitata* ao longo do tempo**

Foi avaliada a eficiência de *Heterorhabditis* sp. JPM4 ou *S. carpocapsae* ALL no controle de larvas e pupas de *C. capitata* ao 0, 10, 20 e 30 dias pós-aplicação do nematóide. Foram utilizadas sete repetições por tratamento, cada uma constituída de um vaso plástico (capacidade para 1L), contendo 200 g de solo esterilizado (latossolo com umidade inicial padronizada em 25%). Em cada vaso, foram aplicados 10 mL de suspensão de nematóide (*Heterorhabditis* sp. JPM4 ou *S. carpocapsae* ALL), com 220 JI/cm<sup>2</sup>. No tratamento testemunha, foram aplicados 10 mL de água destilada. Os vasos foram mantidos em casa-de-vegetação em delineamento inteiramente casualizado, sendo feita a irrigação quando necessário, de maneira uniforme entre as repetições. Em cada período de

avaliação (0, 10, 20 ou 30 dias pós-aplicação do nematóide), foram transferidas 10 larvas no final do 3º instar e 10 pupas com idade entre 6 e 8 dias, para cada repetição. A avaliação foi realizada após cinco dias da infestação com os insetos, seguindo o mesmo procedimento descrito no bioensaio anterior, sendo que em cada período de avaliação, foram analisadas amostras diferentes (sete repetições por nematóide por período de avaliação), que em seguida foram descartadas. A análise dos dados também foi realizada seguindo o mesmo procedimento do bioensaio anterior.

### **2.7 Avaliação da eficiência de nematóides entomopatogênicos sobre larvas e pupas de *C. capitata* aplicados diretamente sobre o solo ou sobre o solo com cobertura seca**

Foi avaliada a eficiência de *Heterorhabditis* sp. JPM4 ou *S. carpocapsae* ALL aplicados sobre o solo sem cobertura vegetal ou com cobertura vegetal seca (palhada de aveia preta). Foram utilizadas sete repetições por tratamento, cada uma constituída de um vaso plástico (capacidade para 1 L), contendo 200 g de solo esterilizado (latossolo com umidade inicial padronizada em 25%), descoberto ou com cobertura vegetal seca. Para cada vaso, foram transferidas 10 larvas no final do 3º instar e 10 pupas com idade entre 6 e 8 dias, após, foram aplicados 10 mL de suspensão de nematóides (*Heterorhabditis* sp. JPM4 ou *S. carpocapsae* ALL), com 220 JI/cm<sup>2</sup>. No tratamento testemunha, foram aplicados 10 mL de água destilada. Os vasos foram mantidos em casa-de-vegetação em delineamento inteiramente casualizado. A avaliação e a análise dos dados foram realizadas seguindo o mesmo procedimento do bioensaio anterior.

### 3 RESULTADOS DE DISCUSSÃO

#### 3.1 Avaliação da concentração de nematóides entomopatogênicos sobre larvas e pupas de *C. capitata*, em placa, em condições de laboratório

Verificou-se que *S. carpocapsae* ALL causou mortalidade em larvas e pupas de diferentes idades de *C. capitata*, em todas as concentrações estudadas, sendo a fase larval a mais suscetível, com mortalidade variando entre 50 e 71% (Figura 1A). Já sobre pupas novas, esse nematóide causou mortalidade entre 21 e 50% (Figura 1B) e, sobre pupas velhas, mortalidade variando entre 15 e 43% (Figura 1C).

Na fase larval, a mortalidade foi diretamente proporcional ao aumento da concentração do nematóide até a aplicação de 260 JI/cm<sup>2</sup>, que causou uma mortalidade máxima igual a 71,15%. Na fase de pupa de diferentes idades (nova e velha), a mortalidade foi diretamente proporcional a todas as concentrações estudadas.

A redução da mortalidade de larvas, quando expostas a concentrações superiores à 260 JI/cm<sup>2</sup> de *S. carpocapsae* ALL, provavelmente ocorreu devido a competições intraespecíficas do nematóide. Segundo Gaugler; Wang; Campbell (1994), quando um hospedeiro é infectado por nematóides entomopatogênicos é necessário um número mínimo de nematóides para superar o sistema imunológico do hospedeiro e colonizá-lo, causando sua mortalidade. No entanto, quando este número de nematóides é extrapolado, ocorre competição intraespecífica, comprometendo a sobrevivência, o desenvolvimento e a reprodução dos nematóides, reduzindo a virulência dos mesmos (SELVAN; CAMPBELL; GAUGLER, 1993).

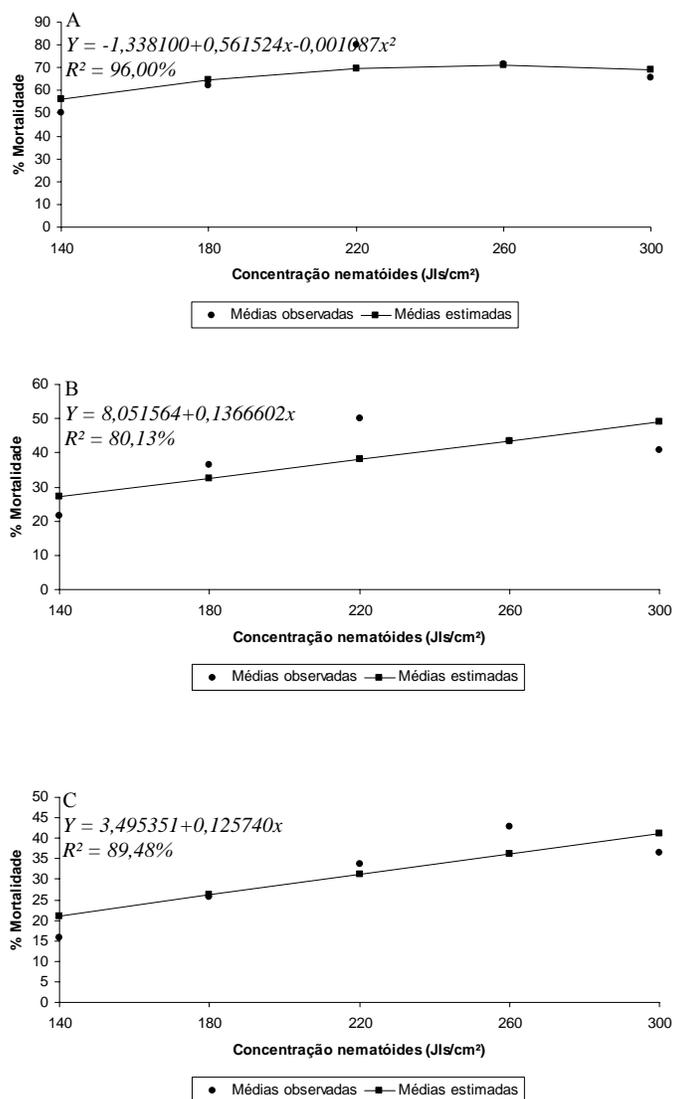


Figura 1 Mortalidade média de larvas (A), pupas novas (B) e pupas velhas (C) de *Ceratitits capitata*, após cinco dias da exposição à diferentes concentrações de *Steinernema carpocapsae* ALL, em placas de Petri, em condições de laboratório ( $25 \pm 1^\circ\text{C}$ , UR  $70 \pm 10\%$ , 12h de fotofase).

O nematóide *Heterorhabditis* sp. JPM4 também causou mortalidade em larvas e pupas de diferentes idades de *C. capitata*, em todas as concentrações estudadas. De maneira semelhante ao observado para *S. carpocapsae* ALL, a fase larval foi a mais suscetível, com mortalidade variando entre 24 e 60% (Figura 2A). A mortalidade de pupas novas variou entre 28 e 54% (Figura 2B) e de pupas velhas variou entre 11 e 44% (Figura 2C). Independente da fase de *C. capitata*, a mortalidade causada por *Heterorhabditis* sp. JPM4 foi diretamente proporcional ao aumento da concentração do nematóide.

O nematóide *S. carpocapsae* ALL foi mais virulento para a fase larval de *C. capitata* quando comparado ao *Heterorhabditis* sp. JPM4. Por outro lado, *Heterorhabditis* sp. JPM4 causou maior mortalidade sobre a fase de pupa em relação ao *S. carpocapsae* ALL.

A elevada eficiência de *S. carpocapsae* ALL contra a fase larval pode estar relacionada ao tamanho relativamente reduzido dos juvenis infectantes, que varia 438 e 650  $\mu\text{m}$  (ADAMS; NGUYEN, 2002), o que facilita o modo de penetração dos steinernematídeos, que ocorre através das aberturas naturais do hospedeiro (espiráculos, boca e ânus). Já a menor eficiência sobre a fase de pupa se deve ao comportamento do nematóide, que se caracteriza como um estrategista *Ambusher* (SIRJANI; LEWIS; KAYA, 2009). Nesse sentido, Lewis et al. (2006) ressaltam que os nematóides estrategistas *Ambusher* (ficam à espreita do hospedeiro até o momento em que este se aproxima para realizar o ataque) são mais efetivos para encontrar hospedeiros com alta mobilidade, enquanto que os estrategistas *Cruiser* (se locomovem em busca do hospedeiro) apresentam maior probabilidade de encontrar hospedeiros que possuem hábitos crípticos ou sedentários.

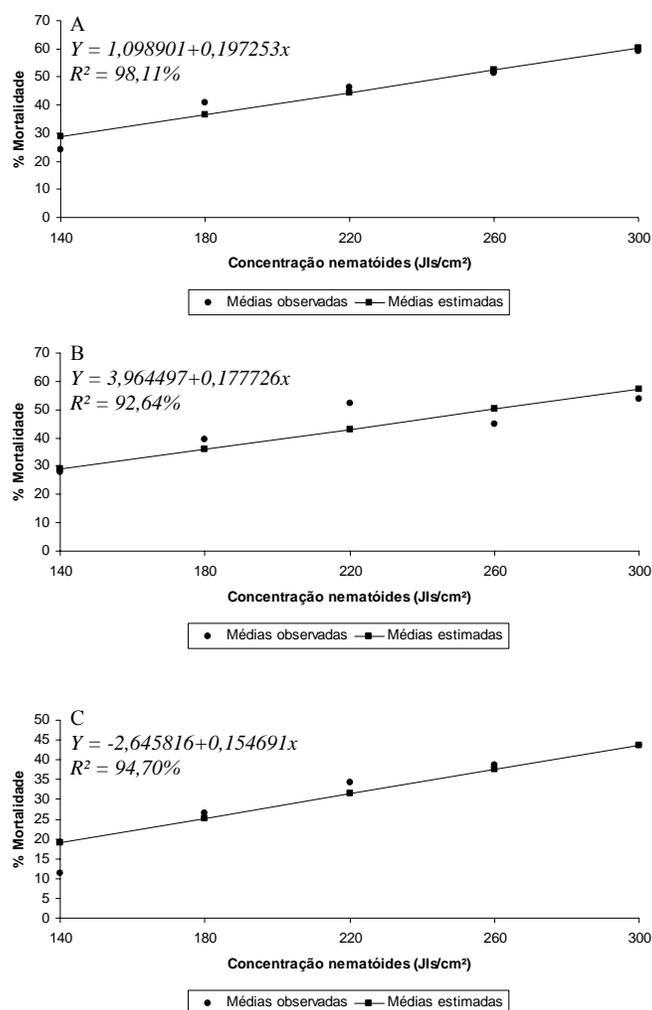


Figura 2 Mortalidade média de larvas (A), pupas novas (B) e pupas velhas (C) de *Ceratitidis capitata*, após cinco dias da exposição à diferentes concentrações de *Heterorhabditis* sp. JPM4, em placas de Petri, em condições de laboratório ( $25 \pm 1^\circ\text{C}$ , UR  $70 \pm 10\%$ , 12h de fotofase).

A eficiência de *S. carpocapsae* ALL sobre larvas de mosca-das-frutas, em condições de laboratório, já foi observada em outros trabalhos. Rohde (2007) e Lindegren (1990) observaram mortalidade superior a 90,0% para larvas de *C. capitata*. Resultados semelhantes foram obtidos por Sirjani; Lewis; Kaya (2009)

para *Bactrocera oleae* (Diptera: Tephritidae), por Attalla; Fatma; Ewwis (2002) para *B. zonata* e por Yee; Lacey (2003) para *Rhagoletis indifferens* (Diptera: Tephritidae). Já Stark; Lacey (1999) e Koppler; Peters; Vogt (2003) obtiveram resultados semelhantes aos do presente trabalho para larvas *R. indifferens* (mortalidade de 73,0 e 83,0%) e *R. cerasi* (mortalidade de 54,0 e 70,0%), respectivamente.

Rohde (2007) também avaliou a eficiência de *S. carpocapsae* ALL sobre a fase de pupa de *C. capitata* e obteve mortalidade de 20,0% quando aplicado 200 JI/inseto, o equivalente a 100 JI/cm<sup>2</sup>. Esse resultado é superior aos obtidos no presente trabalho, que teve mortalidade de 21,0 e 15,0% para pupas novas e pupas velhas, respectivamente, quando aplicados 140 JI/cm<sup>2</sup>. Provavelmente essa diferença se deve a diferentes populações do inseto utilizadas nos bioensaios, já que foi utilizado o mesmo isolado do nematóide e a mesma metodologia experimental.

Em relação ao isolado *Heterorhabditis* sp. JPM4, são necessários, ainda, estudos de identificação, não sendo possível utilizar informações referentes aos aspectos morfológicos e comportamentais desse nematóide para explicar como ocorre o processo de infecção sobre os insetos.

A eficiência de *Heterorhabditis* sp. JPM4 contra *C. capitata* também foi observada por Rohde (2007), que obteve mortalidade de 40,0 e 41,3% para larvas e pupas, respectivamente, quando aplicado 200 JI/inseto (equivalente a 100 JI/cm<sup>2</sup>). Igualmente visto para *S. carpocapsae* ALL, esses resultados são superiores aos aqui obtidos, que foram iguais a 24,0; 28,0 e 11,0% de mortalidade para larvas, pupas novas e pupas velhas, respectivamente, quando aplicados 140 JI/cm<sup>2</sup>.

Para ambos os nematóides estudados, foi observada maior virulência sobre a fase larval em relação à fase de pupa (nova e velha) de *C. capitata*. A maior suscetibilidade de larvas aos nematóides entomopatogênicos pode estar

relacionada à grande locomoção desta fase, com maior liberação de CO<sub>2</sub>, composto químico liberado pelo hospedeiro responsável por atrair o nematóide entomopatogênico (LEWIS et al., 2006). Além disso, as grandes aberturas naturais do corpo da larva, no caso de *Steinernema* e *Heterorhabditis*, e o tegumento pouco esclerotizado (quando comparado à fase de pupa), no caso de *Heterorhabditis*, facilitam a infecção do inseto pelo nematóide. Já a menor suscetibilidade das pupas pode estar relacionada ao pequeno tamanho das aberturas dos espiráculos, que dificulta a penetração do nematóide ou ainda, como consequência da pupa estar protegida por um pupário esclerotizado, dificultando a penetração do mesmo (YEE; LACEY, 2003; TOLEDO et al., 2005).

Trabalhos semelhantes realizados com *C. capitata* também relatam a maior suscetibilidade de larvas em relação à fase de pupa (ROHDE, 2007). Já Attalla; Fatma; Ewwis (2002) e Barbosa-Negrisoni et al. (2009) observaram níveis semelhantes de suscetibilidade de larvas e pupas de *B. zonata* e *Anastrepha fraterculus* (Diptera: Tephritidae), respectivamente, quando expostas à diferentes nematóides entomopatogênicos, com mortalidade superior a 90%. Discordando desses resultados, em estudos realizados com *C. capitata*, *C. rosa* (LABORTA et al., 2003; MALAN; MANRAKHAN, 2009), *A. suspensa* (BEAVERS; CALKINS, 1984) e *R. indifferens* (YEE; LACEY, 2003), expostas à diferentes espécies e isolados de *Steinernema* e *Heterorhabditis*, observou-se nenhuma ou baixa (até 1% de mortalidade) suscetibilidade da fase de pupa ao nematóide.

Verificou-se que a maioria das larvas de *C. capitata* expostas ao nematóide morreu na fase de pupa. Este fato também foi observado por Lindgren; Vail (1986) ao avaliarem a suscetibilidade de larvas de *C. capitata*, *D. cucurbitae* e *D. dorsalis* à *S. carpocapsae*, por Stark; Lacey (1999) e Yee; Lacey (2003) ao testarem a eficiência de diferentes steinernematídeos e

heterorhabditídeos sobre larvas de *R. indifferens*, e por Sirjani; Lewis; Kaya (2009) estudando a suscetibilidade de *Bactrocera oleae* à nematóides entomopatogênicos.

### 3.2 Avaliação da concentração de nematóides entomopatogênicos sobre larvas e pupas de *C. capitata*, em solo, em condições de laboratório e casa-de-vegetação

Em condições de laboratório, a mortalidade de larvas e pupas de *C. capitata* foi diretamente proporcional ao aumento da concentração em ambos os nematóides estudados (Figuras 3 e 4).

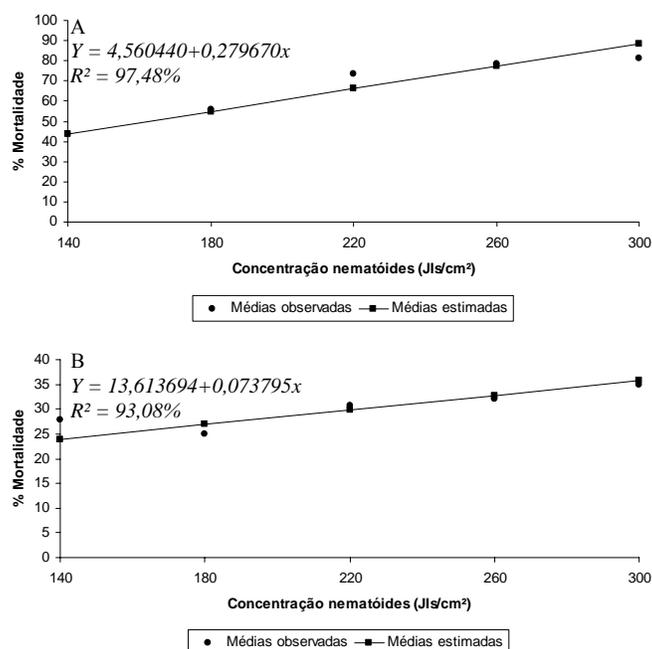


Figura 3 Mortalidade média de larvas (A) e pupas (B) de *Ceratitidis capitata*, após cinco dias da exposição à diferentes concentrações de *Steinernema carpocapsae* ALL, em solo, em condições de laboratório.

