



**VITOR VASCONCELLOS DE OLIVEIRA**

**INFLUÊNCIA DA COMPOSIÇÃO DA DIETA NO CONTROLE  
DE *Ceratitis capitata* (DIPTERA: TEPHRITIDAE) POR  
NEMATOIDES ENTOMOPATOGÊNICOS**

**LAVRAS-MG  
2023**

**VITOR VASCONCELLOS DE OLIVEIRA**

**INFLUÊNCIA DA COMPOSIÇÃO DA DIETA NO CONTROLE DE *Ceratitis capitata*  
(DIPTERA: TEPHRITIDAE) POR NEMATOIDES ENTOMOPATOGÊNICOS**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Entomologia, área de concentração em Entomologia, para a obtenção do título de Mestre.

Prof. Dr. Alcides Moino Junior  
Orientador

**LAVRAS-MG  
2023**

Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de Geração de Ficha Catalográfica da Biblioteca Universitária da UFLA, com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).

Oliveira, Vitor Vasconcellos de.

“Influência do fruto hospedeiro no controle de *Ceratitidis capitata* por nematoides entomopatogênicos” /Vitor Vasconcellos de Oliveira. - 2023.

76 p. : il.

Orientador: Alcides Moino Junior

Dissertação (mestrado acadêmico) - Universidade Federal de Lavras, 2023.

Bibliografia.

1. Fator nutricional. 2. Susceptibilidade. 3. Controle biológico.  
I. Moino Junior, Alcides. II. Título.

**VITOR VASCONCELLOS DE OLIVEIRA**

**INFLUÊNCIA DO FRUTO HOSPEDEIRO NO CONTROLE DE *Ceratitis capitata* POR  
NEMATOIDES ENTOMOPATOGÊNICOS**

**INFLUENCE OF THE HOST FRUIT ON THE CONTROL OF *Ceratitis capitata* BY  
ENTOMOPATHOGENIC NEMATODES**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Entomologia, para a obtenção do título de Mestre.

APROVADO em 31 de janeiro de 2023  
Adriana Mascarette Labinas - UNITAU  
Viviane Sandra Alves - UENP

Prof. Dr. Alcides Moino Junior  
Orientador

**LAVRAS - MG  
2023**

*Primeiramente a Deus, aos meus pais e a todas as pessoas que acreditaram em mim.*

***DEDICO***

## **AGRADECIMENTOS**

À Universidade Federal de Lavras (UFLA) e ao Departamento de Entomologia, pela oportunidade concedida para realização do mestrado.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

Aos professores do Departamento de Entomologia da UFLA, pelos ensinamentos transmitidos e harmoniosa convivência.

Ao Professor Dr. Alcides Moino Junior pela orientação, paciência, amizade, dedicação e seus ensinamentos que foram de grande relevância para a realização deste trabalho e meu crescimento profissional.

À Profa. Dra. Adriana Mascarettelabinas, pelos conhecimentos repassados na disciplina de Entomologia e pela disposição em participar como membro na banca examinadora.

Aos amigos da Entomologia, pela preciosa ajuda na condução dos experimentos.

Agradecimento especial para Fernanda Soares, Mariana Macedo e Vanessa Exteckoetter, que me ajudaram nos momentos mais difíceis. Esta dissertação só foi possível por causa de vocês, meus sinceros agradecimentos.

Nenhum esforço faz sentido, se voc4 n4o acredita em si mesmo

**Maito Gai**

## RESUMO

*Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae) é uma praga chave na fruticultura mundial, sendo um inseto polífago, causando danos em diversos pomares de interesse econômico. Atualmente é comum o uso de produtos químicos para o controle populacional das moscas-das-frutas, porém os efeitos colaterais é danoso ao meio ambiente e à saúde humana, além de selecionar populações resistentes. O controle biológico por nematoides entomopatogênicos (NEP), é uma importante tática de Manejo Integrado de Pragas (MIP) para *C. capitata*, e, estudos demonstram que o fator nutricional influencia a taxa de desenvolvimento das moscas-das-frutas, podendo interferir na susceptibilidade do inseto e na progênie dos NEP. Desta forma, o objetivo deste trabalho foi avaliar a eficiência de NEP dos gêneros *Heterorhabditis* e *Steinernema* sobre larvas de *C. capitata* alimentadas por diferentes dietas à base de frutos. Os bioensaios foram conduzidos no Laboratório de Patologia e Controle Microbiano de Insetos da Universidade Federal de Lavras – UFLA, em condições controladas ( $25 \pm 2^\circ\text{C}$ , UR  $70 \pm 10\%$ , 12h de fotofase). Foram coletadas larvas de terceiro instar que se desenvolveram em dieta artificial, aplicando-se 1 mL de suspensão contendo 100 juvenis infectantes (JI)/inseto de isolados nativos e exóticos de NEP, avaliando se a dieta formou barreira física e se favoreceu a resistência aos NEP. Posteriormente foi feito bioensaio para identificar a dosagem ótima, susceptibilidade das larvas de *C. capitata* aos NEP, e, subseqüentemente foi feita a inoculação de ovos de *C. capitata* em diferentes dietas a base de fruta, sendo dietas à base de goiaba, maçã, laranja, manga e dieta artificial. Foi também, analisada a progênie e a eficácia dos JI provindos de larvas alimentadas com as diferentes dietas em *Galleria mellonella* (Lepidoptera: Pyralidade). Verificou-se que as larvas de *C. Capitata* foram suscetíveis a todos os isolados de NEP, independente da dieta, e a taxa de mortalidade variou entre 38,3% (*Heterorhabditis amazonensis* RSC05) a 92,8% (*Steinernema brazilense*). Para as larvas sem dieta, a mortalidade variou de 53,3% (*Heterorhabditis amazonensis* RSC05) a 90,1%, com destaque para *S. feltiae*. Os JI de todos os isolados foram recuperados, tanto na presença como na ausência de dieta, e a taxa de mortalidade de larvas de *C. capitata* que receberam dieta foi menor que a das larvas sem dieta. A mortalidade das larvas foi proporcional ao aumento da concentração dos JI, com  $DL_{50}$  16,4JI/Inseto e 11,94 JI/Inseto, e  $DL_{90}$  de 108,01 JI/Inseto e 147,9 JI/Inseto para *S. feltiae* e *S. brazilense* respectivamente. A susceptibilidade das larvas alimentadas com diferentes dietas demonstrou diferença na virulência dos NEP, sendo que para *S. feltiae*, o tratamento com a dieta à base de manga foi inferior (77,3%) e dieta artificial foi maior (94,8%) na mortalidade. Para *S. brazilense* a taxa de mortalidade variou de 66,8% (dieta à base de manga) a 90,5% (dieta à base de laranja). Com isso, conclui-se que há uma variação na susceptibilidade das larvas de *C. capitata* ao NEP de acordo com a fonte de alimentação, sendo necessário realizar estudos para verificar os fatores nutricionais que interferem na ação do entomopatógeno.