O nematóide *S. carpocapsae* ALL causou mortalidade entre 44 e 82% para larvas e 27 e 35% para pupas de *C. capitata*. No entanto, para a fase de pupa, houve elevada mortalidade no tratamento testemunha (13%), por isso, foi calculada a mortalidade corrigida pela fórmula de Abbott (1925). Assim, a mortalidade corrigida de pupas foi de 17,24; 13,79; 20,69; 22,99 e 25,29% , quando expostas às concentrações de 140, 180, 220, 260 e 300JI/cm<sup>2</sup>, respectivamente.

Já o nematóide *Heterorhabditis* sp. JPM4 causou mortalidade entre 22 e 57% para larvas e 13 e 35% para pupas. Para a fase de pupa, a mortalidade no tratamento testemunha foi de apenas 5%, no entanto, também foi calculada a mortalidade corrigida pela fórmula de Abbott (1925), para melhor comparação dos resultados entre os nematóides. Dessa forma, a mortalidade corrigida de pupas foi de 8,42; 24,21; 29,47; 28,42 e 31,58% , quando expostas às concentrações de 140, 180, 220, 260 e 300JI/cm<sup>2</sup>, respectivamente.

A infectividade de ambos os nematóides, sobre a fase larval, foi semelhante, quando estes foram inoculados na maior concentração em placa (*S. carpocapsae* ALL - 80%, *Heterorhabditis* sp. JPM4 - 60%) ou em solo (*S. carpocapsae* ALL - 82%, *Heterorhabditis* sp. JPM4 - 57%), em condições de laboratório. Porém, sobre a fase de pupa em solo, houve uma redução de aproximadamente 40 e 30% na mortalidade, quando expostas à *S. carpocapsae* ALL e *Heterorhabditis* sp. JPM4, respectivamente, em relação aos resultados obtidos em placa.

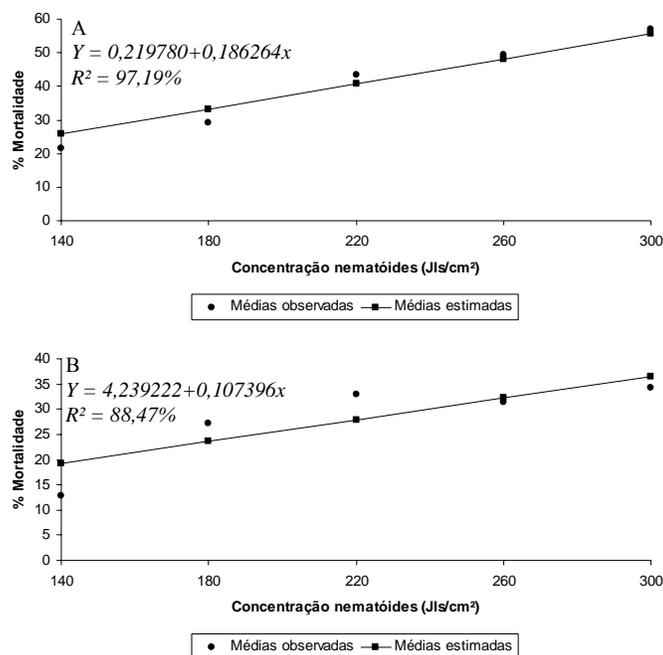


Figura 4 Mortalidade média de larvas (A) e pupas (B) de *Ceratitis capitata*, após cinco dias da exposição à diferentes concentrações de *Heterorhabditis* sp. JPM4 em solo, em condições de laboratório.

Em condições de casa-de-vegetação, foi observado o mesmo comportamento para ambos os nematóides estudados, sendo a mortalidade de *C. capitata* diretamente proporcional ao aumento da concentração dos nematóides (Figuras 5). Também foi verificada maior virulência de *S. carpocapsae* ALL em relação ao *Heterorhabditis* sp. JPM4, confirmando os resultados obtidos em condições de laboratório.

Os nematóides *S. carpocapsae* ALL e *Heterorhabditis* sp. JPM4 causaram mortalidade máxima de 66,0 e 46,0%, respectivamente, quando aplicados na maior concentração do nematóide (300 JI/cm²) sobre larvas e pupas de *C. capitata*. A eficiência desses nematóides, em condições de casa-de-vegetação, foi aproximadamente 20% inferior, em relação aos resultados obtidos sobre larvas em solo em condições de laboratório.

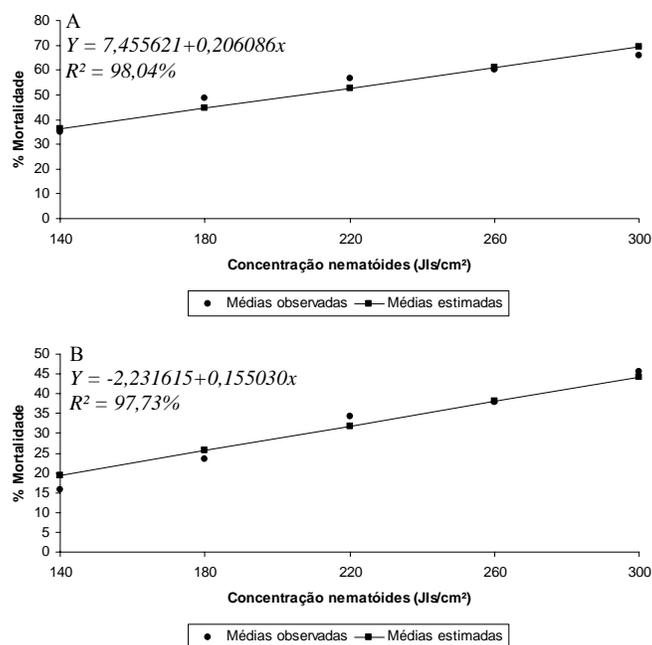


Figura 5 Mortalidade média de larvas e pupas de *Ceratitis capitata*, após cinco dias da exposição à diferentes concentrações de *Steinernema carpocapsae* ALL (A) e *Heterorhabditis* sp. JPM4 (B), em solo, em condições de casa-de-vegetação.

Essa diferença ocorreu devido ao fato de que nos bioensaios conduzidos em laboratório, foi avaliada a eficiência dos nematóides separadamente sobre larvas e pupas de *C. capitata*, já em casa-de-vegetação foi avaliada a ação desses entomopatógenos sobre as duas fases juntas. Como visto anteriormente nesse trabalho, a fase de pupa é menos suscetível, reduzindo assim a mortalidade em relação ao bioensaio conduzido apenas com a fase larval.

Outro fator que pode ter contribuído para essa redução na mortalidade é a temperatura ambiente, que interfere diretamente na temperatura do solo. Foram observadas variações na temperatura no interior da casa-de-vegetação, ao longo do período de execução do bioensaio, sendo registrada temperatura mínima de 10°C e máxima de 33°C. Vários trabalhos observaram que a viabilidade e

infectividade dos nematóides entomopatogênicos são influenciadas pela temperatura, apresentando de maneira geral, melhor atividade na faixa de temperatura de 18° e 28°C (LONG; RICHARDSON; FENLON, 2000; HAZIR et al., 2001; EBSSA; BORGEMEISTER; POEHLING, 2003; SUBRAMANIAN, 2004). De maneira geral, o nematóide *S. carpocapsae* apresentou maior virulência quando mantido em temperaturas variando entre 20° e 30°C (YUL et al., 2002; CHEN; HAN; MOENS, 2003; HUSSAINI; SHAKEELA; DAR, 2005; ROHDE et al., 2010). Para nematóides pertencentes ao gênero *Heterorhabditis* El-Sadawy (2001), observou maior virulência quando mantidos a 25°C.

Avaliando a eficiência de *S. carpocapsae* sobre larvas de *R. indifferens*, em condições de campo, Yee; Lacey (2003) obtiveram mortalidade de 79,0 e 67,5%, quando aplicados 50 e 100JI/cm<sup>2</sup>, respectivamente. Resultados esses superiores aos obtidos no presente trabalho, provavelmente por maior suscetibilidade dessa espécie de mosca-das-frutas e/ou maior virulência do isolado utilizado (*S. carpocapsae*, isolado SAL).

Em todos os testes de concentração de *S. carpocapsae* ALL e *Heterorhabditis* sp. JPM4, exceto quando o primeiro nematóide foi aplicado sobre larvas em placas de Petri, a virulência foi diretamente proporcional ao aumento da concentração do entomopatógeno, indicando assim, a necessidade de avaliar o efeito de concentrações maiores que as estudadas no presente trabalho, para o controle de *C. capitata*. Porém, deve-se levar em conta que o uso de concentrações muito elevadas, principalmente para grandes áreas agrícolas, se torna inviável economicamente, e também em relação à disponibilização do produto, sendo mais vantajosa a associação de subdosagens do produto com outros métodos de controle, dentro de programas de manejo integrado da praga.

### 3.3 Deslocamento horizontal de nematóides entomopatogênicos

O nematóide *S. carpocapsae* ALL causou mortalidade sobre larvas e pupas de *C. capitata* somente na área em que foi aplicado (distância 1 – 0 cm). Nas demais áreas, foi observada baixa mortalidade e ausência do nematóide nos cadáveres de mosca-das-frutas, indicando que o nematóide não teve capacidade de deslocamento horizontal para atingir as distâncias estudadas (Tabela 1).

Tabela 1 Mortalidade média ( $\pm$ EP) de larvas e pupas de *Ceratitis capitata* expostas à diferentes distâncias do local de aplicação do nematóide *Steinernema carpocapsae* ALL, em condições de casa-de-vegetação.

Tratamento	Mortalidade média (%) <sup>1</sup>
Distância 1 (0cm)	71,67 $\pm$ 11,29
Distância 2 (10cm)	2,50 $\pm$ 1,61
Distância 3 (20cm)	0,00 $\pm$ 0,00
Distância 4 (30cm)	1,67 $\pm$ 1,05

<sup>1</sup>Dados não ajustados para o estudo das médias através de regressão.

Nematóides pertencentes à espécie *S. carpocapsae* são estrategistas *Ambusher*, ou seja, ficam à espreita do hospedeiro até o momento em que este se aproxima para realizar o ataque, apresentando menor mobilidade e maior efetividade contra hospedeiros com alta mobilidade (LEWIS et al., 2006). Nesse sentido, Morton; García-del-Pino (2009) avaliaram a capacidade de deslocamento vertical desse nematóide e observaram maior concentração de juvenis infectivos na superfície do solo em relação as camadas mais profundas, confirmando a baixa capacidade de migração do entomopatógeno.

Ennis; Dillon; Griffin (2010) também observaram maior concentração de *S. carpocapsae* na superfície do solo, no entanto, esses autores verificaram que a capacidade de migração desse nematóide pode aumentar na presença de raízes de plantas, sugerindo que essas podem servir como uma rota física para o encontro entre o nematóide e o inseto hospedeiro. Foi verificado ainda, maior migração do nematóide na presença do inseto hospedeiro alimentando-se das

raízes de plantas.

Já o nematóide *Heterorhabditis* sp. JPM4 causou mortalidade sobre larvas e pupas de *C. capitata* na área em que foi aplicado (distância 1 – 0 cm) e a 10 cm de distância (distância 2) (Tabela 2). Assim, como observado para *S. carpocapsae* ALL, nas demais distâncias, foi observada baixa mortalidade e ausência do nematóide nos cadáveres de mosca-das-frutas.

São necessários estudos para determinar a estratégia de busca do hospedeiro de *Heterorhabditis* sp. JPM4. Mas os resultados aqui obtidos indicam a capacidade de migração desse nematóide, sendo esse um comportamento mais frequente entre os estrategistas *Cruiser*, que se locomovem em busca do hospedeiro.

Tabela 2 Mortalidade média ( $\pm$ EP) de larvas e pupas de *Ceratitis capitata* expostas às diferentes distâncias do local de aplicação do nematóide *Heterorhabditidae* sp. JPM4, em condições de casa-de-vegetação.

Tratamento	Mortalidade média (%) <sup>1</sup>
Distância 1 (0cm)	50,00 $\pm$ 4,06
Distância 2 (10cm)	25,83 $\pm$ 4,54
Distância 3 (20cm)	1,67 $\pm$ 1,00
Distância 4 (30cm)	0,00 $\pm$ 0,00

<sup>1</sup>Dados não ajustados para o estudo das médias através de regressão.

Os resultados desse trabalho não são conclusivos em relação à distância atingida no deslocamento horizontal por *Heterorhabditis* sp. JPM4, uma vez que foi avaliada apenas a virulência do nematóide e não a taxa de recuperação do mesmo em cada distância. Além disso, a avaliação do bioensaio foi feita apenas 10 dias após a inoculação do nematóide. Esse período pode ter sido insuficiente para o nematóide atingir maiores distâncias. Del Valle; Dolinski; Souza (2008) avaliaram a capacidade de deslocamento de *Heterorhabditis baujardi* LPP7 aplicado no solo na forma de cadáver infectado e observaram maior taxa de

recuperação de juvenis infectivos somente após cinco semanas da aplicação do cadáver infectado e à 90cm do local de aplicação do mesmo.

### 3.4 Avaliação da eficiência de nematóides entomopatogênicos sobre larvas e pupas de *C. capitata* ao longo do tempo

Verificou-se que tanto para *S. carpocapsae* ALL quanto para *Heterorhabditis* sp. JPM4 a virulência reduziu de acordo com o aumento do período pós-aplicação do nematóide (Figura 7).

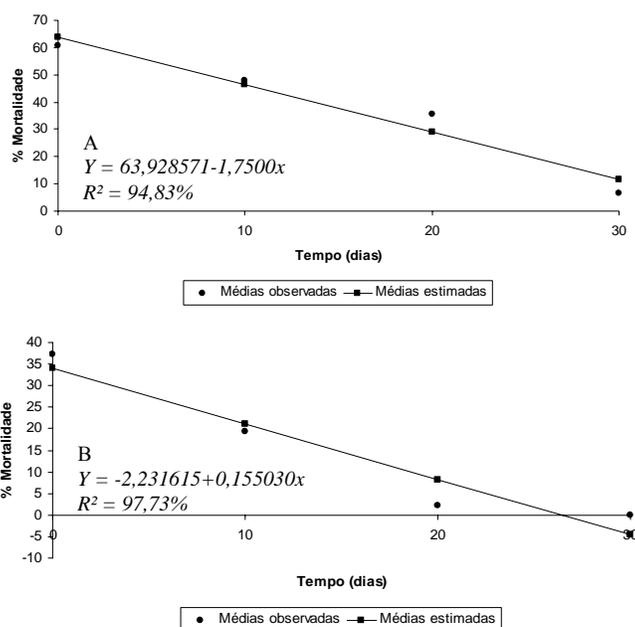


Figura 7 Virulência de *Steinernema carpocapsae* ALL (A) e *Heterorhabditis* sp. JPM4 (B) sobre larvas e pupas de *Ceratitidis capitata* em diferentes dias após aplicação do nematóide, em solo, em condições de casa-de-vegetação.

No entanto, para *S. carpocapsae* ALL, a redução na virulência foi mais gradual ao longo do tempo, com queda de 23, 41 e 89% aos 10, 20 e 30 dias pós-aplicação, respectivamente. Já para *Heterorhabditis* sp. JPM4, a redução nesse

parâmetro foi mais acentuada, apresentando queda de aproximadamente 50, 94 e 100% aos 10, 20 e 30 dias, respectivamente.

Vários fatores podem afetar a persistência, mobilidade, desenvolvimento e reprodução de nematóides entomopatogênicos ao longo do tempo, influenciando assim na infectividade desses entomopatógenos sobre seus hospedeiros. Dentre esses fatores, destacam-se a temperatura, a umidade e a radiação ultravioleta que, em condições extremas, reduzem principalmente a sobrevivência dos juvenis infectivos, afetando os demais parâmetros (STUART et al., 2006).

A faixa ótima de temperatura, umidade e radiação ultravioleta, para melhor atividade do nematóide entomopatogênico, varia de acordo com a espécie e o isolado do indivíduo. No entanto, de maneira geral, esses entomopatógenos apresentam melhor infectividade em áreas com temperatura ambiente entre 18° e 28°C (LONG; RICHARDSON; FENLON, 2000; HAZIR et al., 2001; EBSSA; BORGEMEISTER; POEHLING, 2003; SUBRAMANIAN, 2004), umidade do solo, que permite a formação de um filme de água livre entre as partículas do solo, impedindo a dissecação e permitindo a locomoção e sobrevivência dos nematóides (GLAZER, 2002), além de baixa exposição à radiação ultravioleta (HAZIR et al. 2003).

No presente trabalho, a umidade parece não ter sido um fator responsável pela redução da virulência do nematóide, já que os solos tiveram sua umidade inicial padronizada em 25%, a qual foi mantida ao longo do bioensaio, por meio de irrigação do solo. Esse valor de umidade foi utilizado por ter sido a condição em que *S. carpocapsae* ALL teve a melhor eficiência sobre larvas de *C. capitata*, em bioensaios realizados por Rohde et al. (2010).

Já a temperatura pode ter influenciado na virulência do nematóide, devido às grandes variações observadas ao longo do bioensaio, sendo registrada mínima de 7°C e máxima de 32°C. Além disso, a grande exposição à radiação

ultravioleta também pode ter afetado o desempenho do entomopatógeno. Gaugler et al. (1992) observaram que *S. carpocapsae* é menos suscetível à desidratação e à radiação ultravioleta do que espécies pertencentes ao gênero *Heterorhabditis*, podendo ser essa a explicação para uma redução na virulência mais gradual observada para *S. carpocapsae* ALL, em relação ao *Heterorhabditis* sp. JPM4.

Outro fator que pode ter contribuído para a redução na virulência dos nematóides, ao longo do tempo, foi a ausência de hospedeiros, já que esses só foram transferidos para o solo no período de cada avaliação (0, 10, 20 ou 30 dias após a aplicação). Segundo Brust (1991) a falta de hospedeiros adequados pode ser a causa da baixa persistência de nematóides entomopatogênicos em solos.

Apesar da alta persistência do entomopatógeno no ambiente ser uma característica desejada em programas de controle biológico, Fenton et al. (2000) ressaltam que nematóides entomopatogênicos são mais adequados para um controle a curto prazo, devido a incapacidade de regular a sua própria população, em função da população do hospedeiro, além da elevada sensibilidade a diversos fatores abióticos. No entanto, diversos trabalhos têm comprovado a elevada persistência de diversas espécies de nematóides entomopatogênicos, em condições de campo (CAMPBELL et al.; 1998; DEL VALLE; DOLINSKI; SOUZA, 2008).

Para *S. carpocapsae* ALL e *Heterorhabditis* sp. JPM4 são necessários novos estudos, em condições de campo, na presença de insetos-hospedeiros, para verificar o tempo máximo de persistência e virulência dos nematóides, possibilitando assim, a determinação do intervalo entre as aplicações desse entomopatógeno para o controle da mosca-das-frutas.

### 3.5 Avaliação da eficiência de nematóides entomopatogênicos sobre larvas e pupas de *C. capitata* aplicados diretamente sobre o solo ou sobre o solo com cobertura seca

Ambos os nematóides estudados causaram mortalidade sobre larvas e pupas de *C. capitata* tanto no solo sem cobertura quanto no solo coberto com palhada. *S. carpocapsae* ALL causou maior mortalidade quando aplicado no solo com cobertura (Tabela 3), já *Heterorhabditis* sp. JPM4 apresentou a mesma eficiência nas duas condições (Tabela 4).

Tabela 3 Mortalidade média ( $\pm$ EP) de *Ceratitis capitata*, após cinco dias da aplicação de *Steinernema carpocapsae* ALL, em solo infestado com larvas e pupas da mosca-das-frutas, com e sem cobertura vegetal seca, em condições de casa-de-vegetação.

Tratamento	Mortalidade média (%) <sup>1</sup>
Testemunha - solo sem cobertura	3,57 $\pm$ 1,80c
Testemunha - solo com cobertura	5,71 $\pm$ 2,02c
<i>S. carpocapsae</i> All - solo sem cobertura	54,29 $\pm$ 2,30b
<i>S. carpocapsae</i> All - solo com cobertura	60,71 $\pm$ 1,70a
CV (%)	16,75

<sup>1</sup>Dados originais apresentados, transformados em  $\arcsen\sqrt{x/100}$  para análise.

Tabela 4 Mortalidade média ( $\pm$ EP) de *Ceratitis capitata*, após cinco dias da aplicação de *Heterorhabditidae* sp. JPM4, em solo infestado com larvas e pupas da mosca-das-frutas, com e sem cobertura vegetal seca, em condições de casa-de-vegetação.

Tratamento	Mortalidade média (%) <sup>1</sup>
Testemunha - solo sem cobertura	0,00 $\pm$ 0,00b
Testemunha - solo com cobertura	2,14 $\pm$ 1,49b
<i>Heterorhabditidae</i> sp. JPM4 - solo sem cobertura	46,43 $\pm$ 2,61a
<i>Heterorhabditidae</i> sp. JPM4 - solo com cobertura	44,29 $\pm$ 3,52a
CV (%)	22,65

<sup>1</sup>Dados originais apresentados, transformados em  $\arcsen\sqrt{x/100}$  para análise.

A maior eficiência de *S. carpocapsae* ALL, em solo com cobertura, pode estar relacionada ao fato de que a palhada mantém um microclima no solo,

com temperaturas mais amenas e umidade mais elevada, condições essas mais favoráveis para uma maior virulência do nematóide (YUL et al., 2002; CHEN; HAN; MOENS, 2003; HUSSAINI; SHAKEELA; DAR, 2005; ROHDE et al., 2010). Alguns trabalhos comprovam esse efeito da palhada sobre a temperatura e umidade do solo (BRAGAGNOLO; MIELNICZUK, 1990; TORRES et al., 2006).

Com os resultados desse trabalho pode-se concluir que *S. carpocapsae* ALL e *Heterorhabditis* sp. JPM4 são eficientes para o controle de larvas e pupas de *C. capitata*, com destaque para o primeiro nematóide. O uso da concentração de 220 JI/cm<sup>2</sup> desses entomopatógenos causa uma redução considerável na população dessa praga, sendo necessário, no entanto, a integração com outros métodos, dentro de um programa de manejo integrado, para um controle mais eficiente. A aplicação desses agentes de controle deve ser feita de maneira uniforme na área infestada com a praga, já que apresentam capacidade de migração restrita, podendo ser realizada sobre o solo sem cobertura ou com cobertura vegetal seca. São necessários novos estudos para confirmar a eficiência desses entomopatógenos, em condições de campo, para o controle dessa praga.

#### 4 REFERÊNCIAS

- ABBOTT, W. S. A method of computing the effectiveness of an insecticide. **Journal of Economic Entomology**, College Park, v. 18, p. 265-266, 1925.
- ADAMS, B. J.; NGUYEN, K. B. Taxonomy and systematics. In: GAUGLER, R. **Entomopathogenic nematology**. Wallingford: CABI Publishing, 2002. p. 1-28.
- ATTALLA, A.; FATMA, A.; EWEIS, M. A. Preliminary investigation on the utilization of entomopathogenic nematodes as biological control agents against the peach fruit fly, *Bactrocera zonata* (Saunders) (Diptera: Tephritidae). **Egyptian Journal of Agricultural Research**, Cairo, v. 80, n. 3, p. 1045-1053, 2002.
- BARBOSA-NEGRISOLI, C. R. C.; GARCIA, M. S.; DOLINSKI, C.; NEGRISOLI JR., A. S.; BERNARDI, D.; NAVA, D. E. Efficacy of indigenous entomopathogenic nematodes (Rhabditida: Heterorhabditidae, Steinernematidae), from Rio Grande do Sul Brazil, against *Anastrepha fraterculus* (Wied.) (Diptera: Tephritidae) in peach orchards. **Journal of Invertebrate Pathology**, San Diego, v. 102, n. 01, p. 6-13, May. 2009.
- BEAVERS, J. B.; CALKINS, C. O. Susceptibility of *Anastrepha suspense* (Diptera: Tephritidae) to steinernematid and heterorhabditid nematodes in laboratory studies. **Environmental Entomology**, Lanham, v. 13, n. 1, p. 137-139, Feb. 1984.
- BRAGAGNOLO, L.; MIELNICZUK, J. Cobertura do solo por palha de trigo e seu relacionamento com a temperatura e umidade do solo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Campinas, v. 14, p. 369-374, 1990.
- BUENO, L. N. Las moscas de las frutas: importancia económica, aspectos taxonómicos, distribución mundial de los géneros de importancia económica. In: SEMINARIO TALLER SOBRE EL MANEJO DE LAS MOSCAS DE LAS FRUTAS EN EL DEPARTAMENTO DE ARAUCA, 1., 2000, Saravena, Colombia. **Primer...** Saravena, Colombia. 2000. p. 1-19.
- CAMPBELL, J. F.; ORZA, G.; YODER, F.; LEWIS, E.; GAUGLER, R. Spatial and temporal distribution of endemic and released entomopathogenic nematode populations in turfgrass. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v. 86, n. 1, p. 1-11, 1998.

CHEN, S.; LI, J.; HAN, X.; MOENS, M. Effect of temperature on the pathogenicity of entomopathogenic nematodes (*Steinernema* and *Heterorhabditis* spp.) to *Delia radicum*. **BioControl**, Dordrecht, v.48, n. 6, p. 713-724, Dec. 2003.

DEL VALLE, E. E.; DOLINSKI, C.; SOUZA, R. M. Dispersal of *Heterorhabditis baujardi* LPP7 (Nematoda: Rhabditida) applied to the soil as infected host cadavers. **International Journal of Pest Management**, v. 54, n. 2, p. 115-122, April/June, 2008.

EBSSA, L.; BORGEMEISTER, C.; POEHLING, H. M. Effects of host density and temperature on the efficacy of entomopathogenic nematodes for the control of western flower thrips (*Frankliniella occidentalis*). **DGaaE-Nachrichten**, Stuttgart, v.17, n. 1, p. 25-26, 2003.

EL-SADAWY, H. A. Effect of temperature and soil moisture on the infectivity of some entomopathogenic nematodes against larvae of the rice moth and flesh fly. **International Journal of Nematology**, v. 11. n. 1. p. 58-62, 2001.

ENNIS, D. E.; DILLON, A. B.; GRIFFIN, C. T. Simulated roots and host feeding enhance infection of subterranean insects by the entomopathogenic nematodes *Steinernema carpocapsae*. **Journal of Invertebrate Pathology**, San Diego, v. 103, n. 2, p. 140-143, 2010.

FENTON, A.; NORMAN, R.; FAIRMAIRN, J. P.; HUDSON, P. J. Modelling the efficacy of entomopathogenic nematodes in the regulation of invertebrate pests in glasshouse crops. **Journal of Applied Ecology**, v. 37, p. 309-320, 2000.

FERREIRA, D. F. Análise estatística por meio do SISVAR (Sistema para Análise de Variância) para Windows versão 4.0. In: Reunião Anual da Região Brasileira da Sociedade Internacional de Biometria. **Anais...** São Carlos: UFSCar, p. 255-258, 2000.

GAUGLER, R.; CAMPBELL, J. F.; SELVAN, S.; LEWIS, E. E. Large-scale inoculative releases of the entomopathogenic nematode *Steinernema glaseri*: Assessment 50 years later. **Biological Control**, San Diego, v. 2, n. 2, p. 181-187, July 1992.

GAUGLER, R.; WANG, Y.; CAMPBELL, J.F. Aggressive and evasive behaviors in *Popillia japonica* (Coleoptera: Scarabaeidae) larvae: defences against entomopathogenic nematode attack. **Journal of Invertebrate Pathology**, San Diego, v. 64, n. 3, p. 193-199, Nov. 1994.

GAZIT, Y.; ROSSLER, Y.; GLAZER, I. Evaluation of entomopathogenic nematodes for the control of mediterranean fruit fly (Diptera: Tephritidae). **Biocontrol Science and Technology**, Abingdon, v. 10, n. 2, p. 157-164, Apr. 2000.

GEORGIS, R.; KOPPENHÖFER, A. M.; LACEY, L. A.; BÉLAIR, G.; DUNCAN, L. W.; GREWAL, P. S.; SAMISH, M.; TAN, L.; TORR, P.; VAN TOL, R.W.H.M. Successes and failures in the use of parasitic nematodes for pest control. **Biological Control**, San Diego, v. 38, n. 1, p. 103-123, July 2006.

GLAZER, I. Survival biology. In: GAUGLER, R. **Entomopathogenic Nematology**. Wallingford: CABI Publishing, 2002. p. 205-220.

HAZIR, S.; STOCK, S. P.; KAYA, H. K.; KOPPENHÖFER, A. M.; KESKIN, N. Developmental temperature effects on five geographic isolates of the entomopathogenic nematode *Steinernema feltiae* (Nematoda: Steinernematidae). **Journal of Invertebrate Pathology**, San Diego, v. 77, n. 4, p. 243-250, May 2001.

HAZIR, S.; KAYA, H. K.; STOCK, P.; KESKIN, N. Entomopathogenic nematodes (Steinernematidae and Heterorhabditidae) for biological control of soil pests. **Turk Journal Biological**. v. 27, n. 02, p. 181-202, 2003.

HUSSAINI, S. S.; SHAKEELA, V.; DAR, M. H. Influence of temperature on infectivity of entomopathogenic nematodes against black cutworm, *Agrotis ipsilon* (Hufnagel and greater wax moth, *Galleria mellonella* (Linnaeus) larvae). **Journal of Biological Control, Beijing**, v.19, n. 1, p. 51-57, 2005.

KOPPLER, K.; PETERS, A.; VOGT, H. First results of the use of entomopathogenic nematodes against the cherry fruit fly *Rhagoletis cerasi* L. **DgaaE-Nachrichten**, Stuttgart, v. 17, n. 1, p. 14-15, 2003.

LABORDA, R.; BARGUES, L.; NAVARRO, C.; BARAJAS, O.; ARROYO, M.; GARCIA, E. M.; MONTORO, E.; LLOPIS, E.; MARTINEZ, A.; SAYAGUES, J. M. Susceptibility of the mediterranean fruit fly (*Ceratitis capitata*) to entomopathogenic nematode *Steinernema* spp. ("Biorend C"). **Bulletin OILB/SROP**, Dijon, v. 26, n. 6, p. 95-97, 2003.

LEWIS, E. E.; CAMPBELL, J.; GRIFFIN, C.; KAYA, H.; PETERS, A. Behavioral ecology of entomopathogenic nematodes. **Biological Control**, San Diego, v. 38, n. 1, p. 66-79, July 2006.

LINDEGREN, J. E. Field suppression of three fruit fly species (Diptera: Tephritidae) with *Steinernema carpocapsae*. In: INTERNATIONAL COLLOQUIUM ON INVERTEBRATE MICROBIAL CONTROL, 5., 1990, Foz de Iguaçu. **Proceedings and abstracts...** Foz de Iguaçu, 1990. p. 223.

LINDEGREN, J. E.; VAIL, P. V. Susceptibility of mediterranean fruit fly, melon fly, and oriental fruit fly (Diptera: Tephritidae) to the entomogenous nematode *Steinernema feltiae* in laboratory tests. **Environmental Entomology**, Lanham, v. 15, n. 3, p. 465-468, June 1986.

LINDEGREN, J. E.; WONG, T. T.; MCINNIS, D. O. Response of mediterranean fruit fly (Diptera: Tephritidae) to the entomogenous nematode *Steinernema feltiae* in field tests in Hawaii. **Environmental Entomology**, Lanham, v. 19, n. 2, p. 383-386, Apr. 1989.

LONG, S. J.; RICHARDSON, P. N.; FENLON, J. S. Influence of temperature on the infectivity of entomopathogenic nematodes (*Steinernema* and *Heterorhabditis* spp.) to larvae and pupae of the vine weevil *Otiorhynchus sulcatus* (Coleoptera: Curculionidae). **Nematology**, Leiden, v. 2, n. 3, p. 309-317, 2000.

MALAN, A. P.; MANRAKHAN, A. Susceptibility of the Mediterranean fruit fly (*Ceratitis capitata*) and the natal fruit fly (*Ceratitis rosa*) to entomopathogenic nematodes. **Journal of Invertebrate Pathology**, San Diego, v. 100, n. 01, p. 47-49, Jan. 2009.

MALAVASI, A.; ZUCCHI, R. A.; SUGAYAMA, R. L. Biogeografia. In: , A.; ZUCCHI, R. A. **Moscas-das-frutas de importância econômica no Brasil: conhecimento básico e aplicado**. Ribeirão Preto: Holos, 2000. p. 93-98.

MORTON, A.; GARCÍA-DEL-PINO, F. Ecological characterization of entomopathogenic nematodes isolated in stone fruit orchard soils of mediterranean areas. **Journal of Invertebrate Pathology**, San Diego, v. 102, n. 03, p. 203-213, Aug. 2009.

NASCIMENTO, A. S.; CARVALHO, R. S. Manejo integrado de mosca-das-frutas. IN: MALAVASI, A.; ZUCCHI, R. A. **Moscas-das-frutas de importância econômica no Brasil: conhecimento básico e aplicado**. Ribeirão Preto: Holos, 2000. p. 169-174.

ROHDE, C. **Avaliação de nematóides entomopatogênicos (Rhabditida) para o controle da mosca-das-frutas *Ceratitis capitata* (Wiedemann) (Diptera: Tephritidae)**. 2007. 63 f. Dissertação (Mestrado em Entomologia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG, 2007.

ROHDE, C.; MOINO JR., A.; SILVA, M. A. T.; CARVALHO, F. D.; FERREIRA, C. S. Influence of soil temperature and moisture on the infectivity of entomopathogenic nematodes (Rhabditida: Heterorhabditidae e Steinernematidae) against larvae of *Ceratitis capitata* (Wiedemann) (Diptera: Tephritidae). **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 39, n. 04, p. 608-611, Aug. 2010.

SALDANHA, L. A.; SILVA, N. M. Metodologia de criação de larvas de *Anastrepha obliqua* (Macquart, 1835) (Diptera: Tephritidae) em dieta semi-artificial. **Florida Entomologist**, Gainesville, v. 82, n. 1, p. 82-87, Mar. 1999.

SELVAN, S.; CAMPBELL, J.F.; GAUGLER, R. Density-dependent effects on entomopathogenic nematodes (Heterorhabditidae and Steinernematidae) within an insect host. **Journal of Invertebrate Pathology**, San Diego, v. 62, n. 3, p. 278-284, Nov. 1993.

SHAPIRO-ILAN, D. I.; GOUGE, D. H.; PIGGOTT, S. J.; FIFE, J. P. Applications technology and environmental considerations for use of entomopathogenic nematodes in biological control. **Biological Control**, San Diego, v. 48, n. 1, p. 274-280, July 2009.

SILVA, A. C. **Efeito inseticida, deterrente e suppressor alimentar de alguns extratos vegetais sobre *Ceratitis capitata* (Wiedemann, 1824) (Diptera: Tephritidae) e *Ascia monuste orseis* (Latreille, 1819) (Lepidoptera: Pieridae) em laboratório**. 1990. 129 f. Tese (Doutorado em Entomologia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG, 1990.