**Palavras-chave:** Fator nutricional. Susceptibilidade. Controle biológico.



## ABSTRACT

*Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae) is a key pest in fruit production worldwide, being a polyphagous insect, causing damage to several orchards of economic interest. Currently, the use of chemical products to control the population of fruit flies is common, but the side effects are harmful to the environment and human health, in addition to selecting resistant populations. Biological control by entomopathogenic nematodes (EPN) is an important Integrated Pest Management (IPM) tactic for *C. capitata*, and studies show that the nutritional factor influences the development rate of fruit flies, which may interfere with the insect susceptibility and in EPN progeny. Thus, the objective of this work was to evaluate the efficiency of NEP from the genera *Heterorhabditis* and *Steinernema* on *C. capitata* larvae fed on different fruit-based diets. The bioassays were conducted at the Laboratory of Pathology and Microbial Control of Insects at the Federal University of Lavras – UFLA, under controlled conditions ( $25 \pm 2^\circ\text{C}$ , RH  $70 \pm 10\%$ , 12h of photophase). Third-instar larvae that developed on an artificial diet were collected, applying 1 mL of suspension containing 100 infective juveniles (IJ)/insect from native and exotic EPN isolates, evaluating whether the diet formed a physical barrier and favored resistance to NEP. Another bioassay was carried out to identify the optimal dosage, susceptibility of *C. capitata* larvae to EPN, and, subsequently, inoculation of *C. capitata* eggs was performed on different fruit-based diets, including guava, apple, orange, mango and artificial diets. It was also analyzed the progeny and the effectiveness of IJ from larvae fed with different diets on *Galleria mellonella* (Lepidoptera: Pyralidae). *C. capitata* larvae were found to be susceptible to all EPN isolates, regardless of diet, and the mortality rate ranged from 38.3% (*Heterorhabditis amazonenses* RSC05) to 92.8% (*Steinernema brazilense*). For larvae without diet, mortality ranged from 53.3% (*Heterorhabditis amazonenses* RSC05) to 90.1%, with emphasis on *S. feltiae*. The JI of all isolates were recovered, both in the presence and absence of diet, and the mortality rate of larvae of *C. capitata* that received diet was lower than that of larvae without diet. Larvae mortality was proportional to the increase in IJ concentration, with LD<sub>50</sub> 16.41 IJ/Insect and 11.94 IJ/Insect, and LD<sub>90</sub> of 108.01 IJ/Insect and 147.9 IJ/Insect for *S. feltiae* and *S. brazilense* respectively. The susceptibility of the larvae fed different diets showed a difference in the virulence of the EPN, and for *S. feltiae*, the treatment with the mango-based diet was lower (77.3%) and the artificial diet was higher (94.8%) in mortality. For *S. brazilense* the mortality rate ranged from 66.8% (mango-based diet) to 90.5% (orange-based diet). With this, it is concluded that there is a variation in the susceptibility of *C. capitata* larvae to EPN according to the food source, being necessary to carry out studies to verify the nutritional factors that interfere in the action of the entomopathogen.

**Keywords:** Nutritional factor. Susceptibility. Biological Control.

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Composição da dieta artificial fornecida para as larvas de <i>Ceratitis capitata</i> (Diptera: Tephritidae).....	32
Tabela 2: Ingredientes da dieta artificial fornecida para lagartas de <i>Galleria mellonella</i> (Lepidoptera: Pyralidae).....	33
Tabela 3: Isolados de nematoides entomopatogênicos dos gêneros <i>Heterorhabditidae</i> e <i>Steinernematidae</i> utilizados nos bioensaios.....	33
Tabela 4: Esquema de avaliação diário de coleta dos JI.....	36
Tabela 5: Composição da dieta artificial para o desenvolvimento larval de <i>C. capitata</i> .....	37
Tabela 6 – Unidade de Dieta Padrão à base de Frutas.....	39
Tabela 7: Variação da taxa de mortalidade de larvas de 3º instar de <i>Ceratitis capitata</i> causada por isolados de nematoides entomopatogênicosna presença e ausência de dieta alimentar.....	45
Tabela 8: Total de Juvenis Infectantes (JI) coletados em armadilhas após exposição dos isolados de NEP a tratamentos com e sem dieta utilizada na alimentação de <i>Ceratitis capitata</i> em condições de laboratório.....	47
Tabela 9: Porcentagem de juvenis infectantes (JI) coletados por dia após exposição a tratamento com e sem dieta utilizada na criação de <i>Ceratitis capitata</i> em condições de laboratório.....	48
Tabela 10: Porcentagem de JI vivos coletados dos isolados de NEP após expocisão a dieta de <i>Ceratitis capitata</i> em condições de laboratório.....	48
Tabela 11: Porcentagem de juvenis infectantes (JI) vivos coletados por dia após exposição a tratamento com e sem dieta utilizada na criação de <i>Ceratitis capitata</i> em condições de laboratório.....	49
Tabela 12: Porcentagem de JI mortos coletados dos isolados de NEP após expocisão a dieta de <i>Ceratitis capitata</i> em condições de laboratório.....	49
Tabela 13: Porcentagem de juvenis infectantes (JI) mortos coletados por dia após exposição a tratamento com e sem dieta utilizada na criação de <i>Ceratitis capitata</i> em condições de laboratório.....	50
Tabela 14: Relação entre a taxa de coleta de JI vivos e mortos em dieta e controle.....	50
Tabela 15: Porcentagem de mortalidade de larvas de <i>Ceratitis capitata</i> com $\frac{3}{4}$ da área exposta e $\frac{1}{4}$ com a mesma dieta artificial do bioensaio 1, porém com textura gelatinosa.....	51
Tabela 16: Interação da mortalidade de larvas de terceiro instar de <i>Ceratitis capitata</i> onde houve disposição da dieta em toda superfície da área (Bioensaio 1) e o Bioensaio 3 que teve presença da dieta artificial em $\frac{1}{4}$ da superfície da área.....	52
Tabela 17: Mortalidade de larvas de <i>C. capitata</i> ocasionada pelos isolados de <i>S. feltiae</i> e <i>S. brazilense</i> em diferentes concentrações.....	53
Tabela 18: Concentração de JI dos isolados de <i>S. brazilense</i> e <i>S. feltiae</i> necessária para causar mortalidade em uma determinada população de <i>C. Capitata</i> .....	54
Tabela 19: Taxa de mortalidade dos isolados em larvas que se desenvolveram em diferentes dietas.....	55
Tabela 20: Progênie dos isolados <i>S. brazilense</i> e <i>S. feltiae</i> em larvas de <i>C. capitata</i> que se desenvolveram em diferentes dietas.....	56
Tabela 21: Taxa de mortalidade dos JI em lagartas de <i>G. Mellonella</i> .....	56
Tabela 22: Progênie dos isolados de <i>S. brazilense</i> e <i>S. feltiae</i> em lagartas de <i>G. mellonella</i> com JI provindos de larvas de <i>C. capitata</i> que se alimentaram de diferentes dietas.....	57

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Larva de <i>Ceratitis capitata</i> (Diptera: Tephritidae) com a sintomatologia de infecção por nematoides entomopatogênicos e a presença do agente de controle biológico.....	35
Figura 2: Sequência da montagem das repetições.....	36
Figura 3: Demonstração das repetições dos tratamentos com dieta e sem dieta .....	36
Figura 4: Repetição com pequena parte da dieta artificial .....	37
Figura 5: Dietas à base de frutos .....	39
Figura 6: Larvas de terceiro instar na dieta à base de manga.....	41
Figura 7: Larvas de <i>C. capitata</i> com sintoma de morte por NEP na placa de White.....	42
Figura 8: Repetições por tratamento .....	42
Figura 9: Análise de regressão para a mortalidade confirmada de larvas de <i>Ceratitis capitata</i> (Diptera: Tephritidae) submetidas a diferentes concentrações de <i>S. brazilense</i> e <i>S. feltiae</i> .....	54

## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO GERAL.....	13
2.1 OBJETIVO GERAL.....	15
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	15
3 HIPÓTESES .....	16
3.1 Hipótese Geral .....	16
3.2 Hipóteses Específicas.....	16
4. REFERENCIAL TEÓRICO.....	17
4.1. Fruticultura .....	17
4.2. Manga - <i>Mangifera indica</i> L.....	18
4.3. Laranja - <i>Citrus sinensis</i> .....	19
4.4. Goiaba - <i>Psidium guajava</i> L.....	20
4.5. Maçã - <i>Malus domestica</i> Borkh.....	20
4.6. Tabela nutricional das frutas .....	22
4.7. Relação entre mosca frugívora e fruta hospedeira.....	22
4.7.1. Hospedeiro natural.....	23
4.7.2. Hospedeiro condicional.....	23
4.7.3. Não hospedeiro .....	23
4.8. Moscas das frutas - Família Tephritidae.....	23
4.9. Mosca do Mediterrâneo - <i>Ceratitis capitata</i> .....	24
4.10. Danos causados e importância econômica .....	25
4.11. Métodos de controle da mosca-das-frutas.....	26
4.11.1. Métodos Culturais.....	27
4.11.2. Técnica do inseto estéril (TIE) .....	27
4.11.3. Controle Químico .....	27
4.12. Controle Biológico.....	27
4.13. Nematoides entomopatogênicos .....	28
4.14. Nutrição X NEP.....	29
5. MATERIAL E MÉTODOS.....	31
5.1. Criação de <i>Ceratitis capitata</i> .....	31
5.2. Criação de <i>Galleria mellonella</i> .....	32
5.3. Obtenção e multiplicação in vivo dos nematoides entomopatogênicos.....	33
5.4. BIOENSAIO 1: Interferência da dieta artificial na virulência de nematoides entomopatogênicos sobre <i>Ceratitis capitata</i> .....	34
5.5. BIOENSAIO 2: Interferência da dieta na viabilidade dos isolados de NEP.....	35
5.6. BIOENSAIO 3: TESTE DE NUTRIÇÃO.....	36
5.7. BIOENSAIO 4: Determinação da concentração de NEP para <i>C. capitata</i> . .....	38