SIRJANI, F. O.; LEWIS, E. E.; KAYA, H. K. Evaluation of entomopathogenic nematodes against the olive fruit fly *Bactrocera oleae* (Diptera: Tephritidae). **Biological Control**, San Diego, v. 38, n. 1, p. 124-133, July 2009.

STARK, J. E. P.; LACEY, L. A. Susceptibility of western cherry fruit fly (Diptera: Tephritidae) to five species of entomopathogenic nematodes in laboratory studies. **Journal of Invertebrate Pathology**, San Diego, v. 74, n. 2, p. 206-208, Sept. 1999.

STUART, R. J.; BARBERCHECK, M. E.; GREWAL, P. S.; TAYLOR, R. A. J.; HOY, C. W. Population biology of entomopathogenic nematodes: concepts, issues, and models. **Biological Control**, San Diego, v. 38, n. 1, p. 80-102, July 2006.

SUBRAMANIAN, S.; SENTHAMIZH, K. Effects of moisture on the efficacy of nematodes. **Current Nematology**, Allahabad, v. 15, n. 1/2, p. 65-67, 2004.

TORRES, J. L. R.; FABIAN, A. J.; PEREIRA, M. G.; ADRIOLI, I. Influência de plantas de cobertura na temperatura e umidade do solo na rotação milho-soja em plantio direto. **Revista Brasileira Agrociência**, Pelotas, v. 12, n. 1, p. 107-113, jan./mar, 2006.

TOLEDO, J.; IBARRA, J. E.; LIEDO, P.; GÓMEZ, A.; RASGADO, M. A.; WILLIAMS, T. Infection of *Anastrepha ludens* (Diptera: Tephritidae) larvae by *Heterorhabditis bacteriophora* (Rhabditida: Heterorhabditidae) under laboratory and field conditions. **Biocontrol Science and Technology**, Abingdon, v. 15, n. 6, p. 627-634, Sept. 2005.

WHITE, I. A.; ELSON-HARRIS, M. M. Introduction. In: WHITE, I. A.; ELSON-HARRIS, M. M. **Fruit flies of economic significance: their identification and bionomics**. Australia: CAB International, 1992. p. 1-14.

WOODRING, J. L.; KAYA, H. K. **Steinernematidae and Heterorhabditidae nematodes: a handbook of techniques southern cooperative**. Arkansas: Arkansas Agricultural Experiment Station Fayetteville, 1988. (Series Bulletin).

YEE, W. L.; LACEY, L. A.. Stage-specific mortality of *Rhagoletis indifferens* (Diptera: Tephritidae) exposed to three species of *Steinernema* nematodes. **Biological Control**, San Diego, v. 27, n. 3, p. 349-356, July 2003.

YUL, C.; WONN, L.; SOOK, Y.; MYEONG, L.; THI, H. Effects of temperature and nematodes concentration on pathogenicity and reproduction of entomopathogenic nematode, *Steinernema carpocapsae* Pocheon strain (Nematode: Steinernematidae). **Korean Journal of Applied Entomology**, Seoul, v. 41, n. 4, p. 269-277, 2002.

ZUCCHI, R. A. Mosca-do-mediterrâneo, *Ceratitis capitata* (Díptera: Tephritidae). In: VILELA, E. F.; ZUCCHI, R. A.; CANTOR, F. **Histórico e impacto das pragas introduzidas no Brasil**. Ribeirão Preto: Holos, 2001. p. 15-22.

**ARTIGO 2**

**AVALIAÇÃO DE EXTRATOS VEGETAIS AQUOSOS PARA O  
CONTROLE DA MOSCA-DAS-FRUTAS *Ceratitis capitata*  
(WIEDEMANN) (DIPTERA: TEPHRITIDAE)**

## RESUMO

A mosca-das-frutas *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae) é considerada a principal praga da fruticultura mundial. Devido aos impactos causados pelo controle químico, o uso de métodos alternativos, tais como extratos de plantas, ressurgem como uma forma de controle eficaz, por sua seletividade, baixa persistência no meio ambiente e eficiência. O objetivo desse trabalho foi avaliar o efeito de extratos vegetais sobre larvas, pupas e adultos de *C. capitata*. Os tratamentos foram extratos aquosos preparados com vegetais frescos e secos na proporção de 20% p/v de folha, ramo ou fruto de cinamomo (*Melia azedarach*), folha de arruda (*Ruta graveolens*), alho (*Allium sativum*) e gengibre (*Zingiber officinale*). No tratamento testemunha, foi utilizada apenas água destilada. Para a avaliação sobre a fase imatura, cada repetição foi constituída de uma placa com 20 larvas ou 20 pupas, que foram mergulhadas em 1 mL de cada tratamento, durante 30s em um copo plástico e então transferidas para as placas. Para o extrato preparado com os frutos secos de cinamomo, foram avaliadas as concentrações de 5, 10, 15, 10 e 25% p/v. As avaliações foram realizadas após cinco dias, contando-se o número de larvas ou pupas mortas e o número de adultos deformados. Sobre a fase adulta, foram avaliados apenas os extratos preparados com vegetais secos. Cada repetição foi constituída de um pote plástico contendo um fruto de ameixa vermelha e um rolete de algodão embebido com 5 mL de extrato. Para cada pote plástico, foram transferidas três fêmeas e dois machos. Após dois dias, foi realizada a avaliação da mortalidade de adultos e a retirada dos frutos, os quais foram individualizados, e depois de sete dias foi feita a contagem do número de larvas desenvolvidas, em cada fruto. Verificou-se que todos os extratos tiveram efeito inseticida sobre larvas e pupas de *C. capitata*, com destaque para o extrato de

cinamomo, o qual teve efeito também sobre a fase adulta. No entanto, nenhum extrato teve efeito sobre a fecundidade de fêmeas de *C. capitata*.

**Palavras-chave:** Mosca-do-mediterrâneo, *Melia azedarach*, *Ruta graveolens*, *Allium sativum*, *Zingiber officinale*

## ABSTRACT

The fruit fly *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae) is considered a major pest of fruit crops worldwide. Due to the impacts caused by chemical control, the use of alternative methods such as plant extracts emerges as an effective form of control because of its selectivity, low environmental persistence and efficiency. The aim of this study was to evaluate the effect of plant extracts on *C. capitata* larvae, pupae and adults. The treatments were aqueous extracts prepared with fresh and dried vegetables at a rate of 20% w/v of cinnamon leaf, twig or fruit (*Melia azedarach*), rue leaf (*Ruta graveolens*), garlic (*Allium sativum*) and ginger (*Zingiber officinale*). In the control treatment, it was used only distilled water. For the evaluation of the immature phase, each repetition consisted of a plate with 20 larvae or 20 pupae, which were dipped in 1 mL of each treatment for 30 seconds in a plastic cup and then transferred to the plates. For the extract prepared with cinnamon dried fruit, concentrations of 5, 10, 15, 10 and 25% w/v were evaluated. Evaluations were made after five days, counting the number of dead larvae or pupae and the number of deformed adults. Concerning the adult phase, it was assessed only the extracts prepared with dried vegetables. Each repetition consisted of a plastic jar containing a red plum fruit and a cotton roller soaked with 5 mL of extract. For each plastic container, three females and two males were transferred. After two days, it was carried out the assessment of adult mortality and the withdrawal of the fruits, which were individualized, and after seven days, the number of larvae developed in each fruit was counted. It was found that all extracts have insecticidal effect on *C. capitata* larvae and pupae, especially the cinnamon extract, which also had an effect on the adult phase. However, no extract had effects on the fertility of *C. capitata* females.

**Keywords:** Mediterranean fruit fly; *Melia azedarach*; *Ruta graveolens*; *Allium sativum*; *Zingiber officinale*.

## 1 INTRODUÇÃO

A mosca-das-frutas acarreta perdas significativas à fruticultura mundial devido aos danos diretos, os quais ocorrem em consequência da oviposição realizada pelas fêmeas nos frutos e consumo dos frutos pelas larvas, e danos indiretos, pois facilitam a entrada de microrganismos no fruto, além de serem consideradas pragas quarentenárias, o que acarreta limitação do livre trânsito de frutas frescas pelas restrições impostas por medidas quarentenárias dos países importadores (WHITE; ÉLSON-HARRIS, 1992; BUENO, 2000; MALAVASI; ZUCCHI; SUGAYAMA, 2000).

No Brasil, apresentam importância econômica, as moscas-das-frutas pertencentes aos gêneros *Anastrepha* e *Ceratitis* (Diptera: Tephritidae) (ZUCCHI, 2001). Dentro do gênero *Ceratitis* destaca-se a espécie *C. capitata* (Wiedemann) (mosca-do-mediterrâneo), que é reconhecida como uma das mais sérias pragas da fruticultura em escala mundial, por estar distribuída em todas as regiões biogeográficas do mundo, além da sua diversidade de hospedeiros, da natureza do dano causado e da sua grande adaptabilidade ao meio (ZUCCHI, 2001).

Atualmente, o controle da mosca-das-frutas pode ser realizado por meio de métodos culturais, de técnica do inseto estéril, de controle legislativo, biológico e químico, sendo esse último o mais utilizado (NASCIMENTO; CARVALHO, 2000). Porém, esta forma de controle, tanto em pulverização em cobertura quanto em isca tóxica, contribui de forma acentuada para o desequilíbrio do agroecossistema, atingindo os inimigos naturais e outros organismos não alvos, além de deixar resíduos tóxicos nos frutos, prejudicando a comercialização e o consumo do fruto *in natura*. Além disso, essa forma de controle é muitas vezes inacessível ao pequeno produtor, devido a necessidade de tecnologias de aplicação e custo elevado.

Dessa forma, têm sido desenvolvidas pesquisas voltadas para utilização de medidas de controle que proporcionem um menor impacto ambiental e que sejam compatíveis com os programas de manejo integrado de pragas e acessíveis ao pequeno produtor. Nesse sentido, as plantas inseticidas e seus extratos aparecem como importantes ferramentas, pois são eficientes, de fácil utilização e baixo custo.

Os efeitos inseticidas de determinadas plantas e de seus extratos ocorrem, principalmente, devido à presença de substâncias produzidas pelo metabolismo secundário do vegetal, em resposta ao ataque de insetos. Essas substâncias podem ser encontradas nas raízes, caules, folhas, sementes e frutos, dentre as quais se destacam os limonóides, rotenóides, piretróides alcalóides e terpenóides, que podem interferir severamente no metabolismo dos insetos, causando impactos variáveis, como repelência, deterrência alimentar e de oviposição, esterilização, bloqueio do metabolismo e interferência no desenvolvimento, podendo ou não causar a morte (MEDEIROS, 1990). Nesse último caso, pode haver retardamento no desenvolvimento do inseto, causando efeito insetistático (HERNANDEZ; VENDRAMIM, 1998).

Extratos de diferentes plantas têm sido estudados para diversos insetos-praga, com resultados promissores (HERNÁNDEZ; VENDRAMIM, 1998; CARPINELLA et al., 2003; PADRÓN et al., 2003; MAZZONETTO; VENDRAMIM, 2003; PÉREZ-PACHECO et al., 2004; SANTIAGO et al., 2008; TAGLIARI; KNAAK; FIUZA, 2010). Para a mosca-das-frutas *C. capitata*, alguns trabalhos revelaram a ação inseticida de casca-de-limão *Citrus limonia* (Rutaceae) (SALVATORE et al., 2004) e *Cestrum parqui* (Solanaceae) (ZAPPATA et al., 2006).

Nesse sentido, são necessários novos estudos para identificar novas espécies com potencial para serem utilizadas na forma de extratos vegetais, para o controle de insetos-praga. Assim, o objetivo desse trabalho foi avaliar o efeito

de extratos preparados com diferentes vegetais frescos e secos sobre larvas, pupas e adultos de *C. capitata*.

## **2 MATERIAL E MÉTODOS**

### **2.1 Criação de *Ceratitis capitata***

Para o início da criação, foram utilizadas pupas provenientes do Centro de Energia Nuclear na Agricultura – CENA (Piracicaba, SP). A criação foi mantida em condições controladas de temperatura de  $25 \pm 2^\circ\text{C}$ , umidade relativa de  $70 \pm 10\%$  e fotofase de 12 horas, segundo metodologia proposta por Silva (1990).

### **2.2 Obtenção dos extratos vegetais**

Foram utilizados extratos aquosos preparados com vegetais frescos ou secos de folha, ramo ou fruto de cinamomo (*Melia azedarach*) (Meliaceae), folha de arruda (*Ruta graveolens*) (Rutaceae), gengibre (*Zingiber officinalis*) (Zingiberaceae) e alho (*Allium sativum*) (Lililaceae).

Para obtenção dos extratos preparados com vegetais frescos, esses foram colhidos e triturados em processador elétrico, com água destilada, na proporção de 20% p/v (peso do vegetal fresco antes da trituração/volume de água) e deixados em repouso durante 24 horas. Para obtenção dos extratos preparados com vegetais secos, esses foram mantidos em uma estufa a  $90 \pm 2^\circ\text{C}$  durante cinco dias, moídos e então diluídos em água destilada na proporção de 20% p/v (peso do vegetal seco em pó/volume de água) e deixados em repouso durante 24 horas. Após esse período, as suspensões foram filtradas para posterior aplicação sobre os insetos.

### **2.3 Avaliação de extratos preparados com vegetais frescos e secos sobre larvas e pupas de *C. capitata***

Os tratamentos foram: extratos aquosos preparados com vegetais frescos ou secos de folha, ramo ou fruto de cinamomo, folha de arruda, gengibre, alho e água destilada (como testemunha). Foram utilizadas sete repetições por tratamento, cada uma constituída de uma placa de Petri, com papel filtro, com 20 larvas no final do 3º instar ou 20 pupas com idade entre cinco e oito dias. Os insetos foram transferidos para um copo plástico, aplicado 1 mL de cada extrato vegetal a 20% p/v e após 30 segundos de contato, foram acondicionados em placas de Petri. No tratamento testemunha, foi aplicado 1 mL de água destilada. O bioensaio foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado, e as placas foram mantidas em câmara climatizada ( $25\pm 2^{\circ}\text{C}$ ,  $70\pm 10\%$  de umidade, fosfatase de 12 horas). A avaliação foi realizada após 10 dias, contando-se o número de larvas ou pupas mortas e adultos deformados. Os dados foram submetidos à análise de variância (teste F) e as médias comparadas entre si pelo teste de Scott - Knott ( $P\leq 0,05$ ), com ao auxílio do programa Sisvar (FERREIRA, 2000).

### **2.4 Avaliação de diferentes concentrações do extrato de fruto de cinamomo (*Melia azedarach*) preparado a seco sobre larvas e pupas de *C. capitata***

Os tratamentos foram: extrato aquoso do fruto de cinamomo preparado a seco nas concentrações de 0, 5, 10, 15, 20 e 25% p/v. Foram utilizadas sete repetições por tratamento, cada uma constituída de uma placa de Petri, com papel filtro, com 20 larvas no final do 3º instar ou 20 pupas com idade entre cinco e oito dias. Os insetos foram transferidos para um copo plástico, aplicado 1 mL do extrato de fruto de cinamomo em cada uma das concentrações e, após 30 segundos de contato, foram acondicionados em placas de Petri. O bioensaio foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado, e as placas mantidas

em câmara climatizada ( $25\pm 2^{\circ}\text{C}$ ,  $70\pm 10\%$  de umidade, fosfatase de 12 horas). A avaliação foi realizada após 10 dias, contando-se o número de larvas ou pupas mortas e adultos deformados. Os dados foram submetidos à análise de variância (teste F) e as médias estudadas por meio de regressão ( $P\leq 0,05$ ), com ao auxílio do programa Sisvar (FERREIRA, 2000).

### **2.5 Avaliação de extratos preparados com vegetais secos sobre adultos de *C. capitata***

Os tratamentos foram: extratos aquosos preparados com vegetais secos de folha, ramo ou fruto de cinamomo, folha de arruda, gengibre, alho e água destilada (como testemunha). Foram utilizadas sete repetições, por tratamento, cada uma constituída de um pote plástico (capacidade para 2 L), com tampa plástica, contendo um fruto de ameixa-vermelha (*Prunus* sp.) (Rosaceae), preso no fundo do pote e um rolete de algodão ( $2 \times 1$  cm), embebido com 5 mL de cada extrato preparado com vegetais secos. Os frutos foram mergulhados na solução do extrato vegetal e, após estarem secos foram acondicionados nos potes plásticos. No tratamento testemunha, foi utilizada água destilada. Para cada pote plástico, foram transferidas três fêmeas e dois machos de *C. capitata*, com idade entre cinco e sete dias, que haviam permanecido 24 horas sem acesso a alimento. O bioensaio foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado, e os potes mantidos em sala climatizada ( $25\pm 2^{\circ}\text{C}$ ,  $70\pm 10\%$  de umidade, fosfatase de 12 horas). Após dois dias, foi feita a avaliação da mortalidade de adultos de *C. capitata* e a retirada dos frutos, que foram individualizados em potes plásticos (capacidade 200 mL) e mantidos em sala climatizada ( $15\pm 2^{\circ}\text{C}$ ,  $70\pm 10\%$  de umidade, fosfatase de 12 horas), durante sete dias para contagem do número de larvas desenvolvidas, em cada fruto. Os dados foram submetidos à análise de variância (teste F) e as médias comparadas entre si pelo teste de Scott - Knott ( $P\leq 0,05$ ), com o auxílio do programa Sisvar (FERREIRA, 2000).

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 3.1 Avaliação de extratos preparados com vegetais frescos e secos sobre larvas e pupas de *C. capitata*

Todos os extratos vegetais preparados a fresco, exceto o de arruda, tiveram efeito inseticida sobre larvas de *C. capitata*, diferindo do tratamento testemunha. No entanto, somente os extratos de folha e ramo de cinamomo afetaram o número de adultos normais emergidos (Tabela 1). Para a fase de pupa desse inseto, todos os extratos apresentaram ação inseticida, mas somente aqueles obtidos da planta de cinamomo (fruto, folha e ramo) reduziram o número de adultos normais emergidos (Tabela 2).

Tabela 1 Porcentagem média de mortalidade ( $\pm$ EP) de larvas mortas e adultos deformados, após 10 dias da aplicação de diferentes extratos preparados, com vegetais frescos sobre a fase larval de *Ceratitis capitata* ( $25\pm 2^\circ\text{C}$ ,  $70\pm 10\%$  de umidade, fosfatase de 12 horas).

Tratamentos	% mortalidade de larvas <sup>1,2</sup>	% de adultos deformados <sup>1,2</sup>	% total de insetos inviáveis <sup>1,2</sup>
Testemunha	0,71 $\pm$ 0,71d	0,71 $\pm$ 1,01b	1,42 $\pm$ 1,42c
Folha de cinamomo	0,00 $\pm$ 0,00d	11,43 $\pm$ 2,10a	11,43 $\pm$ 2,10b
Ramo de cinamomo	2,86 $\pm$ 1,01c	10,71 $\pm$ 1,70a	13,57 $\pm$ 1,89b
Gengibre	10,71 $\pm$ 0,71b	0,00 $\pm$ 0,00b	10,71 $\pm$ 0,71b
Alho	20,71 $\pm$ 1,30a	0,00 $\pm$ 0,00b	20,71 $\pm$ 1,30a
Arruda	2,14 $\pm$ 1,01c	0,00 $\pm$ 0,00b	2,14 $\pm$ 1,01c
CV (%)	46,05	50,53	31,08

<sup>1</sup>Médias seguidas da mesma letra na mesma coluna não diferem entre si pelo teste Scott-Knott ( $P\leq 0,05\%$ ).

<sup>2</sup>Dados originais em porcentagem apresentados, transformados em  $\arcsen\sqrt{x/100}$  para análise.

Tabela 2 Porcentagem média de mortalidade ( $\pm$ EP) de pupas mortas e adultos deformados, após 10 dias da aplicação de diferentes extratos preparados, com vegetais frescos sobre a fase de pupa de *Ceratitis capitata* ( $25\pm 2^\circ\text{C}$ ,  $70\pm 10\%$  de umidade, fosfatase de 12 horas).

Tratamentos	% mortalidade de pupas <sup>1,2</sup>	% de adultos deformados <sup>1,2</sup>	% total de insetos inviáveis <sup>1,2</sup>
Testemunha	2,14 $\pm$ 1,01c	1,43 $\pm$ 0,92b	3,57 $\pm$ 1,43c
Fruto de cinamomo	18,57 $\pm$ 1,80b	15,71 $\pm$ 1,30a	34,28 $\pm$ 2,30a
Folha de cinamomo	26,43 $\pm$ 0,92a	13,57 $\pm$ 1,43a	40,00 $\pm$ 1,89a
Ramo de cinamomo	17,14 $\pm$ 1,01b	16,43 $\pm$ 1,43a	33,57 $\pm$ 1,80a
Gengibre	17,86 $\pm$ 1,01b	0,71 $\pm$ 0,71b	18,57 $\pm$ 1,43b
Alho	27,86 $\pm$ 1,49a	0,71 $\pm$ 0,71b	28,57 $\pm$ 1,43a
Arruda	30,71 $\pm$ 1,30a	0,00 $\pm$ 0,00b	30,71 $\pm$ 1,30a
CV (%)	13,32	37,30	12,94

<sup>1</sup>Médias seguidas da mesma letra na mesma coluna não diferem entre si pelo teste Scott-Knott ( $P\leq 0,05\%$ ).

<sup>2</sup>Dados originais em porcentagem apresentados, transformados em  $\arcsen\sqrt{x/100}$  para análise.

Ao analisar a porcentagem total de insetos inviáveis (adultos mortos + adultos deformados), verificou-se que o extrato de alho teve a melhor ação sobre a fase de larvas, seguido dos extratos obtidos da planta de cinamomo. Para a fase de pupa, observou-se que todos os extratos, exceto o de gengibre, causaram grande redução no número de insetos viáveis.

Em relação aos extratos preparados a seco, notou-se que todos tiveram efeito inseticida sobre larvas e pupas de *C. capitata* e, assim como observado para os extratos preparados a fresco, apenas os extratos obtidos a partir de plantas de cinamomo (fruto, folha ou ramo) causaram elevada redução no número de adultos normais emergidos (Tabela 3 e 4).

Observando a porcentagem do total de insetos inviáveis, viu-se que os extratos obtidos da planta de cinamomo, foram os mais eficientes contra larvas e pupas de *C. capitata*, com destaque para o extrato obtido a partir dos frutos de cinamomo.

Tabela 3 Porcentagem média de mortalidade ( $\pm$ EP) de larvas mortas e adultos deformados, após 10 dias da aplicação de diferentes extratos preparados, com vegetais secos sobre a fase larval de *Ceratitis capitata* ( $25\pm 2^\circ\text{C}$ ,  $70\pm 10\%$  de umidade, fosfatase de 12 horas).

Tratamentos	% mortalidade de larvas <sup>1,2</sup>	% de adultos deformados <sup>1,2</sup>	% total de insetos inviáveis <sup>1,2</sup>
Testemunha	1,43 $\pm$ 0,92c	0,00 $\pm$ 0,00c	1,43 $\pm$ 0,92d
Fruto de cinamomo	31,43 $\pm$ 1,09a	25,00 $\pm$ 2,67a	56,43 $\pm$ 2,83a
Folha de cinamomo	8,57 $\pm$ 2,03b	12,14 $\pm$ 2,40b	20,71 $\pm$ 2,30b
Ramo de cinamomo	7,86 $\pm$ 1,01b	11,43 $\pm$ 2,10b	19,29 $\pm$ 2,54b
Gengibre	6,43 $\pm$ 0,92b	0,00 $\pm$ 0,00c	6,43 $\pm$ 0,92c
Alho	6,43 $\pm$ 0,92b	0,71 $\pm$ 0,71c	7,14 $\pm$ 1,01c
Arruda	8,57 $\pm$ 1,37b	0,00 $\pm$ 0,00c	8,57 $\pm$ 1,37c
CV (%)	20,25	36,25	18,87

<sup>1</sup>Médias seguidas da mesma letra na mesma coluna não diferem entre si pelo teste Scott-Knott ( $P\leq 0,05\%$ ).

<sup>2</sup>Dados originais em porcentagem apresentados, transformados em  $\arcsen\sqrt{x/100}$  para análise.

Tabela 4 Porcentagem média de mortalidade ( $\pm$ EP) de pupas mortas e adultos deformados, após 10 dias da aplicação de diferentes extratos preparados, com vegetais secos sobre a fase de pupa de *Ceratitis capitata* ( $25\pm 2^\circ\text{C}$ ,  $70\pm 10\%$  de umidade, fosfatase de 12 horas).

Tratamentos	% mortalidade de pupas <sup>1,2</sup>	% de adultos deformados <sup>1,2</sup>	% total de insetos inviáveis <sup>1,2</sup>
Testemunha	2,86 $\pm$ 1,01b	0,00 $\pm$ 0,00d	2,86 $\pm$ 1,01c
Fruto de cinamomo	32,86 $\pm$ 2,86a	30,00 $\pm$ 2,67a	62,86 $\pm$ 4,61a
Folha de cinamomo	31,43 $\pm$ 4,19a	19,29 $\pm$ 1,70b	50,71 $\pm$ 4,93a
Ramo de cinamomo	38,57 $\pm$ 2,10a	21,43 $\pm$ 1,80b	60,00 $\pm$ 1,89a
Gengibre	30,71 $\pm$ 4,00a	3,57 $\pm$ 2,10c	34,29 $\pm$ 5,05b
Alho	37,14 $\pm$ 3,76a	0,00 $\pm$ 0,00d	37,14 $\pm$ 3,76b
Arruda	34,29 $\pm$ 5,17a	0,71 $\pm$ 0,71d	35,00 $\pm$ 4,88b
CV (%)	18,16	34,03	15,70

<sup>1</sup>Médias seguidas da mesma letra na mesma coluna não diferem entre si pelo teste Scott-Knott ( $P\leq 0,05\%$ ).

<sup>2</sup>Dados originais em porcentagem apresentados, transformados em  $\arcsen\sqrt{x/100}$  para análise.

O principal efeito de extratos obtidos a partir de plantas de cinamomo sobre os inseto é a fagoinibição ou deterrência, causada por substância,s tais

como limonóides e triterpenóides (CARPINELLA et al., 2003). De acordo com Mordue; Nisbet (2000), a deterrência é um distúrbio que está associado aos mecanismos sensoriais do inseto e causa redução do consumo de alimento. Para estes autores, o comportamento alimentar dos insetos depende da integração do sistema nervoso central com os quimiorreceptores, localizados nos tarsos, peças bucais e cavidade oral, e determinadas substâncias, tais como as encontradas em plantas de cinamomo, podem atuar sobre os quimiorreceptores, estimulando as “células deterrentes específicas” ou bloqueando os fagoestimulantes, como as “células receptoras de açúcar”, inibindo a alimentação. A redução no consumo alimentar provoca deficiência nutricional, podendo causar redução na capacidade de movimentação, atraso no desenvolvimento ou ainda, deformações no inseto (COSTA; SILVA; FIUZA, 2004).

Outro efeito que os limonóides e os pinosresinóis, encontrados em plantas de cinamomo, podem causar sobre os insetos é a interferência no processo de ecdise e metamorfose, aumentando a mortalidade e os insetos deformados (CABRAL; KELECOM; GARCIA, 1999; DEQUECH et al., 2008; ANDRADE-COELHO et al., 2009).

No presente trabalho, a elevada eficiência do extrato de cinamomo se deve à interferência no processo de ecdise e metamorfose de *C. capitata* e não a deterrência, já que foram utilizadas nos bioensaios larvas no final do 3º instar e pupas, as quais não se alimentam. Esse efeito sobre a ecdise e a metamorfose também explica o grande número de adultos deformados emergidos a partir de insetos tratados, principalmente, com os extratos de cinamomo. Andrade-Coelho et al. (2009) também observaram elevada mortalidade e insetos deformados, devido a inibição na ecdise de larvas de *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: Psychodidae), quando expostas aos extratos de folhas e frutos de cinamomo, sem observarem, no entanto, atividade deterrente.

Os resultados do presente trabalho estão de acordo com estudos realizados com diferentes insetos da ordem Diptera. Salles; Rech (1999) notaram que o extrato de cinamomo causou aumento no número de pupas e adultos deformados de *Anastrepha fraterculus* (Diptera: Tephritidae). Chiffelle; Huerta; Lizana (2009) também verificaram aumento no número de adultos deformados, além de elevada mortalidade de larvas de *Drosophila melanogaster* (Diptera: Drosophilidae), quando expostas aos extratos de folhas e frutos de cinamomo. Já Cabral et al. (2008) observaram que moscas-domésticas *Musca domestica* (Diptera: Muscidae), expostas ao extrato dessa planta, tiveram aumento no período de desenvolvimento da fase de larva e redução no peso de pupa.

A maior eficiência do extrato do fruto de cinamomo, em relação aos obtidos da folhas e ramos, está relacionada às variações na composição e concentração de metabólitos secundários, que ocorrem nas diferentes partes vegetais da planta (COSTA; SILVA; FIUZA, 2004). Brunherotto e Vendramim (2000) também observaram variações na eficiência de extratos de folhas, ramos e frutos de cinamomo sobre *Tuta absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae). Igualmente ao observado no presente trabalho, esses autores verificaram que todos os extratos obtidos das diferentes partes da planta de cinamomo afetaram negativamente o desenvolvimento do inseto, sugerindo que os ingredientes ativos estão presentes nas diversas estruturas da planta, embora em concentrações variáveis.

Variações também são observadas nos diferentes estágios fenológicos da planta. Nesse sentido, Chiffelle; Huerta; Lizana (2009) verificaram que extratos preparados com folhas novas e frutos verdes foram mais eficazes em relação aos preparados com folhas velhas e frutos maduros. Diante dessas variações, são necessários novos estudos para determinar a composição química de cada parte vegetal e em diferentes estágios fenológicos da planta, possibilitando assim, a produção de extratos vegetais mais eficientes.

Além do extrato do fruto de cinamomo ter sido mais eficiente no controle de *C. capitata*, esse apresenta a vantagem em relação aos extratos de folhas e ramos, pois a sua retirada não prejudica o desenvolvimento da planta.

O extrato de arruda também causou mortalidade considerável sobre a fase de pupa de *C. capitata*, quando preparado a fresco (mortalidade de 30,7%) e a seco (mortalidade de 34,3%), sendo, porém, pouco eficiente para a fase de larva. Esse efeito inseticida do extrato de arruda também já foi observado para outros insetos (ALMEIDA; GOLDFARB; GOUVEIA, 1999; SANTIAGO et al., 2008; BARBOSA et al., 2009; BARBOSA et al., 2011). Assim como observado para os extratos de cinamomo, a ação inseticida da arruda também está relacionada a presença dos limonóides (TAGLIARE et al., 2010). Além disso, possuem outros compostos, tais como glicosídeos, lactonas aromáticas, alcalóides, flavonóides e terpenos, que podem ter ação inseticida (MARTINS et al., 2005).

Já o extrato de alho apresentou elevada eficiência sobre a fase larval e de pupa de *C. capitata*. No entanto, não foram encontrados trabalhos explicando o mecanismo de ação do extrato ou avaliando o potencial do mesmo contra os insetos. Menezes (2005) observou que o extrato de alho apresenta ação sistêmica sobre a planta, causando repelência sobre os insetos. Mas, de acordo com os resultados aqui obtidos, fica evidente que esse extrato vegetal também apresenta efeito inseticida.

O extrato de gengibre apresentou a menor eficiência sobre *C. capitata*, quando comparado aos demais extratos estudados. Também não foram encontrados trabalhos explicando o mecanismo de ação do extrato. Mas o efeito inseticida desse extrato também já foi observado para outros insetos, como o pulgão *Toxoptera citricida* (Hemiptera: Aphididae) (SILVA et al., 2009) e a lagarta-do-cartucho *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) (TAGLIARI; KNAAK; FIUZA, 2010).

A fase de pupa de *C. capitata* foi a mais suscetível aos extratos vegetais, preparados tanto a fresco quanto a seco, com maior mortalidade em relação à fase de larva do *C. capitata*. Além disso, quando os extratos foram aplicados sobre a fase de pupa, houve maior emergência de adultos deformados, quando comparado com a fase de larva.

Provavelmente, a menor suscetibilidade de larvas de *C. capitata* ocorreu porque, após a aplicação dos tratamentos, essas ficaram muito mais agitadas em relação àquelas em que foi aplicada apenas água destilada (tratamento testemunha), eliminando o extrato da superfície do corpo no papel filtro presente no fundo da placa de Petri, reduzindo a quantidade do produto, que penetrou via tegumento e, conseqüentemente, a ação do mesmo.

Os extratos vegetais, preparados a seco, foram mais eficientes contra *C. capitata*, causando redução máxima de 56,4 e 62,9% no número de insetos viáveis, quando aplicados sobre larvas e pupas, respectivamente. Já os extratos preparados a fresco, causaram redução máxima de 20,7 e 40,0%, no número de insetos viáveis, quando aplicados sobre larvas e pupas, respectivamente.

Apesar da utilização dos extratos preparados com vegetais frescos e secos ter sido na mesma proporção de 20% p/v (peso do vegetal/volume de água), a concentração dos componentes nesse último foi maior, pois foi utilizado o peso do vegetal desidratado, enquanto que no primeiro foi utilizado o peso do vegetal fresco, sendo essa a provável causa da maior eficiência dos extratos preparados com vegetais secos.

Além dos extratos preparados com vegetais secos terem apresentado maior eficiência para o controle de *C. capitata*, estes possuem a vantagem de poderem ser estocados pelo produtor, possibilitando a utilização de plantas ou de partes de plantas sazonais durante o ano todo para o controle de pragas.

### 3.2 Avaliação de diferentes concentrações do extrato de fruto de cinamomo (*Melia azedarach*), preparado a seco, sobre larvas e pupas de *C. capitata*

As fases de larva e de pupa de *C. capitata* foram suscetíveis a todas as concentrações estudadas de extrato de fruto de cinamomo, sendo que a mortalidade, número de adultos deformados e, conseqüentemente, o número total de insetos inviáveis, foram diretamente proporcionais ao aumento da concentração do extrato vegetal (Figuras 1 e 2).

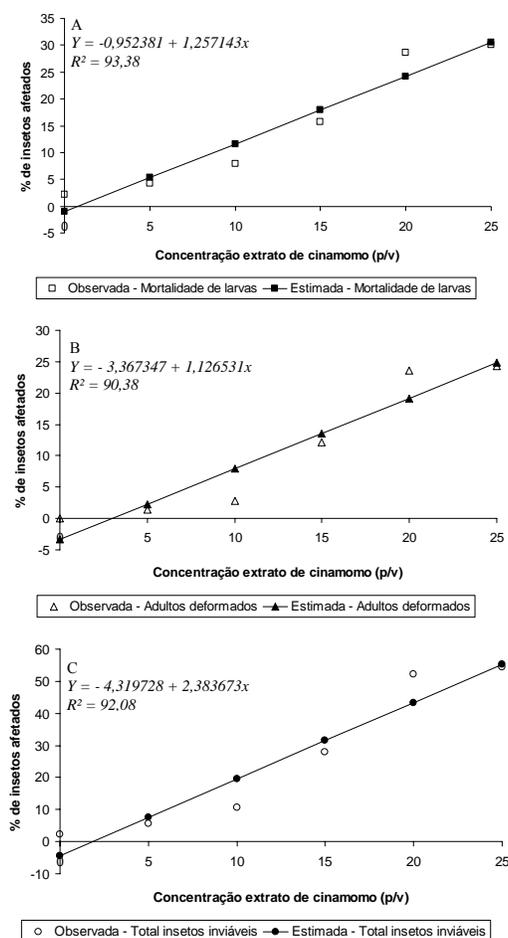


Figura 1: Porcentagem de mortalidade de (A) larvas, (B) adultos deformados e (C) total de insetos inviáveis de *Ceratitis capitata*, após cinco dias da aplicação de diferentes concentrações do extrato de cinamomo preparado a seco.