<b>5.8. BIOENSAIO 5: Susceptibilidade das larvas de <i>C. capitata</i> aos NEP de acordo com a fonte de alimentação e interferência na produção e progênie .....</b>	<b>38</b>
<b>5.9. Análise estatística .....</b>	<b>42</b>
<b>6. RESULTADOS.....</b>	<b>44</b>
<b>6.1. BIOENSAIO 1: Interferência da dieta como substrato na virulência em <i>C. capitata</i>.....</b>	<b>44</b>
<b>6.2. BIOENSAIO 2: Interferência da dieta nos isolados de NEP.....</b>	<b>45</b>
<b>6.3. BIOENSAIO 3: Comparação do efeito de diferente textura da dieta artificial na sobrevivência dos nematoides entomopatogênicos .....</b>	<b>51</b>
<b>6.4. BIOENSAIO 4: Determinação das concentrações de NEP para <i>C. capitata</i>.....</b>	<b>52</b>
<b>6.5. BIOENSAIO 5: Susceptibilidade das larvas de <i>C. capitata</i> aos NEP de acordo com a fonte de alimentação .....</b>	<b>55</b>
<b>* Dados seguidos de mesma letra maiúscula na linha e minúscula na coluna não diferiram entre si pelo teste de Médias de Tukey com <math>P \leq 0,05</math>. .....</b>	<b>55</b>
<b>6.5.1. BIOENSAIO 5.1: Produção de progênie .....</b>	<b>55</b>
<b>* Dados seguidos de mesma letra maiúscula na linha e minúscula na coluna não diferiram entre si pelo teste de Médias de Tukey com <math>P \leq 0,05</math>. .....</b>	<b>56</b>
<b>6.5.2. BIOENSAIO 5.2: Infectividade da progênie .....</b>	<b>56</b>
<b>* Dados seguidos de mesma letra maiúscula na linha e minúscula na coluna não diferiram entre si pelo teste de Médias de Tukey com <math>P \leq 0,05</math>. .....</b>	<b>56</b>
<b>6.5.3. BIOENSAIO 5.3: Produção de progênie em <i>Galleria mellonella</i> a partir dos NEP provindos de larvas de <i>C. capitata</i> alimentadas por diferentes dietas. ....</b>	<b>56</b>
<b>7. DISCUSSÃO .....</b>	<b>58</b>
<b>8. CONCLUSÕES .....</b>	<b>66</b>
<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>67</b>

## 1. INTRODUÇÃO GERAL

As moscas das frutas *Ceratitis capitata* (Wiedemann) e *Anastrepha* spp. pertencem à ordem Diptera e à família Tephritidae (MCALPINE, 1989). Segundo Araujo (2012) a família apresenta cerca de 481 gêneros e 4352 espécies, distribuídas em todas as regiões de clima tropical e temperado do mundo, sendo consideradas as pragas de maior importância econômica para a fruticultura (BEKKER et al, 2019).

*Ceratitis capitata*, por ser polífaga, tem a capacidade de se alimentar e reproduzir em mais de 300 espécies botânicas, deste modo permitindo a expansão dessa praga pelo mundo, estando atualmente em aproximadamente 43 países, em mais de 500 localidades (SZYNISZEWSKA & TATEM, 2014; HARBI et al. 2019).

O mercado internacional tem a China, Índia e Brasil como os maiores produtores de frutas, os quais abastecem aproximadamente 46% do mercado mundial, respectivamente, porém o Brasil tem sua produção destinada principalmente ao mercado interno, e apenas 3% da produção nacional destina-se à exportação. Diante disso, o Brasil tem potencial de crescimento, pois há demanda tanto no mercado interno quanto no externo (SILVA, 2022), mas deve se atentar à flutuação populacional das moscas das frutas e aos danos diretos e indiretos causados por esta praga, e que afetam a comercialização.

Dependendo da espécie cultivada, o prejuízo causado pelas moscas-das-frutas em pomares não tratados e/ou mal manejados, podem afetar 100% da produção (HERNANDES et al., 2013). Os danos desta praga iniciam-se com a postura no epicarpo dos frutos, o que acelera o processo de maturação, e se agravam com o desenvolvimento das larvas na polpa, tornando o fruto inviável para o mercado *in natura*, sendo classificado como dano direto (DA COSTA ALVES, 2020). Os danos indiretos estão relacionados às barreiras sanitárias impostas nas relações comerciais internacionais de frutos *in natura*, com prejuízos estimados em 2 bilhões de dólares anuais em todo o mundo, dos quais 10% ocorrem no Brasil (DÍAS-FLEISCHER; PINERO; SHELLY, 2014). Diante disso há protocolos exigentes de segurança para a exportação de frutas, principalmente nos países como os Estados Unidos e o Japão, consequentemente elevando o custo de produção, pois é necessário aumentar os gastos com o Manejo Integrado de Pragas (MIP) (LEITE et al., 2019).

Atualmente o controle das populações de moscas-das-frutas é feito via produtos químicos, desta forma o uso dos defensivos agrícolas pode ocasionar impactos ao meio ambiente e na saúde humana, ocasionando a morte dos inimigos naturais, polinizadores e de outros insetos, além de favorecer a seleção de populações de moscas-das-frutas resistentes

(SILVA, 2018). Por outro lado, o controle biológico e o uso de inimigos naturais oferecem ferramentas que ao MIP, não agridem o meio ambiente, não geram insetos pragas resistentes e não são prejudiciais à saúde humana (HERRMANN, 2013).

Os programas de controle biológico de moscas-das-frutas têm por finalidade reduzir a população da praga e favorecer o aumento da população de inimigos naturais (ROHDE, 2013), e entre as ferramentas usadas para estes insetos, o uso de nematoides entomopatogênicos (NEP) é uma alternativa que tem sido estudada. A aplicação de isolados das famílias Heterorhabditidae e Steinernematidae, deve ocorrer no período que a praga está em desenvolvimento no solo (geralmente às últimas fases larvais e a fase de pupa), e onde esses agentes de controle podem agir, ocasionando a morte da *C. capitata* (VIDAL, 2018).

Os NEP têm a vida livre na terceira fase de desenvolvimento, conhecida por juvenis infectantes (JI), podendo infectar os hospedeiros através do aparato bucal, espiráculos e/ou ânus, resultando na liberação de bactérias simbióticas (do gênero *Xenorhabdus* e *Photorhabdus* em *Steinernemasp.* e *Heterorhabditissp.*, respectivamente) presentes em seus intestinos na hemocele dos insetos-alvo, o que resulta na morte por septicemia em 24-48 horas. As bactérias servem como fonte de alimento, sendo necessárias para o crescimento e reprodução dos NEP. Uma vez que os nutrientes são exauridos no cadáver do inseto, os JI saem do hospedeiro em busca de outro inseto para completar o ciclo (BRIDA, 2015).

Os nutrientes provindos do hospedeiro são resultados da alimentação do mesmo, e estes podem variar de acordo com a fonte de alimento. As frutas têm diferentes valores nutricionais, fornecendo proteínas, carboidratos, lipídeos, entre outros nutrientes fundamentais que interferem em seus parâmetros biológicos, tais como a taxa de crescimento, massa corporal, sobrevivência, fecundidade, tempo de desenvolvimento, resistência a doenças, infectividade, entre outros. Conseqüentemente a susceptibilidade aos NEP pode haver diferença e o desenvolvimento das futuras gerações de JI também (PARRA, 1991).

Assim, levando-se em consideração que o controle biológico é um fenômeno dinâmico, e que é influenciado por fatores climáticos, do hospedeiros, da disponibilidade de alimento, portanto necessita-se estudar e avaliar as variáveis para aplicar e estimar a ação do agente de controle biológico (SOUZA, 2020).

## 2. OBJETIVOS

### 2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar a eficiência de isolados de nematoides entomopatogênicos dos gêneros *Heterorhabditis* e *Steinernema* no controle de larvas de *C. capitata* alimentadas por diferentes dietas.

### 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar se há interferência da presença da dieta artificial na virulência de NEP em *C. capitata*;
- Avaliar a sobrevivência dos NEP em contato com a dieta artificial;
- Avaliar se a dieta à base de diferentes frutos interfere na suscetibilidade de larvas de *C. capitata* aos diferentes isolados de NEP;
- Avaliar a produção de NEP desenvolvidos em larvas de *C. capitata* alimentadas por dietas à base de frutos;
- Avaliar a patogenicidade da geração subsequente de JI produzidos em diferentes frutos para *Galleria mellonella* (Lepidoptera: Pyralidae).



### **3 HIPÓTESES**

#### **3.1 Hipótese Geral**

NEP dos gêneros *Heterorhabditis* e *Steinernema* são eficientes contra larvas de *C. capitata* em diferentes dietas ofertadas.

#### **3.2 Hipóteses Específicas**

- Há diferença na virulência dos NEP quando há alimentação;
- A dieta artificial forma barreira física aos NEP na busca ao hospedeiro;
- Há diferença na mortalidade das larvas de *C. capitata* por NEP quando alimentadas com diferentes dietas à base de frutas.

## 4. REFERENCIAL TEÓRICO

### 4.1. Fruticultura

O Brasil, por ser considerado um país de dimensão continental, apresenta uma diversidade de relevos e climas, podendo aqui ser cultivadas todas as fruteiras de clima A ou quente e úmido, BS ou semi-árido, C ou temperado e D outemperado-frio, conforme a classificação de Koeppen, tais como: videira, fruta do conde, tangerina, mangueira, goiabeira, macieira, mamoeiro, entre outras frutas (GOMES, 1973). Por ter estas características específicas, aliadas às estratégias de industrialização e comercialização, a fruticultura nacional é destaque para o agronegócio, sendo responsável pela geração de 5,6 milhões de empregos diretos, o que corresponde a 27% do total da mão de obra agrícola do país (ANUÁRIO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 2017).

A produção nacional de frutas frescas é a terceira maior do mundo e possui um dos maiores mercados consumidores, cerca de 80% dos produtos produzidos no país é consumido internamente (DERAL, 2020). O consumo *per capita* de frutas no mundo deve continuar crescendo a taxas superiores às da economia mundial; diante disso, o mercado internacional é uma opção para a expansão da produção interna, de acordo com projeções da Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação-FAO (CARVALHO et al., 2017). Em 2020, segundo Comexstat (2021), o Brasil exportou cerca de 1,03 bilhões de toneladas de frutas, quantidade que tem crescido a cada ano, sendo as principais: mangas, melões e uvas, representando 53% do volume total de frutas exportadas pelo país. Das 20 fruteiras mais cultivadas e produzidas, de acordo com Agrostat (2017) apenas seis merecem destaque no mercado internacional de frutas frescas, com as seguintes participações, considerando o valor total exportado pelo país (US\$ 812.846.829) em 2017: mangas (25,2%), melões (20,0%), uvas (11,8%), limões (10,1%), maçãs (5,2%) e mamões (5,1%), que, juntas, representam 77,5% das nossas exportações de frutas frescas.

Conforme Agrostat (2017), em relação a produção nacional das 20 principais fruteiras destacam-se os citros (laranja, limão e tangerina), com participação de 48,2%, seguidos da banana (14,7%), abacaxi (5,7%), coco-da-Bahia (5,5%), melancia (4,2%) e mamão (3,5%), perfazendo um total de 81,8%. Em relação às frutíferas classificadas em função do clima, a participação seria: clima temperado (maçã, uva, pêssego, caqui, figo, pera e marmelo), com 6,0%; clima tropical (banana, abacaxi, coco-da-Bahia, melancia, mamão, manga, maracujá, melão, goiaba e abacate), com 45,8%; e clima subtropical (laranja, limão e tangerina), com 48,2%.

Quando se considera a produção de frutas por macrorregiões brasileiras, observa-se a seguinte distribuição da produção (Exportação/Importação): Norte (1,97% / 2,34%), Nordeste (64,96% / 8,36%), Sudeste (15,14% / 48,23%), Sul (17,51% / 40,70), e, Centro-Oeste (0,42% / 0,37%) (Agrostat, 2021).

A produção em toneladas por macrorregiões brasileiras segundo dados obtidos pelo site da Agrostat (2021), confirma o potencial do estado de São Paulo em produção de citros, especificamente no mercado de laranja, onde a venda é direcionada para o mercado internacional, enquanto a região nordeste abastece o mercado interno.

Fachinello et al. (2011) complementam que a expansão da fruticultura, principalmente na região Nordeste, está interligada à implantação de sistemas de irrigação, associada a novas tecnologias nessa atividade, contribuindo assim, para a implementação no Brasil, a partir de 1998, do sistema de produção integrada de frutas (PIF).

#### **4.2. Manga - *Mangifera indica* L**

De acordo com Aguiar (2013) a mangueira (*Mangifera indica* L), pertence à família Anacardiaceae, é uma planta nativa da Índia, no sudeste do continente asiático. Seus frutos são largamente consumidos dentre os de origem tropical. A cultura da manga no território nacional é importante economicamente e conseqüentemente no social, tendo um crescimento expressivo na produção, resultado da aceitação dos consumidores do mercado interno e externo.

Hoje em dia, a planta está presente em todas as regiões do país, concentrando-se nas regiões Sudeste e principalmente Nordeste, por este local ter o clima quente e úmido, com períodos secos definidos, favorecendo o predomínio da mangueira (DA SILVA SOBRINHO, 2019). A atual distribuição em âmbito global concentra-se entre os trópicos de Câncer e Capricórnio, nas latitudes de 20° N a 20° S, tendo presença em quase 100 países, evidenciando que esta espécie é altamente adaptável a diferentes ambientes (MUKHERJEE, 1985 apud LIMA FILHO et al., 2002).

A manga, por ter presença de vitaminas A e C, açúcares e sais minerais, com um sabor agradável, podendo ser consumida *in natura* e também a partir de processamento industrial, tem aceitação positiva pelos consumidores, apresentando demanda tanto no mercado interno quanto externo (VALADARES, 2020). Diante disso o Brasil tem potencial de crescimento e garantia de que o fruto será comprado.

Segundo FAO (2017) e IBGE (2017), a produção nacional de mangas em 2017 atingiu

676.807,724 toneladas, e os estados que mais produziram foram Bahia (281.445,662 t), São Paulo (141.439,205 t), Pernambuco (131.495,402 t), Minas Gerais (64.604,732 t), Rio Grande do Norte (25.642,242 t), Sergipe (11.001,835 t), Ceará (10.465,319 t), Espírito Santo (2.070,694 t), Goiás (1.476,850 t) e Rio de Janeiro (1.472,584 t).

A expansão do cultivo de manga ocorreu principalmente no estado de São Paulo, de onde foram desenvolvidas novas variedades da cultura, e nos polos de agricultura irrigada do Nordeste, com destaque no cenário nacional como uma das principais produtoras de manga. As cultivares comumente utilizadas são ‘Tommy Atkins’, ‘Kent’, ‘Palmer’, ‘Rosa’ e ‘Espada’, e a escolha deve levar em consideração fatores como o mercado consumidor, suscetibilidade a doenças e pragas, potencial produtivo da região, adaptabilidade, solo, etc. (MOUCO, 2015).

As moscas-das-frutas são as principais pragas da cultura, causando prejuízos econômicos pelas barreiras quarentenárias impostas pelos países importadores e também pela oviposição no fruto. No Submédio Vale do São Francisco a fruticultura da região consta que, 99% das moscas-das-frutas capturadas nas armadilhas são de *Ceratitis capitata* (MOUCO, 2015).