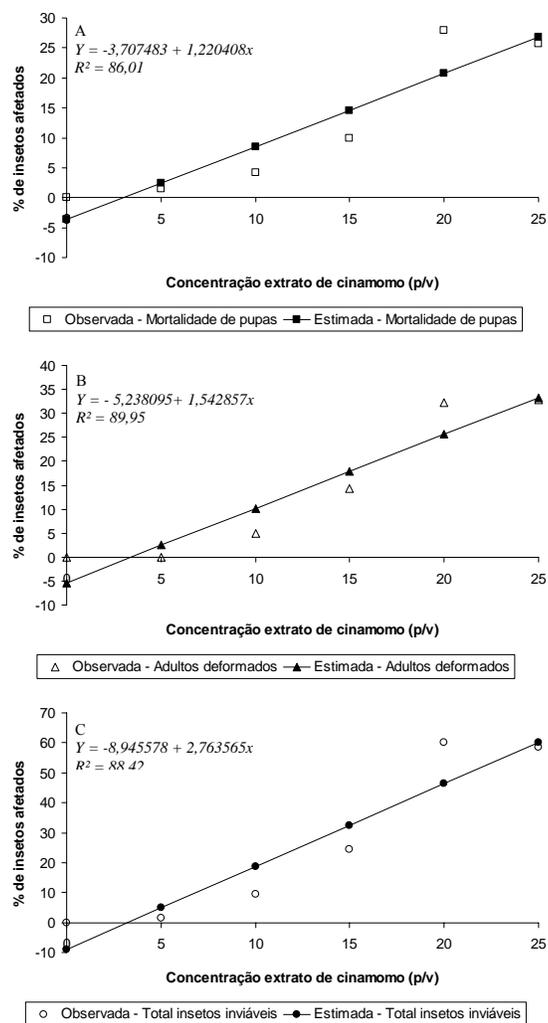


Figura 2: Porcentagem de mortalidade de (A) pupas, (B) adultos deformados e (C) total de insetos inviáveis após cinco dias da aplicação de diferentes concentrações do extrato de cinamomo preparado a seco sobre *Ceratitis capitata*.

### 3.3 Avaliação de extratos preparados com vegetais secos sobre adultos de *C. capitata*

Verificou-se que somente os extratos de fruto de cinamomo e gengibre tiveram efeito inseticida sobre adultos de *C. capitata*, diferindo do tratamento testemunha (Tabela 5).

Tabela 5 Porcentagem média de mortalidade ( $\pm$ EP) de adultos mortos e número médio de larvas desenvolvidas de *Ceratitidis capitata*, em frutos de ameixa vermelha, após exposição a diferentes extratos preparados com vegetais secos.

Tratamento	% mortalidade de adulto <sup>1,2</sup>	Número de larvas <sup>1</sup>
Testemunha	0,00 $\pm$ 0,00c	5,43 $\pm$ 0,30a
Fruto de cinamomo	25,71 $\pm$ 3,69a	4,57 $\pm$ 0,53a
Folha de cinamomo	0,00 $\pm$ 0,00c	4,71 $\pm$ 0,64a
Ramo de cinamomo	0,00 $\pm$ 0,00c	5,00 $\pm$ 0,79a
Gengibre	5,71 $\pm$ 3,69b	5,14 $\pm$ 0,46a
Alho	0,00 $\pm$ 0,00c	6,43 $\pm$ 0,30a
Arruda	0,00 $\pm$ 0,00c	5,43 $\pm$ 0,61a
CV (%)	99,53	27,46

<sup>1</sup>Médias seguidas da mesma letra na mesma coluna não diferem entre si pelo teste Scott-Knott ( $P \leq 0,05\%$ ).

<sup>2</sup>Dados originais em porcentagem apresentados, transformados em  $\arcsen\sqrt{x/100}$  para análise.

Diferente do observado para as fases de larva e pupa de *C. capitata*, em que o efeito inseticida do extrato de cinamomo foi devido à interferência no processo de ecdise e metamorfe, para a fase adulta esse extrato provavelmente causou deterrência, reduzindo o consumo alimentar e causando a sua morte.

Nenhum dos extratos estudados teve efeito sobre a oviposição desse inseto (Tabela 5). Salles; Rech (1999) avaliaram diferentes concentrações (0, 30, 60, 90, 120 e 150g/L) do extrato de fruto de cinamomo sobre *Anastrepha fraterculus* e também verificaram que o extrato não interferiu no número de ovos colocados por fêmeas, aumentando, no entanto, o número de adultos deformados. Já Zappata et al. (2006) verificaram que o extrato aquoso de

*Cestrum parqui* (Solanaceae) (planta venenosa nativa da América do Sul), na concentração de 0,8%, reduziu a oviposição de *C. capitata*, em aproximadamente, 85% em relação ao tratamento testemunha e causou mortalidade em torno de 70% ,em adultos, após cinco dias de exposição.

Com os resultados do presente trabalho, fica evidente o efeito inseticida dos extratos de cinamomo, arruda, alho e gengibre sobre larvas e pupas de *C. capitata*, com destaque para o primeiro, o qual teve efeito também sobre a fase adulta desse inseto. Extratos preparados com vegetais secos foram mais eficientes em relação àqueles preparados com vegetais frescos. Vale ressaltar, no entanto, que houve exposição máxima dos extratos sobre os insetos, sendo necessários novos estudos para avaliar o efeito desses, em condições de campo.

#### 4 REFERÊNCIAS

ALMEIDA, F. A. C.; GOLDFARB, A. C.; GOUVEIA, J. P. G. Avaliação de extratos vegetais e métodos de aplicação no controle de *Sitophilus* spp. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, v. 1, n. 1, p. 13-20, 1999.

ANDRADE-COELHO, SOUZA, N. A.; GOUVEIA, C.; SILVA, V. C.; GONZALEZ, M. S.; RANGEL, E. F. Effect of fruit and leaves of meliaceae plants (*Azadirachta indica* and *Melia azedarach*) on the development of *Lutzomyia longipalpis* larvae (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) under experimental conditions. **Journal of Medical Entomology**, v. 46, n. 5, p. 1125-1130, 2009.

BARBOSA, S. L.; LEITE, G. L. D.; MARTINS, E. R.; GUANABENS, R. E. M.; SILVA, F. W. S. Métodos de extração e concentrações no efeito inseticida de *Ruta graveolens* L., *Artemisia verlotorum* Lamotte e *Petiveria alliacea* L. a *Diabrotica speciosa* Germar. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 11, n. 3, p. 221-229, 2009.

BARBOSA, F. S.; LEITE, G. L. D.; ALVES, S. M.; NASCIMENTO, A. F.; D'AVILA, V. A.; COSTA, C. A. Insecticide effects of *Ruta graveolens*, *Copaifera langsdorffii* and *Chenopodium ambrosioides* against pests and natural enemies in commercial tomato plantation. **Acta Scientiarum Agronomy**, Maringá, v. 33, n. 1, p. 37-43, 2011.

BRUNHEROTTO, R.; VENDRAMIM, J. D. Bioatividade de extratos aquosos de *Melia azedarach* L. sobre o desenvolvimento de *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae) em tomateiro. **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 30, p. 455-459, 2000.

BUENO, L. N. Las moscas de las frutas: importancia económica, aspectos taxonómicos, distribución mundial de los géneros de importancia económica. In: SEMINARIO TALLER SOBRE EL MANEJO DE LAS MOSCAS DE LAS FRUTAS EN EL DEPARTAMENTO DE ARAUCA, 1., 2000, Saravena, Colombia. **Primer...** Saravena, Colombia, 2000. p. 1-19.

CABRAL, M. M. O.; KELECOM, A.; GARCIA, E. S. Effects of the lignan, pinoresinol on the moulting cycle of the bloodsucking bug *Rhodnius prolixus* and of the milkweed *Oncopeltus fasciatus*. *Fitoterapia*, v. 70, p. 561-567, 1999.

CABRAL, M. M. O.; ESTEBRAN, R. F.; MENDONÇA, P. M.; GOMES, C. M. S.; OLIVEIRA, V. C.; KELECOM, A. *Melia azedarach* L. extracts and their activity on *Musca domestica* L. (Diptera: Muscidae). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 18, p. 699-702, dez. 2008.

CARPINELLA, M. C.; DEFAGO, M. A.; VALLADARES, G.; PALACIOS, S. M. Antifeedant and insecticide properties of a limonoid from *Melia azedarach* (Meliaceae) with potential use for pest management. **Journal of Agricultural Food Chemistry**, v. 51, p. 369-374, 2003.

CHIFFELLE, I. G.; HUERTA, A. F.; LIZANA, D. R. Physical and chemical characterization of *Melia azedarach* L. fruit and leaf for use as botanical insecticide. **Chilean Journal of Agricultural Research**, v. 69, n. 1, p. 38-45 jan./mar., 2009.

COSTA, E. L. N.; SILVA, R. F. P.; FIUZA, L. M. Efeitos, aplicações e limitações de extratos de plantas inseticidas. **Acta Biologica Leopoldensia**, v. 26, n. 2, p. 173-185, jul./dez. 2004.

DEQUECH, S. T. B.; SAUSEN, C. D.; LIMA, C. G.; EGEWARTH, R. Efeito de extratos de plantas com atividade inseticida no controle de *Microtheca ochroloma* Stal (Col.: Chrysomelidae), em laboratório. **Biotemas**, v. 21, n. 1, p. 41-46, mar. 2008.

FERREIRA, D. F. Análise estatística por meio do SISVAR (Sistema para Análise de Variância) para Windows versão 4.0. In: REUNIÃO ANUAL DA REGIÃO BRASILEIRA DA SOCIEDADE INTERNACIONAL DE BIOMETRIA. **Anais...** São Carlos: UFSCar, p. 255-258, 2000.

HERNANDEZ, C. R.; VENDRAMIM, J. D. Uso de índices nutricionales para el efecto insecticida de extratos de Meliáceas sobre *Spodoptera frugiperda*. **Manejo integrado de plagas**, v.48, p.79-88, 1998.

MALAVASI, A.; ZUCCHI, R. A.; SUGAYAMA, R. L. Biogeografia. In: MALAVASI, A.; ZUCCHI, R. A. **Moscas-das-frutas de importância econômica no Brasil: conhecimento básico e aplicado**, Ribeirão Preto: Holos, 2000. p. 93-98.

- MARTINS, A. G.; ROSÁRIO, D. L.; BARROS, M. N.; JARDIM, M. A.G. Levantamento etnobotânico de plantas medicinais, alimentares e tóxicas da Ilha do Combu, Município de Belém, Estado do Pará, Brasil. **Revista Brasileira de Farmácia**, v. 86, n. 1, p. 21-30, 2005.
- MEDEIROS, A. R. M. Alelopatia: importância e suas aplicações. **Hortisul**, v.1, n.3, p.27-32, 1990.
- MENEZES, E. L. A. Inseticidas botânicos: seus princípios ativos, modo de ação e uso agrícola. **Embrapa Agrobiologia/Documentos 205**, 2005. 58 p.
- MORDUE (LUNTZ), A. J.; NISBET, A. J. Azadirachtin from de neem tree *Azadirachta indica*: its actions against insects. **Anais da Sociedade Entomológica Brasileira**, v. 29, p. 615-632, 2000.
- NASCIMENTO, A. S.; CARVALHO, R. S. Manejo integrado de mosca-das-frutas. IN: MALAVASI, A.; ZUCCHI, R. A. **Moscas-das-frutas de importância econômica no Brasil**: conhecimento básico e aplicado. Ribeirão Preto: Holos, 2000. p. 169-174.
- SALLES, L. A.; RECH, N. L. Efeito de extratos de nim (*Azadirachta indica*) e cinamomo (*Melia azedarach*) sobre *Anastrepha fraterculus* (Wied.) (Diptera:Tephritidae). **Revista Brasileira de Agrociência**, v. 5, n. 3, p. 225-227, set./dez., 1999.
- SALVATORE, A.; BORKOSKY, S.; WILLINK, E.; BARDÓN, A. Toxic effects of lemon peel constituents on *Ceratitis capitata*. **Journal of Chemical Ecology**, v. 30, n. 2, Feb. 2004.
- SANTIAGO, G. P.; PÁDUA, L. E. M.; SILVA, P. R. R.; CARVALHO, E. M. S.; MAIA, C. B. Efeitos de extratos de plantas na biologia de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) mantida em dieta artificial. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 32, n. 3, p. 792-796, maio/jun., 2008
- SILVA, A. C. **Efeito inseticida, deterrente e suppressor alimentar de alguns extratos vegetais sobre *Ceratitis capitata* (Wiedemann, 1824) (Diptera: Tephritidae) e *Ascia monuste orseis* (Latreille, 1819) (Lepidoptera: Pieridae) em laboratório**. 129 f. Tese (Doutorado em Entomologia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG, 1990.

SILVA, M. P. L.; ALVES, L. S.; SILVA, R.; SILVA, F. Atividade inseticida de extrato aquoso de gengibre *Zingiber officinale* L. no controle do pulgão preto *Toxoptera citricida* (Kirkaldy) (Hemiptera: Aphididae) em citros. In: VI CONGRESSO BRASILEIRO DE AGROECOLOGIA E II CONGRESSO LATINO AMERICANO DE AGROECOLOGIA. **Anais...** Curitiba: UFPR, p. 654-658, 2009.

TAGLIARI, M. S.; KNAAK, N.; FIUZA, L. M. efeito de extratos de plantas na mortalidade de lagartas de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae). **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v.77, n.2, p.259-264, abr./jun., 2010

WHITE, I. A.; ELSON-HARRIS, M. M. Introduction. In: WHITE, I. A.; ELSON-HARRIS, M. M. **Fruit flies of economic significance: their identification and bionomics**, Australia: CAB International, 1992. p. 1-14.

ZAPPATA, N.; BUDIA, F.; VINUELA, E.; MEDINA, P. Insecticidal effects of various concentrations of selected extractions of *Cestrum parqui* on adult and immature *Ceratitis capitata*. **Journal of Economic Entomology**, College Park, v. 99, n. 2 p. 359-365, 2006.

ZUCCHI, R. A. Mosca-do-mediterrâneo, *Ceratitis capitata* (Díptera: Tephritidae). In: VILELA, E. F.; ZUCCHI, R. A.; CANTOR, F. **Histórico e impacto das pragas introduzidas no Brasil**. Ribeirão Preto: Holos, 2001. p. 15-22.

**ARTIGO 3**

**COMPATIBILIDADE DE NEMATÓIDES ENTOMOPATOGÊNICOS E  
EXTRATOS VEGETAIS AQUOSOS VISANDO O CONTROLE DA  
MOSCA-DAS-FRUTAS *Ceratitis capitata* (WIEDEMANN) (DIPTERA:  
TEPHRITIDAE)**

## RESUMO

Atualmente, a mosca-das-frutas *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae) tem sido controlada, principalmente, pelo método químico, que é o responsável por impactos ambientais e na saúde pública e, muitas vezes, tem sido ineficiente, devido ao desenvolvimento de populações de insetos resistentes. Assim, tem surgido a necessidade de pesquisas com novas formas de controle eficazes e menos impactantes. Nesse sentido, a utilização de nematóides entomopatogênicos e extratos vegetais tem se mostrado eficiente para o controle dessa praga. No entanto, são necessários estudos para avaliar a compatibilidade entre esses métodos, visando o seu uso, em programas de manejo integrado, para essa praga. O objetivo desse trabalho foi avaliar a compatibilidade dos nematóides *Steinernema carpocapsae* ALL e *Heterorhabditis* sp. JPM4 com os extratos aquosos, preparados com vegetais secos da folha, ramo e fruto de cinamomo (*Melia azedarach*), folha de arruda (*Ruta graveolens*), gengibre (*Zingiber officinales*) e alho (*Allium sativum*) visando o controle de *C. capitata*. O bioensaio foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado, com quatro repetições, por tratamento. Cada repetição foi constituída de um tubo de vidro, contendo 1 mL de extrato vegetal, 40% p/v e 1 mL de suspensão de nematóide entomopatogênico, com 1800 JI/mL, para *S. carpocapsae* ALL e 600 JI/mL, para *Heterorhabditis* sp. JPM4. Como tratamento testemunha, foi utilizado água destilada. Foi avaliada a viabilidade dos nematóides e a infectividade desses sobre larvas de *C. capitata*, após 48 e 120 horas, de acordo com a metodologia modificada de Vainio (1992). Verificou-se que todos os extratos reduziram a viabilidade e a infectividade de ambos os nematóides, sendo incompatíveis, após 120 horas de exposição. O nematóide *Heterorhabditis* sp. JPM4 foi mais sensível em relação ao *S. carpocapsae* ALL, pois apresentou nas primeiras 48 horas redução na viabilidade e infectividade superior a 80 e

75%, respectivamente, quando exposto a todos os extratos, exceto o de gengibre. São necessários novos estudos para avaliar o comportamento dessas formas de controle em condições de campo, já que no presente estudo, o nematóide foi exposto ao máximo à ação dos extratos vegetais.