### **4.3. Laranja –*Citrus sinensis***

A laranjeira é da família *Rutaceae*, que produz frutos com sabor de característica doce ao levemente ácido. Silva et. al, (2020) salientam que a laranja é uma fruta cítrica, com inúmeras variedades existentes e apresentam forma arredondada e alongada, casca lisa de coloração verde a amarela, polpa suculenta, aroma característico e baixa acidez, também popularmente conhecida como rica em vitamina C e de diversos sais minerais como potássio, ferro, fósforo e cálcio.

Segundo o IBGE (2020) a produção nacional é de 16,7 milhões de toneladas, sendo responsável por 60% da produção mundial de suco de laranja, recebendo o título de maior produtor da cultura do mundo. As regiões de produção expressivas estão localizadas na região Sudeste, tendo uma área cultivada de 592 mil hectares e a EMBRAPA (2020) acrescenta que só no estado de São Paulo se encontram cerca de 78% da produção brasileira de laranjas (12,9 milhões t; 363 mil ha). A segunda região de maior percentual produtivo é o Nordeste, sendo o estado da Bahia com 8,1%, seguido do Sergipe com 7,8%. Soares (2022) informa que o Brasil cultiva diversas variedades de laranja direcionadas para o consumo *in natura*, como a Laranja-pera, Laranja-lima, Laranja-baía entre outras.

A citricultura tem grande importância para a economia brasileira, gerando ao PIB

nacional 9 bilhões de reais (5,2 bilhões de dólares), sendo responsável por 400.000 empregos de forma direta e indireta na área rural, e contribuindo com a balança comercial nacional (NEVES, 2011).

Os produtores da cultura enfrentam dificuldades com pragas e doenças em seus pomares, podendo representar alto grau de prejuízo, que levam a queda da produção em até de 20%, além de afetar a exportação, qualidade do fruto, conseqüentemente desvalorizando o seu valor, principalmente no mercado *in natura* (COSMO; GALERIANI, 2020).

#### **4.4. Goiaba – *Psidium guajava* L.**

A goiabeira é uma espécie pertencente à família Myrtaceae, originária do norte da América do Sul, amplamente distribuída por regiões tropicais pelo mundo, sendo encontrada na África e Ásia (RISTERUCCI et al., 2005). Entre as frutíferas tropicais, a goiabeira se destaca por ser a mais resistente, apresentando excelente produtividade e adaptabilidade, e seus frutos são ótimas fontes de vitamina C, moderada fonte de cálcio, ferro e fósforo (SOUZA, 2019).

Devido à sua adaptabilidade, ela pode ser encontrada em todo território nacional (CAVALCANTE et al., 2010), e o comércio do fruto apresenta condição favorável, por ter sabor e valor nutricional que agrada os consumidores, atendendo a demanda tanto pelo consumo *in natura* como pelo processado industrialmente (Rodríguez et al., 2010).

Para o consumo *in natura* a preferência do mercado interno é para frutos grandes e sem defeitos (PEREIRA; MARTINEZ JR., 1986; ZAMBÃO; BELLINTANI NETO, 1998). Por mais que a goiabeira seja rústica, pode ser debilitada por diversas pragas em qualquer momento, impossibilitando o seu desenvolvimento, e as moscas-das-frutas, são uma das principais pragas com valor econômico, podendo atingir de 90 a 100% da produção quando não manejada adequadamente (ARAÚJO et al., 2013).

#### **4.5. Maçã–*Malus domestica* Borkh**

A macieira pertence à família Rosaceae, subfamília Maloidae (Pomoidae), gênero *Malus* (Bleicher, 2006), cuja origem fica na região do Cáucaso, localizado na cadeia de montanhas da Ásia e ao leste da China (BLEICHER, 2006).

No Brasil, a produção de macieira se destaca como a segunda fruta de clima temperado com a maior importância para o comércio *in natura*, tanto no mercado nacional como internacional, sendo que a região Sul concentra 95% da produção brasileira, que provém das cultivares Gala e Fuji, ou mutações e clones melhorados destas, todos

susceptíveis a mosca-das-frutas (SANTOS, 2013). Para o mercado internacional as cultivares mais importantes pertencem aos grupos ‘Golden Delicious’, ‘Gala’, ‘Fuji’ e ‘RedDelicious’, que são responsáveis por aproximadamente 70% da produção mundial (IGLESIAS et al., 2009).

Segundo BRDE (2011) do total da produção de maçã, cerca de 70% destina-se ao consumo *in natura* e 30% à indústria, além de ser na década passada a terceira fruta mais consumida no Brasil, atrás somente da banana e dos citros. Desta maneira, o mercado interno de maçãs se mostra promissor (IBGE, 2012).

Os danos causados pelas moscas das frutas podem ser observados em maçãs ainda verdes, com aproximadamente 20 mm de diâmetro, até naquelas próximas à colheita (NORA & HICKEL, 2006), sendo que o ferimento causado pela oviposição pode ser propício à infecção por fungos e bactérias, tornando-os impróprios para a comercialização e consumo (Santos et al., 2008)

#### 4.6. Tabela nutricional das frutas

**Tabela 1:** Informação nutricional das frutas utilizadas nas dietas para asa larvas de *C. capitata* em porções de 100 gramas com os seus respectivos componentes.

	<b>Manga</b>	<b>Laranja</b>	<b>Maçã</b>	<b>Goiaba</b>
Água (g)	83,46	86,75	85,56	80,8
Valor energético (kcal)	60	47	52	68
Proteína (g)	0,82	0,94	0,26	2,55
Gorduras Totais (g)	0,38	0,12	0,17	0,95
Carboidratos (g)	14,98	11,75	13,81	14,32
Fibra alimentar (g)	1,6	2,4	2,4	5,4
Monossacarídeos (g)	13,66	9,35	10,39	8,92
<b>Mineirais (mg)</b>				
Cálcio	11	40	6	18
Ferro	0,16	0,1	0,12	0,26
Magnésio	10	10	5	22
Fósforo	14	14	11	40
Potássio	168	181	107	417
Sódio	1	0	1	2
Zinco	0,09	0,07	0,04	0,23
<b>Lipídios (g)</b>				
Gordura saturada	0,092	0,015	0,028	0,272

Fonte: <https://tabnut.dis.epm.br/>

#### 4.7. Relação entre mosca frugívora e fruta hospedeira

Para a compreensão da relação entre mosca frugívora e fruta hospedeira, primeiramente precisa-se entender a definição sobre hospedeiro de mosca-das-frutas. A FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations) por meio da Convenção Internacional de Proteção de Plantas publicou a Norma Internacional de Medida Fitossanitária 37 intitulada “Determinação do status de hospedeiro da fruta para mosca-das-frutas”, no qual as plantas potenciais hospedeiras de moscas-das-frutas são classificadas em hospedeiro natural, hospedeiro condicional e não hospedeiro.

A relação entre mosca e hospedeiro se inicia quando a fêmea realiza a ovipostura na fruta, onde posteriormente, as larvas frugívoras eclodem, alimentam-se e se desenvolvem na polpa do mesmo, para em seguida formarem pupas que darão origem a adultos (ALUJA; MANGAN, 2008). A responsabilidade pela escolha da fruta cabe a fêmea da mosca-das-frutas, maximizando a sobrevivência e o desenvolvimento da prole até o estágio adulto (COSTA et al., 2011). Isso com base na hipótese de associação entre a preferência de

oviposição da fêmea e o valor nutricional do fruto para alimentação das larvas (BALAGAWI et al., 2005; 2013), pois em geral, os frutos com maior taxa de infestação (número de ovos/fruto) são os melhores em fornecer nutrientes para o desenvolvimento dos estádios imaturos (COSTA et al., 2011). Desta forma a relação entre a *C. capitata* e o fruto hospedeiro é fundamental que as moscas completem o seu ciclo de vida, e em seguida possam iniciar um novo ciclo. No entanto, os mecanismos e associações envolvidas na escolha de um hospedeiro por uma espécie de mosca-das frutas ainda são desconhecidos, pouco estudados ou pouco compreendidos (LOUZEIRO, 2022).

#### **4.7.1. Hospedeiro natural**

Hospedeiro natural é definido como uma espécie de planta ou cultivar (fruta ou vegetal) que foi infestada por uma espécie de mosca-da-fruta em condições naturais (sem interferência do homem) e essa planta foi capaz de sustentar o desenvolvimento dos imaturos até o surgimento de moscas adultas viáveis.

#### **4.7.2. Hospedeiro condicional**

Um hospedeiro condicional é uma espécie de planta ou cultivar que não é um hospedeiro natural, mas que foi descoberto por testes científicos em condições seminaturais de campo (com interferência do homem), como por exemplo, infestação forçada em gaiolas de campo, estufas, ou em galhos ensacados ou com frutos ensacados; mas mesmo em condições seminaturais, essa planta deve permitir o desenvolvimento dos imaturos até o estágio adulto (viável).

#### **4.7.3. Não hospedeiro**

Um não hospedeiro é uma espécie de planta ou cultivar que nunca foi observada infestação tanto em condições naturais (sem interferência do homem) quanto seminaturais (com interferência do homem) ou que não permita o desenvolvimento dos imaturos até o surgimento de adultos viáveis (COWLEY et al., 1992; FAO, 2016; FOLLETT et al., 2021).

### **4.8. Moscas das frutas – Família Tephritidae**

As moscas da família Tephritidae (Diptera: Tephritoidea) são insetos holometábolos, têm o corpo variavelmente colorido, mas não metálico e medem geralmente de 1 a 20 mm (CHRISTENSON; FOOTE, 1960; NORRBOM, 2010). As asas das moscas são uma característica marcante. A maioria das espécies têm asas retratadas com listas amarelas, castanhas, pretas, ou ambas, ou com manchas hialinas em um campo mais escuro (LOUZEIRO, 2022)

As moscas-das-frutas compõem um complexo de mais de 4.000 espécies e são



distribuídas por todas as regiões da Terra. De acordo com Martins (2002) aproximadamente 20 espécies são responsáveis por enormes perdas na produção e, provavelmente, são as pragas mais destrutivas de frutos em todo o mundo. Aluja (1999) afirma que o Brasil é um dos países com maior número de estudos sobre as espécies de moscas-das-frutas e seus hospedeiros.

No Brasil, os gêneros *Ceratitis* e *Anastrepha* são de maior importância econômica, pois estes insetos têm a habilidade de se adaptar a vários hospedeiros dificultando, assim, o controle e acelerando o amadurecimento dos frutos. Nas palavras de Aguiar (2013) as moscas-das-frutas são insetos que causam injúria direta ao produto final, o fruto, desta forma são classificadas como pragas-chaves das fruteiras, visto que atingem o nível de dano econômico em baixas densidades populacionais. Assim, são necessários cuidados especiais durante o período de frutificação, sobretudo em pomares direcionados para o mercado externo, onde há exigências quarentenárias impostas pelos países importadores de frutas *in natura*.

O produtor-exportador nacional deve executar ações com alto rigor para o controle das moscas-das-frutas. Cunha et al. (2000) informam que os mercados dos EUA e do Japão impõem medidas quarentenárias rígidas às frutas de exportação que possam abrigar larvas de tefritídeos. Esta preocupação é devida ao estabelecimento da praga, dano econômico causado, mesmo em baixa densidade populacional, sendo difícil a erradicação.

Também Cunha et al. (2000) explicam que no ponto onde a mosca faz a postura, pode ocorrer contaminação por fungos e bactérias, resultando no apodrecimento do fruto, além de que as larvas, ao se alimentarem da polpa do fruto, causam o amolecimento do mesmo, inviabilizando o consumo *in natura*.

Os dois gêneros de moscas-das-frutas de importância econômica têm uma preferência na busca do alimento, mediante o exposto por Daza (1997), que afirma que as fruteiras nativas são, preferencialmente, infestadas por espécie do gênero *Anasthepha*, enquanto os frutos exóticos são mais suscetíveis ao ataque de *C. capitata*.

#### **4.9. Mosca do Mediterrâneo –*Ceratitis capitata***

*Ceratiscapitata*, mosca-do-Mediterrâneo ou *medfly*, é nativa do continente africano provavelmente próximo ao Mediterrâneo e atualmente distribuída por todos os continentes com exceção dos polos (MALAVASI et al., 2000; THOMAS et al., 2019). Os adultos de *C. capitata* medem de 4 a 5 mm de comprimento e 10 a 12 mm de envergadura. O corpo é predominantemente amarelo com manchas marrons e pretas, os olhos castanho-violáceos e as asas são largas e hialinas com manchas pretas, marrons e com uma faixa amarela no meio da

asa (BROUGHTON; LIMA, 2002; THOMAS et al., 2019).

*Ceratitis capitata* é a única espécie do gênero que ocorre no Brasil, onde esta mosca foi constatada pela primeira vez em 1901, por Hering, e entre os tefritídeos é a mais cosmopolita e invasora (LÍQUIDO et al., 1991). A espécie está distribuída em praticamente todos os estados, porém é considerada como importante economicamente nas regiões Sudeste e Nordeste (DA SILVA NETO, 2010).

O ataque deste díptero é conhecido mundialmente por causa da sua presença em uma vasta área de cultivo em todo o mundo e pela dificuldade encontrada para se obter o controle populacional (SILVA, 2009).

Os adultos de *C. capitata* geralmente vivem dez meses em condições de laboratório e dois meses em condições de campo. Uma fêmea deposita durante sua vida geralmente de 300 a 400 ovos podendo chegar a 800 ovos (THOMAS et al., 2019). O ciclo de vida de *C. capitata* varia de 21 a 30 dias sob condições de verão e se desenvolve em ovo e larva, ambos dentro da fruta; pupa geralmente no solo e adultos alados

Segundo Fimani (1989) o ciclo de vida começa quando a fêmea da mosca do Mediterrâneo põe seus ovos no fruto, dando origem a larvas que eclodem em 1-3 dias. As larvas se alimentam por 7-14 dias, passando por três instares, e saem do fruto em pré-pupa para pupar no solo. Após 7-14 dias dentro do pupário no solo, os adultos emergem para completar o ciclo de vida. O dano indireto está no aumento do custo de produção, barreiras sanitárias, entre outros.

#### **4.10. Danos causados e importância econômica**

Os danos diretos ocorrem devido as posturas das fêmeas de *C. capitata* que inserem seu aparelho ovipositor no interior do fruto, depositando os ovos, e esses orifícios podem servir de porta de entrada de patógenos, causando doenças na planta e no fruto. Também porque, após a eclosão, as larvas se alimentam da polpa, acelerando a fenologia do fruto, deixando-o com aspecto que inviabiliza para o consumo *in natura* (SOUZA, 2020)

O dano indireto é caracterizado pela barreira sanitária imposta pelos países importadores, refletindo tanto no mercado interno quanto no mercado externo, devido à perda dos frutos destinados à comercialização, resultando em um aumento nos preços em decorrência da diminuição da oferta, conseqüentemente, reduzindo a quantidade exportada. Pode-se valorar as perdas econômicas provocadas pela infestação de moscas-das-frutas em aproximadamente US\$ 1 bilhão/ano, a nível mundial e US\$ 242 milhões/ano, no Brasil (SOUZA, 2019).

Devido à adaptabilidade e às injúrias causadas pelas moscas das frutas, há investimento e campanhas multimilionárias para a sua erradicação em diversos países, como por exemplo nos Estados Unidos. Oliveira & Moraes (2006) alertam que se os frutos da Califórnia não fossem comprados pelos países importadores devido à infestação de *C. capitata*, esse estado perderia 35.000 empregos, reduzindo a produção em US\$ 3,6 bilhões, podendo piorar o cenário caso todos os estados norte-americanos proibissem a importação, resultando em uma redução de 132.000 empregos, US\$ 13,4 bilhões nas atividades econômicas e mais de US\$ 3,6 bilhões nos rendimentos familiares.