**Palavras-chave:** *Steinernema carpocapsae*, *Heterorhabditis* sp., *Melia azedarach*, *Ruta graveolens*, *Allium sativum*, *Zingiber officinale*

## ABSTRACT

Currently, the fruit fly *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae) has been controlled mainly by the chemical method, which is responsible for environmental and public health impacts. It has often been ineffective due to development of resistant insect populations. Thus, it has arisen the need for research on new forms of effective and less impacting control. In this sense, the use of entomopathogenic nematodes and plant extracts has been effective for controlling this pest. However, studies are needed to assess the compatibility between these methods, aiming at their use in integrated management programs for this pest. The aim of this study was to evaluate the compatibility of the nematodes *Steinernema carpocapsae* ALL and *Heterorhabditis* sp. JPM4 with aqueous extracts prepared from dried plant of cinnamon leaf, twig and fruit (*Melia azedarach*), rue leaf (*Ruta graveolens*), ginger (*Zingiber officinale*) and garlic (*Allium sativum*) for the control of *C. capitata*. The experiment was carried out in completely randomized design with four replicates per treatment. Each repetition consisted of a glass tube containing 1 mL of plant extract 40% w/v and 1 mL suspension of entomopathogenic nematodes with 1800 JI/mL for *S. carpocapsae* ALL and 600 JI/mL for *Heterorhabditis* sp. JPM4. As a control treatment, it was used distilled water. The viability and infectivity of this nematode were evaluated on *C. capitata* larvae after 48 and 120 hours, according to Vainio's modified method (1992). It was found that all extracts reduced the viability and infectivity of both nematodes and they were incompatible after 120 hours of exposure. The nematode *Heterorhabditis* sp. JPM4 was more sensitive than the *S. carpocapsae* ALL as it showed, in the first 48 hours, a reduction in the viability and infectivity of more than 80 and 75%, respectively, when exposed to all the extracts except the ginger. Further studies are required to evaluate the behavior of these forms of control under field

conditions, as in the present study, the nematode was maximum exposed to the action of plant extracts.

**Keywords:** *Steinernema carpocapsae*; *Heterorhabditis sp*; *Melia azedarac*; *Ruta graveolen*; *Allium sativu*; *Zingiber officinale*.

## 1 INTRODUÇÃO

O Brasil está entre os três maiores produtores mundiais de frutas, porém a sua capacidade de exportação ainda é baixa, devido às condições fitossanitárias do produto, o qual apresenta danos causados por pragas, principalmente, a mosca-das-frutas *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae) (ZUCCHI, 2000).

A mosca-das-frutas, *C. capitata*, é a mais cosmopolita e invasora, sendo considerada a espécie que mais causa danos à fruticultura em todo o mundo (ZUCCHI, 2001). Essa praga é responsável por causar danos devido a oviposição das fêmeas e o consumo das larvas sobre os frutos, além do prejuízo causado pelas restrições impostas para comercialização do produto (WHITE; ÉLSON-HARRIS, 1992; BUENO, 2000; MALAVASI; ZUCCHI; SUGAYAMA, 2000).

Atualmente, o controle da mosca-das-frutas é realizado principalmente com produtos químicos (NASCIMENTO; CARVALHO, 2000). No entanto, essa forma de controle tem ocasionado impactos na saúde humana, no meio ambiente, além de favorecer o aparecimento de insetos resistentes e causar a morte de inimigos naturais. A preocupação com os diversos problemas causados pelo uso indiscriminado de produtos químicos tem conduzido à crescente busca por medidas eficazes de controle de pragas, que proporcionem um menor impacto ambiental e que sejam compatíveis com os programas de manejo integrado de pragas.

Nematóides entomopatogênicos, pertencentes às famílias Heterorhabditidae e Steinernematidae, são considerados excelentes agentes de controle biológico, demonstrando maior potencialidade em insetos-praga de solo e de ambientes crípticos. Estes entomopatógenos são ainda seletivos a um grande número de insetos não alvo, já que são restritos às pragas de solo, apresentam inocuidade ao meio ambiente e aos demais seres vivos, sendo um ótimo recurso a ser utilizado como componente do manejo integrado de pragas

(GEORGIS et al., 2006; SHAPIRO-ILAN et al., 2006). Extratos vegetais também se destacam como importantes ferramentas em programas de manejo integrado de pragas, devido a elevada eficiência e facilidade de obtenção pelos produtores.

Além disso, nematóides entomopatogênicos (LINDEGREN; VAIL, 1986; LINDEGREN; WONG; MCINNIS, 1989; LINDEGREN, 1990; GAZIT; ROSSLER, GLAZER, 2000; LABORDA et al., 2003; ROHDE et al., 2010) e extratos vegetais já tiveram sua eficiência comprovada para a mosca-das-frutas *C. capitata* (SALVATORE et al., 2004; ZAPPATA et al., 2006)

A combinação de nematóides entomopatogênicos com extratos vegetais pode ser promissora para o uso em programas de manejo integrado da mosca-das-frutas. Nesse sentido, Mahmoud (2007) concluiu que a associação do extrato de nim com o nematóide *Steinernema feltiae* proporciona um eficiente controle da mosca-das-frutas *Bactrocera zonata* (Diptera: Tephritidae).

No entanto, para a utilização integrada dessas formas de controle, é necessário conhecer o grau em que os nematóides podem ser afetados pelos extratos, determinando assim a compatibilidade entre as mesmas. Nesse sentido, Abdel-Rasek; Gowen (2002), Krishnayya; Grewal (2002) e Mahmoud (2007) verificaram que extratos de nim são compatíveis com diferentes nematóides entomopatogênicos. Por outro lado, Rovesti; Deseo (1989) e Ramirez et al. (2009) observaram elevada toxicidade do extrato de nim e de mostarda, respectivamente, para os nematóides pertencentes aos gêneros *Steinernema* e *Heterorhabditis*.

Espécies de nematóides podem ser diferentes quanto à sensibilidade aos diversos extratos vegetais. Assim, o objetivo desse trabalho foi avaliar a compatibilidade de diferentes extratos vegetais com os nematóides *Steinernema carpocapsae* ALL e *Heterorhabditis* sp. JPM4, sendo que tanto os extratos

quanto os nematóides selecionados tiveram sua ação inseticida sobre *C. capitata* comprovada em testes preliminares.

## **2 MATERIAL E MÉTODOS**

### **2.1 Criação de *Ceratitis capitata***

Para o início da criação, foram utilizadas pupas provenientes do Centro de Energia Nuclear na Agricultura – CENA (Piracicaba, SP). A criação foi mantida em condições controladas de temperatura de  $25 \pm 2^\circ\text{C}$ , umidade relativa de  $70 \pm 10\%$  e fotofase de 12 horas, segundo metodologia proposta por Silva (1990).

### **2.2 Obtenção dos nematóides entomopatogênicos**

Para a realização dos bioensaios, foram utilizados os isolados *Heterorhabditis* sp. JPM4 (originário de Minas Gerais, Brasil) e *Steinernema carpocapsae* ALL (originário da Carolina do Norte, EUA). A multiplicação dos nematóides foi realizada por meio do método *in vivo*, adaptado a partir de Woodring; Kaya (1988), utilizando-se lagartas de último ínstar de *Galleria mellonella* (Lepidoptera: Pyralidae).

### **2.3 Obtenção dos extratos vegetais**

Foram utilizados extratos aquosos preparados com vegetais secos da folha, ramo ou fruto de cinamomo (*Melia azedarach*), folha de arruda (*Ruta graveolens*), gengibre (*Zingiber officinales*) e alho (*Allium sativum*). Para obtenção dos extratos, os vegetais foram mantidos em uma estufa a  $90 \pm 2^\circ\text{C}$ , durante cinco dias, moídos e então diluídos em água destilada, na proporção de 40% p/v e deixados durante 24 horas. Após esse período, as suspensões foram

filtradas para posterior teste de compatibilidade com nematóides entomopatogênicos.

#### **2.4 Avaliação da compatibilidade de extratos vegetais com nematóides entomopatogênicos**

Foi avaliada a compatibilidade dos extratos vegetais com os nematóides entomopatogênicos, de acordo com a metodologia modificada de Vainio (1992). Os tratamentos foram: extratos aquosos preparados com vegetais secos da folha, ramo ou fruto de cinamomo, folha de arruda, gengibre, alho e água destilada (como testemunha) combinados com os nematóides *S. carpocapsae* ALL ou *Heterorhabditis* sp. JPM . Foram utilizadas quatro repetições por tratamento, cada uma constituída de um tubo de vidro contendo 1 mL de extrato vegetal 40% p/v e 1 mL de suspensão de nematóide entomopatogênico, com 1800 JI/mL para *S. carpocapsae* ALL e 600 JI/mL para *Heterorhabditis* sp. JPM4. O bioensaio foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado, e os tubos foram mantidos em câmara climatizada ( $25\pm 2^{\circ}\text{C}$ ,  $70\pm 10\%$  de umidade, fosfatase de 12 horas). Foi avaliada a viabilidade e a infectividade dos nematóides após 48 e 120 horas. Para avaliação da viabilidade, de cada repetição, foram retiradas três alíquotas de 0,1 mL e contado o número de JI vivos e mortos, sendo considerados mortos aqueles que não responderam ao estímulo com estilete. Para avaliação da infectividade, os tubos foram completados com água destilada (3 mL) e deixados para decantar por meia hora em geladeira a  $8^{\circ}\text{C}$ , o sobrenadante (cerca de 3 mL) foi descartado e a lavagem repetida por três vezes para eliminação dos resíduos dos extratos. Após a terceira lavagem, de cada repetição, foram retiradas três amostras de 1 mL e aplicadas em três placas de Petri contendo papel filtro e 10 larvas de *C. capitata*. As placas foram acondicionadas em potes plásticos e mantidas nas mesmas condições descritas anteriormente. Após cinco dias, as larvas mortas foram dissecadas, para

confirmação da presença do nematóide. Os dados foram transformados em  $\arcseno\sqrt{X/100}$ , submetidos à análise de variância (teste F) e as médias comparadas entre si pelo teste de Scott - Knott ( $P \leq 0,05$ ), com auxílio do programa Sisvar (FERREIRA, 2000). Os dados de mortalidade de nematóides foram corrigidos pela fórmula de Abbott (1925) e os dados de infectividade foram transformados para valores de porcentagem de redução de infectividade, em relação à testemunha. Valores de mortalidade de nematóides e de redução de infectividade maiores que 50% foram considerados incompatíveis, de acordo com a classificação proposta por Vainio (1992).

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Todos os extratos estudados reduziram a viabilidade e a infectividade de *S. carpocapsae* ALL, diferindo do tratamento testemunha já nas primeiras 48 horas (Tabela 1). Nessa primeira avaliação, apenas os extratos de ramo de cinamomo e alho foram compatíveis com esse nematóide, causando redução de viabilidade de 22,8 e 25,2%, respectivamente (Tabela 2). Em relação à infectividade do nematóide, o efeito dos extratos foi mais severo, causando redução de 56,0 a 80,0%, sendo todos considerados incompatíveis (Tabela 3). Na segunda avaliação (após 120 horas), os efeitos negativos dos extratos sobre o nematóide foram intensificados, com redução na viabilidade e infectividade superior a 96,0 e 85,6%, respectivamente, sendo todos considerados incompatíveis.

Tabela 1 Viabilidade e infectividade ( $\pm$ EP) de *Steinernema carpocapsae* ALL após 48 e 120 horas da exposição aos extratos vegetais.

Tratamentos	48 horas <sup>1,2</sup>		120 horas <sup>1,2</sup>	
	Viabilidade	Infectividade	Viabilidade	Infectividade
Testemunha	83,71 $\pm$ 0,99a	83,30 $\pm$ 1,35a	84,85 $\pm$ 2,81a	51,63 $\pm$ 2,15 <sup>a</sup>
Fruto de cinamomo	30,23 $\pm$ 3,50c	25,83 $\pm$ 2,50c	0,77 $\pm$ 0,77b	0,83 $\pm$ 0,83c
Folha de cinamomo	37,98 $\pm$ 4,74c	36,63 $\pm$ 4,09b	1,66 $\pm$ 0,98b	1,65 $\pm$ 1,65c
Ramo de cinamomo	64,61 $\pm$ 3,45b	34,15 $\pm$ 2,49b	0,00 $\pm$ 0,00b	7,45 $\pm$ 0,85b
Gengibre	37,43 $\pm$ 2,87c	24,13 $\pm$ 2,86c	3,37 $\pm$ 2,16b	3,33 $\pm$ 3,33b
Alho	63,44 $\pm$ 3,26b	21,63 $\pm$ 3,18c	5,55 $\pm$ 2,07b	3,30 $\pm$ 0,00b
Arruda	16,56 $\pm$ 1,71d	16,63 $\pm$ 1,37c	2,64 $\pm$ 1,62b	9,98 $\pm$ 6,81b
CV (%)	7,63	9,26	49,89	54,62

<sup>1</sup> Médias seguidas da mesma letra na mesma coluna não diferem entre si pelo teste Scott-Knott ( $P \leq 0,05\%$ ). <sup>2</sup> Dados originais apresentados, transformados em  $\arcsen\sqrt{x/100}$  para análise.

Tabela 2 Mortalidade corrigida (%) de *Steinernema carpocapsae* ALL, após 48 e 120 horas da exposição aos extratos vegetais e classificação de compatibilidade.

Tratamentos	48 horas		120 horas	
	Mortalidade corrigida <sup>1</sup>	Classificação <sup>2</sup>	Mortalidade corrigida <sup>1</sup>	Classificação <sup>2</sup>
Fruto de cinamomo	63,89	Incompatível	99,09	Incompatível
Folha de cinamomo	54,63	Incompatível	98,04	Incompatível
Ramo de cinamomo	22,82	Compatível	100,00	Incompatível
Gengibre	55,29	Incompatível	96,03	Incompatível
Alho	25,21	Compatível	93,46	Incompatível
Arruda	80,22	Incompatível	96,86	Incompatível

<sup>1</sup> Mortalidade corrigida pela fórmula de Abbott (1925). <sup>2</sup> Classificação de compatibilidade segundo Vainio (1992).

Tabela 3 Redução de infectividade (%) de *Steinernema carpocapsae* ALL, após 48 e 120 horas da exposição aos extratos vegetais e classificação de compatibilidade dos extratos vegetais com o nematóide em relação à infectividade sobre larvas de *Ceratitis capitata*.

Tratamentos	48 horas		120 horas	
	% redução infectividade <sup>1</sup>	Classificação <sup>2</sup>	% redução infectividade <sup>1</sup>	Classificação <sup>2</sup>
Fruto de cinamomo	69,00	Incompatível	98,39	Incompatível
Folha de cinamomo	56,03	Incompatível	96,80	Incompatível
Ramo de cinamomo	59,00	Incompatível	85,60	Incompatível
Gengibre	71,04	Incompatível	93,50	Incompatível
Alho	74,04	Incompatível	93,60	Incompatível
Arruda	80,04	Incompatível	80,70	Incompatível

<sup>1</sup> Porcentagem de redução de infectividade em relação à testemunha. <sup>2</sup> Classificação de compatibilidade segundo Vainio (1992).

Já o isolado *Heterorhabditis* sp. JPM4 foi mais sensível em relação ao *S. carpocapsae* ALL, pois apresentou na primeira avaliação (48 horas) redução na viabilidade superior a 80,0% quando exposto a todos os extratos, exceto o de gengibre, o qual causou redução de 45,5%, sendo o único compatível com esse nematóide (Tabela 4 e 5). Ao analisar a infectividade, todos os extratos foram incompatíveis, pois causaram redução superior a 75,4% (Tabela 6). Na segunda avaliação (120 horas), todos os extratos causaram 100% de redução na viabilidade e infectividade do nematóide, sendo considerados incompatíveis.

Tabela 4 Viabilidade e infectividade ( $\pm$ EP) de *Heterorhabditis* sp. JPM4, após 48 e 120 horas da exposição aos extratos vegetais.

Tratamentos	48 horas <sup>1,2</sup>		120 horas <sup>1,2</sup>	
	Viabilidade <sup>1,2</sup>	Infectividade	Viabilidade	Infectividade
Testemunha	92,46 $\pm$ 2,81a	50,80 $\pm$ 2,09a	89,37 $\pm$ 2,69 <sup>a</sup>	34,13 $\pm$ 1,58a
Fruto de cinamomo	3,07 $\pm$ 1,82d	4,15 $\pm$ 3,15b	0,00 $\pm$ 0,00b	0,00 $\pm$ 0,00b
Folha de cinamomo	0,00 $\pm$ 0,00e	5,80 $\pm$ 2,09b	0,00 $\pm$ 0,00b	0,00 $\pm$ 0,00b
Ramo de cinamomo	0,64 $\pm$ 0,64e	6,63 $\pm$ 1,37b	0,00 $\pm$ 0,00b	0,00 $\pm$ 0,00b
Gengibre	50,39 $\pm$ 2,58b	4,15 $\pm$ 2,10b	0,00 $\pm$ 0,00b	0,00 $\pm$ 0,00b
Alho	18,44 $\pm$ 2,65c	9,13 $\pm$ 2,84b	0,00 $\pm$ 0,00b	0,00 $\pm$ 0,00b
Arruda	0,00 $\pm$ 0,00e	12,48 $\pm$ 1,58b	0,00 $\pm$ 0,00b	0,00 $\pm$ 0,00b
CV (%)	21,25	35,75	7,97	12,41

<sup>1</sup> Médias seguidas da mesma letra na mesma coluna não diferem entre si pelo teste Scott-Knott ( $P \leq 0,05\%$ ). <sup>2</sup> Dados originais apresentados, transformados em  $\arcsen\sqrt{x/100}$  para análise.

Tabela 5 Mortalidade corrigida (%) de *Heterorhabditis* sp. JPM4, após 48 e 120 horas da exposição aos extratos vegetais e classificação de compatibilidade.

Tratamentos	48 horas		120 horas	
	Mortalidade corrigida <sup>1</sup>	Classificação <sup>2</sup>	Mortalidade corrigida <sup>1</sup>	Classificação <sup>2</sup>
Fruto de cinamomo	96,68	Incompatível	100,00	Incompatível
Folha de cinamomo	100,00	Incompatível	100,00	Incompatível
Ramo de cinamomo	99,31	Incompatível	100,00	Incompatível
Gengibre	45,50	Compatível	100,00	Incompatível
Alho	80,06	Incompatível	100,00	Incompatível
Arruda	100,00	Incompatível	100,00	Incompatível

<sup>1</sup> Mortalidade corrigida pela fórmula de Abbott (1925). <sup>2</sup> Classificação de compatibilidade segundo Vainio (1992).