Dependendo da espécie de frutífera, o prejuízo causado por esta praga em pomares não tratados e sem o devido manejo podem chegar a 100% da produção (HERNANDES et al., 2013). Mediante o exposto é necessário que o produtor de frutíferas tenha um cuidado no pomar, acompanhando a densidade populacional das moscas-das-frutas e aplicando o controle quando atingir o nível de controle, evitando que a população praga ultrapasse o nível de dano econômico.

#### **4.11. Métodos de controle da mosca-das-frutas**

Para um controle eficiente necessita-se de estudos da flutuação populacional da praga. Dessa maneira, Ronchi-Teles (2000) descreve que conhecendo a época da maior ocorrência da população e a literatura fornecendo informação sobre o ciclo de vida, pode-se planejar a utilização de ferramentas do MIP que se adequem com a fase em que o inseto se encontra (LEITE, 2011). Porém há que se atentar para fatores que influenciam na flutuação populacional das moscas-das-frutas, tanto abióticos como bióticos, como a presença de frutos hospedeiros e do controle biológico e as condições físico-químicas de solo, temperatura, umidade relativa e a precipitação (TEIXEIRA et al., 2015).

Segundo Morgante (1991), para controlar os tefritídeos é usualmente utilizado o ensacamento individual dos frutos, iscas tóxicas, armadilhas tipo MacPhail com atrativo proteinado e pulverização em cobertura com agrotóxicos. Tais métodos agem, controlando a população e impedindo ou dificultando a oviposição, mas o uso de defensivos agrícolas é de custo elevado, e pode contaminar o ambiente, causando efeitos colaterais como a morte de insetos polinizadores, e, também dos inimigos naturais. Apesar do uso de iscas inseticidas ser menos agressivo, pode provocar danos como: a morte de várias espécies de insetos pela baixa seletividade do produto normalmente utilizado como atrativo.

Os programas de controle de moscas-das-frutas consistem, basicamente, no controle químico, no cultural e na técnica do inseto estéril (MALAVASI, 2009).

#### **4.11.1. Métodos Culturais**

Manter os pomares limpos e livres de frutos não comercializados, remanescentes, danificados pela praga na planta ou caídos no solo, procedendo a catação e enterro dos frutos de maneira que fique uma camada de pelo menos 30 cm de solo bem compactado sobre eles. Esses frutos também podem ser usados na elaboração do suco para as armadilhas, na alimentação animal, triturado para compostagem e no preparo de biofertilizantes. Eliminar possíveis plantas hospedeiras que não sejam destinadas à comercialização (DIMARCO, 2015).

#### **4.11.2. Técnica do inseto estéril (TIE)**

A captura e esterilização dos machos ocorre por meio do processo de radiação ainda na fase de pupa e que, uma vez esterilizados, não geram descendentes, o que favorece a redução populacional da praga. A TIE consiste na liberação de um grande número de machos estéreis no ambiente, onde competem com os machos já presente local, desta forma acasalando com as fêmeas da natureza, transferindo espermatozoides inviáveis. Por fim, leva à não fecundação dos óvulos das fêmeas, reduzindo a população. A utilização desta técnica atende às exigências do mercado interno e externo, sendo considerada uma das técnicas mais eficientes no controle das moscas-das-frutas. Foi explanado também que o processo é eficiente e considerado biologicamente seguro, pois não provoca riscos ao aplicador e tem baixo impacto para as outras espécies, além de atender às exigências atuais dos países importadores de frutas e do mercado interno consumidor (DIMARCO, 2015).

#### **4.11.3. Controle Químico**

A principal prática adotada para o controle populacional das moscas-das-frutas, utiliza iscas tóxicas com proteína hidrolisada como atrativo alimentar, e, também o inseticida orgânico à base de espinosina (spinosad) que atua por ingestão. Pode-se associar um atrativo sexual, e os machos após a ingestão da mistura morrem em poucos minutos, sendo a molécula utilizada o metil-eugenol.

O emprego de inseticidas organofosforados e organoclorados aplicados em cobertura ou em iscas tóxicas (inseticida + atrativo alimentar), para controle de moscas-das-frutas, tem sido eficaz (SANTOS et al., 2022).

#### **4.12. Controle Biológico**

Parra (2002) afirma que o controle biológico é um fenômeno natural, que consiste na

regulação da população de animais e plantas por inimigos naturais, os quais constituem os agentes de mortalidade biótica. Dessa forma, o controle biológico em culturas agrícolas, consiste em utilizar inimigos naturais para o controle de inseto praga. Soares (2019) complementa que há grandes grupos de inimigos naturais, como insetos, vírus, fungos, bactérias, nematoides, protozoários, como agentes reguladores, e cuja ação podem controlar as pragas em seus vários estágios de vida.

Bosch et al. (1982) declaram que o controle biológico é um fenômeno dinâmico, que pode ser influenciado por fatores climáticos, inerentes ao hospedeiro, disponibilidade de alimento, e que, portanto, necessita de estudos para avaliar as variáveis que se aplicam e estimar a ação do agente biótico.

Ainda segundo Freitas (2018) o uso de agentes naturais para controlar a praga reduz a exposição dos produtores rurais aos defensivos agrícolas, evita insetos resistentes, evita resíduos químicos aos alimentos, diminui o risco de poluição ambiental, não afeta a qualidade do solo e ainda estimula a agricultura orgânica.

Nos dias de hoje, o controle biológico é cada vez mais importante para os programas de manejo integrado de pragas (MIP), especialmente quando se discute muito a produção integrada com a agricultura sustentável. Parra (2002) acrescenta que este método de controle é importante como medida para manutenção das pragas abaixo do nível de dano econômico, concomitantemente a outros métodos, como o cultural, o de resistência de plantas a insetos, o físico, e os comportamentais.

Nos estudos de controle biológico das moscas-das-frutas vêm ganhando destaque os NEP dos gêneros *Steinernema* e *Heterorhabditis*, com o objetivo de controlar a população de *C. capitata* nas fases que passam no solo: pré-pupa e pupa. A comprovada virulência e eficiência desses agentes vem gerando grande avanço nos estudos com NEP, especialmente quando se refere aos métodos de produção e descoberta de novas espécies/isolados. Sabendo que as moscas-das-frutas tem a fase de solo e o uso de inseticidas nesta fase são limitadas, acredita-se que a utilização NEP para o controle populacional da praga seja uma alternativa mais racional, com melhor custo benefício e muito promissora para a fruticultura brasileira (SILVA, 2009).

#### **4.13. Nematoides entomopatogênicos**

Nematóides entomopatogênicos, pertencentes às famílias Heterorhabditidae e Steinernematidae, são agentes de controle biológico que causam a morte de insetos que têm

uma fase do seu ciclo de vida no solo ou em ambientes crípticos, sendo considerados um ótimo recurso a ser utilizado como componente do MIP (ROHDE, 2010; HOMINICK, 2002). Brida (2015) salienta que os NEP apresentam sinergismo com alguns produtos químicos, possibilitando redução na quantidade de produto aplicado, tempo e custo de aplicação. No solo os NEP são encontrados no terceiro estágio de juvenis infectantes (JI), sendo a forma responsável pela busca e infecção do hospedeiro (GLAZER, 2002).

*Photorhabdus* e *Xenorhabdus* são as bactérias associadas aos dois gêneros de nematoides, *Heterorhabditis* e *Steinernema*, respectivamente, e os nematoides são, por sua vez, parasitas obrigatórios de insetos (TOBIAS; SHI; BODE, 2018). Portanto, esses agentes biológicos apresentam bactérias patogênicas a insetos em seu trato digestório, tendo uma associação mutualística em que o NEP ao penetrar em um hospedeiro pelas aberturas naturais, ou ainda pelo tegumento (em *Heterorhabditis*), invadindo a hemocele, onde liberam a bactéria que causa septicemia do hospedeiro entre 24 a 48 horas, sintomas característicos de morte por NEP seria a ausência de odor e a mudança de coloração do hospedeiro, sendo amarelo queimado para o *Steinernema* spp. e marrom avermelhado para o *Heterorhabditis* spp. (FERRAZ, 1998). Dentro do canal alimentar, as bactérias produzem enzimas como lecitinases, proteinases e quitinases, que danificam o epitélio do intestino médio, favorecendo a entrada da bactéria na hemocele (SIKOROWSKI; LAWRENCE, 1997). O nematoide se alimenta dos nutrientes gerados pelo efeito da bactéria no inseto, se reproduzindo entre 2 a 3 gerações. Após exaurir todo nutriente que foi oferecido pelo inseto, o nematoide desloca-se para fora da carcaça como juvenil infectante em busca de novos hospedeiros (ROHDE, 2010).