Tabela 6 Redução de infectividade (%) de *Heterorhabditis* sp. JPM4, após 48 e 120 horas da exposição à diferentes extratos vegetais e classificação de compatibilidade dos extratos vegetais com o nematóide em relação à infectividade sobre larvas de *Ceratitis capitata*

Tratamentos	48 horas		120 horas	
	% redução infectividade <sup>1</sup>	Classificação <sup>2</sup>	% redução infectividade <sup>1</sup>	Classificação <sup>2</sup>
Fruto de cinamomo	91,83	Incompatível	100,00	Incompatível
Folha de cinamomo	88,58	Incompatível	100,00	Incompatível
Ramo de cinamomo	86,96	Incompatível	100,00	Incompatível
Gengibre	91,83	Incompatível	100,00	Incompatível
Alho	82,04	Incompatível	100,00	Incompatível
Arruda	75,44	Incompatível	100,00	Incompatível

<sup>1</sup> Porcentagem de redução de infectividade em relação à testemunha. <sup>2</sup> Classificação de compatibilidade segundo Vainio (1992).

Ramirez et al. (2009) estudando a compatibilidade de extratos de mostarda, com os diferentes espécies de nematóides entomopatogênicos, pertencentes aos gêneros *Steinernema* e *Heterorhabditis*, também verificaram maior sensibilidade do último gênero. De acordo com Zasada; Ferris (2004), isso ocorre porque algumas espécies de nematóide apresentam características biológicas que as tornam inerentemente mais ou menos resistentes aos efeitos nocivos de determinados produtos.

O mecanismo de ação dos extratos estudados sobre os nematóides ainda não está bem determinado. No entanto, sabe-se que o efeito nematicida de muitos extratos vegetais está relacionado à presença de substâncias produzidas pelo metabolismo secundário da planta, as quais podem danificar irreversivelmente determinados processos fisiológicos essenciais de certos organismos.

Nesse sentido, o efeito nematicida do extrato de cinamomo está relacionado à presença de substâncias comuns, entre as espécies da família Meliaceae, tais como a azadiractina, meliantrol e salanina (MARTINEZ; VAN EMDEN, 2001). Já a ação do extrato de alho, sobre os nematóides, ocorre devido à presença de compostos sulfurosos, isotiocianatos, nitrilas, tiocianatos e epinitrilas na planta, enquanto que o extrato de arruda apresenta alcalóides (rutalinium, rutilidina, rutacridona e rutilidina), cumarinas (chalepeusina e gravileferona), flavonóides (rutina e hesperidina) e terpenos na planta, os quais apresentam atividade nematicida (SASANELLI, 1992; MARTINS et al., 1995). Para o extrato de gengibre, são necessários estudos bioquímicos da planta para determinar quais compostos podem atuar sobre os nematóides, reduzindo a sua viabilidade e infectividade.

Não foram encontrados trabalhos avaliando o efeito dos extratos vegetais estudados no presente trabalho sobre nematóides entomopatogênicos. No entanto, o efeito nematicida deles já foi registrado para alguns nematóides fitopatogênicos, tais como *Meloidogyne javanica*, *M. arenaria*, *M. hapla*, *M. incognita*, *M. exigua*, *Scutellonema bradys*, *Tylenchulus semipenetrans*, *Aphelenchoides sacchari*, *Xiphinema index*, *Heterodera schachtii* (SASANELLI, 1992; SASANELLI; D'ADDABOO, 1992; DIAS et al., 2000; AMARAL et al., 2002; COIMBRA et al., 2006; SALGADO; CAMPOS, 2003; GARDIANO et al., 2009).

Em trabalhos semelhantes, Abdel-Rasek; Gowen (2002) e Mahmoud (2007) observaram que a combinação de nematóides entomopatogênico com extrato de plantas de nim pode ser favorável para o controle de *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Yponomeutidae) e *Bactrocera zonata* (Diptera: Tephritidae), respectivamente, indicando a compatibilidade entre os dois métodos de controle. Os autores concluíram ainda que a associação dos dois métodos pode incrementar o controle desses insetos-praga.

Por outro lado, Stark (1996) observou que o produto Margosan-O, uma formulação comercial do nim, foi incompatível com os nematóides *S. carpocapsae*, *S. feltiae* e *S. glaseri*. Rovesti; Deseo (1989) verificaram que extrato aquoso de nim também foi tóxico para *S. carpocapsae*. Esses autores ressaltaram ainda que a atividade dos extratos vegetais sobre os nematóides entomopatogênicos é influenciada de acordo com a idade da planta, parte do vegetal utilizada e método de extração. Assim, os extratos aqui estudados podem apresentar menor toxicidade para *S. carpocapsae* ALL e *Heterorhabditis* sp. JPM4, quando preparados de maneira diferente.

Com os resultados do presente trabalho, pode-se concluir que os extratos de folha, ramo e fruto de cinamomo, arruda, gengibre e alho são incompatíveis com *S. carpocapsae* ALL e *Heterorhabditis* sp. JPM4. Vale ressaltar, no entanto, que houve exposição máxima dos extratos sobre os nematóides, sendo necessários novos estudos para avaliar o efeito desses em condições de campo.

#### 4 REFERÊNCIAS

ABDEL-RASEK, A. S.; GOWEN, S. The integrated effect to the nematode-bacteria complex and neem plant extracts against *Plutella xylostella* (L.) larvae (Lepidoptera: Yponomeutidae) on chinese cabbage. **Archive Phytopathology**, v. 35, p. 181-188, 2002.

ABBOTT, W. S. A method of computing the effectiveness of an insecticide. **Journal of Economic Entomology**, College Park, v. 18, p. 265-266, 1925.

AMARAL, D. R.; OLIVEIRA, D. F.; CAMPOS, V. P.; CARVALHO, D. A. Efeito de alguns extratos vegetais na eclosão, mobilidade, mortalidade e patogenicidade de *Meloidogyne exigua* do cafeeiro. **Nematologia Brasileira**, v. 26, n. 1, p. 43-48, 2002.

BUENO, L. N. Las moscas de las frutas: importancia económica, aspectos taxonómicos, distribución mundial de los géneros de importancia económica. In: SEMINARIO TALLER SOBRE EL MANEJO DE LAS MOSCAS DE LAS FRUTAS EN EL DEPARTAMENTO DE ARAUCA, 1., 2000, Saravena, Colombia. **Primer...** Saravena, Colombia. 2000. p. 1-19.

COIMBRA, J. L.; SOARES, A. C. F.; GARRIDO, M. S.; SOUZA, C. S.; RIBEIRO, F. L. B. Toxicidade de extratos vegetais a *Scutellonema bradys*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.41, n.7, p.1209-1211, jul. 2006

DIAS, C. R.; SCHWAN, A.V.; EZEQUIEL, D. P.; SARMENTO, M. C.; FERRAZ, S. Efeito de extratos aquosos de plantas medicinais na sobrevivência de juvenis de *Meloidogyne incognita*. **Nematologia Brasileira**, Campinas, v. 24, n. 2, p. 203-210, 2000.

FERREIRA, D. F. Análise estatística por meio do SISVAR (Sistema para Análise de Variância) para Windows versão 4.0. In: REUNIÃO ANUAL DA REGIÃO BRASILEIRA DA SOCIEDADE INTERNACIONAL DE BIOMETRIA. **Anais...** São Carlos: UFSCar, p. 255-258, 2000.

GARDIANO, C. G.; FERRAZ, S.; LOPES, E. A.; FERREIRA, P. A.; AMORA, D. X.; FREITAS, L. G. Avaliação de extratos aquosos de várias espécies vegetais, aplicados ao solo, sobre *Meloidogyne javanica* (Treub, 1885) Chitwood, 1949. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 30, n. 3, p. 551-556, jul./set. 2009.

- GAZIT, Y.; ROSSLER, Y.; GLAZER, I. Evaluation of entomopathogenic nematodes for the control of mediterranean fruit fly (Diptera: Tephritidae). **Biocontrol Science and Technology**, Abingdon, v. 10, n. 2, p. 157-164, Apr. 2000.
- GEORGIS, R.; KOPPENHÖFER, A. M.; LACEY, L. A.; BÉLAIR, G.; DUNCAN, L. W.; GREWAL, P. S.; SAMISH, M.; TAN, L.; TORR, P.; van TOL, R.W.H.M. Successes and failures in the use of parasitic nematodes for pest control. **Biological Control**, San Diego, v. 38, n. 1, p. 103-123, July 2006.
- KRISHNAYYA, P. V.; GREWAL, P. S. Effect of neem and selected fungicides on viability and virulence of the entomopathogenic nematode *Steinernema feltiae*. **Biocontrol Science and Technology**, v. 12, p. 259-266, 2002.
- LABORDA, R.; BARGUES, L.; NAVARRO, C.; BARAJAS, O.; ARROYO, M.; GARCIA, E. M.; MONTORO, E.; LLOPIS, E.; MARTINEZ, A.; SAYAGUES, J. M. Susceptibility of the mediterranean fruit fly (*Ceratitiscapitata*) to entomopathogenic nematode *Steinernema* spp. ("Biorend C"). **Bulletin OILB/SROP**, Dijon, v. 26, n. 6, p. 95-97, 2003.
- LINDEGREN, J. E.; VAIL, P. V. Susceptibility of mediterranean fruit fly, melon fly, and oriental fruit fly (Diptera: Tephritidae) to the entomogenous nematode *Steinernema feltiae* in laboratory tests. **Environmental Entomology**, Lanham, v. 15, n. 3, p. 465-468, June 1986.
- LINDEGREN, J. E.; WONG, T. T.; MCINNIS, D. O. Response of mediterranean fruit fly (Diptera: Tephritidae) to the entomogenous nematode *Steinernema feltiae* in field tests in Hawaii. **Environmental Entomology**, Lanham, v. 19, n. 2, p. 383-386, Apr. 1989.
- LINDEGREN, J. E. Field suppression of three fruit fly species (Diptera: Tephritidae) with *Steinernema carpocapsae*. In: INTERNATIONAL COLLOQUIUM ON INVERTEBRATE MICROBIAL CONTROL, 5., 1990, Foz de Iguaçu. **Proceedings and abstracts...** Foz de Iguaçu, 1990. p. 223.
- MAHMOUD, F. Combining the botanical insecticides nsk extract, neemazal t 5%, neemix 4.5% and the entomopathogenic nematode *Steinernema feltiae* cross n 33 to control the peach fruit fly, *Bactrocera zonata* (Saunders). **Plant Protection Science**, v. 43, n. 1, p. 19-25, 2007.
- MALAVASI, A.; ZUCCHI, R. A.; SUGAYAMA, R. L. Biogeografia. In: MALAVASI, A.; ZUCCHI, R. A. **Moscas-das-frutas de importância**

**econômica no Brasil:** conhecimento básico e aplicado. Ribeirão Preto: Holos, 2000. p. 93-98.

MARTINEZ, S. S.; VAN EMDEN, H. F. Growth disruption, abnormalities and mortality of *Spodoptera littoralis* caused by azadirachtin. **Neotropical Entomology**, Londrina, v.30, n. 1, p. 113-125, 2001.

MARTINS, E. R.; CASTRO, D. M.; CASTELLANI, D. C.; DAS, J. E. **Plantas medicinais**. Viçosa: Imprensa Universitária, 1995. 25 p.

NASCIMENTO, A. S.; CARVALHO, R. S. Manejo integrado de mosca-das-frutas. In: MALAVASI, A.; ZUCCHI, R. A. **Moscas-das-frutas de importância econômica no Brasil:** conhecimento básico e aplicado. Ribeirão Preto: Holos, 2000. p. 169-174.

RAMIREZ, R. A.; HENDERSON, D. R.; RIGA, E.; LACEY, L. A.; SNYDER, W. Harmful effects of mustard bio-fumigants on entomopathogenic nematodes. **Biological Control**, v. 48, n. 147-154, 2009.

ROHDE, C.; MOINO JR., A.; SILVA, M. A. T.; CARVALHO, F. D.; FERREIRA, C. S. Influence of soil temperature and moisture on the infectivity of entomopathogenic nematodes (Rhabditida: Heterorhabditidae e Steinernematidae) against larvae of *Ceratitis capitata* (Wiedemann) (Diptera: Tephritidae). **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 39, n. 04, p. 608-611, Aug. 2010.

ROVESTI, L.; DESEO, K.K. Effect of neem kernel extract on Steinernematid and Heterorhabditid nematodes. **Nematologica**, v. 35, p. 493- 496, 1989.

SALGADO, S. M.; CAMPOS, V. Eclosão e mortalidade de *Meloidogyne exigua* em extratos e em produtos naturais. **Fitopatologia Brasileira**, v. 28, n. 2, mar./abr., 2003.

SALVATORE, A.; BORKOSKY, S.; WILLINK, E.; BARDÓN, A. Toxic effects of lemon peel constituents on *Ceratitis capitata*. **Journal of Chemical Ecology**, v. 30, n. 2, Feb. 2004.

SASANELLI, N. Nematicidal activity of aqueous extracts from leaves of *Ruta graveolens* on *Xiphinema index*. **Nematologia Mediterrânea**, v. 20, n. 1, p. 53-55, 1992.

SASANELLI, N.; D'ADDABBO, T. D. Effect of *Cineraria maritima*, *Ruta graveolens* and *Tagetes erecta* on the hatching of *Heterodera schachtii*.

**Nematologia Mediterrânea**, v. 20, n. 1, p. 59-51, 1992.

SHAPIRO-ILAN, D. I.; GOUGE, D. H.; PIGGOTT, S. J.; FIFE, J. P.

Applications technology and environmental considerations for use of entomopathogenic nematodes in biological control. **Biological Control**, San Diego, v. 38, n. 1, p. 124-133, July 2006.

SILVA, A. C. **Efeito inseticida, deterrente e suppressor alimentar de alguns extratos vegetais sobre *Ceratitis capitata* (Wiedemann, 1824) (Diptera: Tephritidae) e *Ascia monuste orseis* (Latreille, 1819) (Lepidoptera: Pieridae) em laboratório.** 1990. 129 p. Tese (Doutorado em Entomologia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG, 1990.

STARK, J. D. Entomopathogenic nematodes (Rhabditida: Steinernematidae): toxicity of neem. **Journal of Economic Entomology**, v. 89, n. 1, p. 68-73, Feb. 1996.

VAINIO, A. Guideline for laboratory testing of the side-effects of pesticides on entomophagous nematodes *Steinernema* spp. **IOBC/WPRS Bulletin**, v.15, p.145-147, 1992.

WHITE, I. A.; ELSON-HARRIS, M. M. Introduction. In: WHITE, I. A.; ELSON-HARRIS, M. M. **Fruit flies of economic significance: their identification and bionomics.** Australia: CAB International, 1992. p. 1-14.

WOODRING, J. L.; KAYA, H. K. **Steinernematidae and Heterorhabditidae nematodes: a handbook of techniques southern cooperative.** Arkansas: Arkansas Agricultural Experiment Station Fayetteville, 1988. (Series Bulletin).

ZAPPATA, N.; BUDIA, F.; VINUELA, E.; MEDINA, P. Insecticidal effects of various concentrations of selected extractions of *Cestrum parqui* on adult and immature *Ceratitis capitata*. **Journal of Economic Entomology**, College Park, v. 99, n. 2 p. 359-365, 2006.

ZASADA, I.A.; FERRIS, H. Nematode suppression with brassicaceous amendments: application based upon glucosinolate profiles. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 36, p.1017–1024, 2004.

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

ZUCCHI, R. A. Mosca-do-mediterrâneo, *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae). In: VILELA, E. F.; ZUCCHI, R. A.; CANTOR, F. **Histórico e impacto das pragas introduzidas no Brasil**. Ribeirão Preto: Holos, 2001. p. 15-22.

#### 4 CONCLUSÕES GERAIS

1. Os isolados *S. carpocapsae* ALL e *Heterorhabditis* sp. JPM4 são eficientes para o controle de larvas e pupas de *C. capitata*, sendo o primeiro o mais virulento.
2. A virulência de *S. carpocapsae* ALL e *Heterorhabditis* sp. JPM4 é diretamente proporcional ao aumento da concentração do nematóide.
3. O uso desses entomopatógenos, na concentração de 220JI/cm<sup>2</sup>, causa redução considerável na população dessa praga.
4. O isolado *S. carpocapsae* ALL não apresenta capacidade de migração horizontal, característica essa observada para *Heterorhabditis* sp. JPM4 a curtas distâncias.
5. Os isolados *S. carpocapsae* ALL e *Heterorhabditis* sp. JPM4 apresentam redução na eficiência ao longo do tempo para o controle de *C. capitata*.
6. Os isolados *S. carpocapsae* ALL e *Heterorhabditis* sp. JPM4 são eficazes no controle dessa praga quando aplicados em solo, sem cobertura ou com cobertura vegetal seca.
7. A fase larval de *C. capitata* é mais suscetível aos nematóides entomopatogênicos em relação à fase de pupa.
8. Todos os extratos estudados apresentam efeito inseticida sobre larvas e pupas de *C. capitata*.
9. Apenas o extrato do fruto de cinamomo apresenta efeito inseticida sobre adultos de *C. capitata*.
10. O extrato de fruto de cinamomo é o mais eficiente para o controle de *C. capitata*, sendo a concentração de 20% p/v adequada.
11. Nenhum dos extratos estudados tem efeito sobre a fecundidade de fêmeas de *C. capitata*.

12. Extratos preparados com vegetais secos foram mais eficientes em relação aos extratos preparados com vegetais frescos.
13. A fase de pupa de *C. capitata* é mais suscetível aos extratos vegetais, em relação à fase larval.
14. Todos os extratos estudados são incompatíveis com os nematóides *S. carpocapsae* ALL e *Heterorhabditis* sp. JPM4, após 120 horas de exposição.
15. O nematóide *Heterorhabditis* sp. JPM4 é mais sensível à exposição dos extratos vegetais, em relação ao *S. carpocapsae* ALL.