Os JI utilizam diferentes estratégias para localizar o hospedeiro (RAMOS-RODRIGUEZ *et al.*, 2007) e de acordo com o seu comportamento (LEWIS *et al.*, 2006), são classificados como “*ambusher*”, locomovendo pouco no ambiente e aguardando a passagem do hospedeiro, ou “*cruiser*”, sendo atraído por subprodutos das atividades metabólicas do hospedeiro, por meio das substâncias voláteis liberadas pelos insetos (LEWIS *et al.*, 2006).

#### **4.14. Nutrição X NEP**

Os nematoides *Heterorhabditis* spp. e *Steinernema* spp. já foram utilizados no controle de tefritídeos (DIAS *et al.*, 2018; JAMES; MALAN; ADDISON, 2018), visto que ao final do terceiro instar larval, esses insetos deixam os frutos e penetram no solo, à procura de abrigo para ocorrer o desenvolvimento da pupa, tornando-se um alvo para esses agentes (SHAURUB *et al.*, 2015; CHERGUI *et al.*, 2019; PARANHOS; NAVA; MALAVASI, 2019)

O desenvolvimento das larvas de *C. capitata* em condições de laboratório depende

dos nutrientes fornecido pela dieta artificial, e seguindo esse raciocínio, na natureza as frutas oferecem diferentes valores nutricionais para o desenvolvimento das larvas de *C. capitata*, variando em proteínas, carboidratos, lipídios, entre outros que são nutrientes fundamentais para o inseto se desenvolver. Assim, podem interferir em parâmetros biológicos tais como: taxa de crescimento, massa corporal, sobrevivência, fecundidade, tempo de desenvolvimento, resistência a doenças e infectividade (PARRA, 1991). Leftwich et al., (2017) complementa que a a qualidade e a quantidade da dieta oferecida para a fase larval das moscas-das-frutas são de grande importância, pois a aquisição de nutrientes durante esta fase de desenvolvimento favorece o crescimento imediato e são de grande importância para todas as fases subsequentes, fornecendo recursos que serão posteriormente utilizados pela pupa e pelo adulto.

Na grande maioria dos insetos com desenvolvimento holometabólicos, o acúmulo de reservas lipídica durante a fase larval é tido como estratégia vital para a sobrevivência do estágio pupal, já que nessa fase o inseto não se alimenta, representando assim, uma parcela significativa da reserva energética do adulto (VIJENDRAVARMA et al., 2012).

Conseqüentemente a variação da nutrição na fase larval pode influenciar na virulência dos NEP e na produção de JI. A ação dos NEP em larvas de *C. capitata* vem sendo estudada por diversos autores (ROHDE et al., 2012; KAMALI et al., 2013; LANGFORD et al., 2014; FOELKEL; MONTEIRO; VOSS, 2015; BRIDA, 2015; MINAS et al., 2016; HEVE et al., 2017, SOUZA (2020), JEAN-BAPTISTE et al., 2021). Para Rohde et al., (2012) o isolado *S. carpocapse* obteve maior mortalidade (86,3%), semelhante ao Souza (2020) que registrou 89,2% de morte com sintomas causada por *S. carpocapse*, o isolado citado é utilizado como testemunha positiva nos bioensaios. Minas et al., (2016) utilizou de *Heterorhabditis* sp. para controlar população de *C. capitata*, resultou para os respectivos isolados *Heterorhabditis* sp. LPP17 (98,5%), seguido por *Heterorhabditis* sp. LPP14 (96%) e *H. baujardi* LPP7 (89%), essa alta taxa de mortalidade, segundo Poinar, 1990) é devido a diferença de tamanho dos NEP onde JI do isolado *Heterorhabditis* sp. em média tem 418 µm de comprimento do corpo e *Steinernema* sp., podendo ter até 900 µm, possivelmente para o *Heterorhabditis* é vantajoso o tamanho diminuto para inocular a bactéria dentro de um hospedeiro pequeno ao comparar com lagarta de *Spodoptera* sp. e, também de entrar pelas aberturas naturais como espiráculo, boca e anus.

## 5. MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram realizados no Laboratório de Patologia e Controle Microbiano de Insetos do Departamento de Entomologia da Universidade Federal de Lavras (UFLA/ESAL/DEN), em condições controladas de temperatura de  $25 \pm 2^\circ\text{C}$ , umidade relativa de  $70 \pm 10\%$  e fotofase de 12 horas, no período de julho a dezembro de 2022.

### 5.1. Criação de *Ceratitis capitata*

A criação foi estabelecida por Souza (2020) no Laboratório de Patologia e Controle Microbiano de Insetos no Departamento de Entomologia na Universidade Federal de Lavras – UFLA, com a linhagem mutante (Tsl Vienna 8) proveniente do Laboratório de Controle Biológico e Bioatividade de Produtos Vegetais da Universidade Estadual de Montes Claros (UNIMONTES), Campus de Janaúba, MG. A criação foi mantida em gaiolas de acrílico (60x31x30cm), revestidas com tecido tipo *voil* em uma das laterais, para a oviposição. Internamente, foi disponibilizada água em garrafas plásticas de 250 mL através de fita absorvente (Spontex®) para melhor embebição, e alimentação por meio de uma mistura 1:4 de levedura de cerveja e açúcar e solução de mel a 30%.

No exterior da gaiola, abaixo da parte coberta por tecido *voil*, foram colocadas bandejas plásticas com água, as quais servem para retenção dos ovos. Os ovos depositados nas bandejas foram recolhidos diariamente edespejados em um Becker de 200mL. Após a decantação, com o auxílio de uma seringa, recolheu-se 0,5 mL da suspensão dos ovos, em seguida colocados em um pote plástico retangular (250 mL) contendo 250 gramas de dieta artificial, fechado com papel alumínio para manter o material no escuro, devido ao fototropismo negativo das larvas, evitando-se também a dessecação dos ovos. Utilizou-se a dieta artificial de Albajes e Santiago-Álvarez (1980) adaptada, composta por levedura de cerveja, açúcar, farelo de trigo, benzoato de sódio, metilparabeno (nipagin), propilparabeno sódico (nipazol) (Tabela 6).



**Tabela 1:** Composição da dieta artificial fornecida para as larvas de *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae).

<b>Itens</b>	<b>Unidade de medida</b>
Água destilada	1700 mL
Açúcar	308 g
Farelo de trigo	1100 g
Benzoato de Sódio	11 g
Metiparaben (Nipagin)	12,32 g
Propilparabeno Sódico	12,32 g
Levedura de cerveja	159,7 g

Fonte: Albajes e Santiago-Álvarez (1980).

Após a eclosão das larvas, iniciou-se a alimentação, se desenvolvendo na dieta artificial, passando pelos três instares de desenvolvimento larval até a pré-pupa. Em seguida o inseto empupa na parte externa do recipiente, sendo coletadas as pupas diariamente e posteriormente depositadas em outra bandeja de 1000 mL, sendo colocadas em uma nova gaiola de criação, iniciando assim, um novo ciclo. A manutenção da criação foi realizada diariamente, resultando em uma gaiola ao completar 7 dias.

## **5.2. Criação de *Galleria mellonella***

Os adultos de *G. mellonella* foram mantidos em frascos de vidro (1300 mL) contendo folhas de jornal dobradas em forma de sanfona para postura. Após 5 dias os adultos foram descartados, as posturas com os ovos foram coletadas e transferidas para potes plásticos (40x27x13 cm) com tecido voil e fechados com tampa sem furos, forrados com papel jornal e fornecida dieta artificial adaptada de Dolinski (2005) (Tabela 7), à base de farelo de trigo, farinha de trigo, gérmen de trigo, glicerina, leite em pó desnatado, levedura de cerveja e mel, que foi acrescentada conforme a necessidade até as larvas completarem seu desenvolvimento ou até o momento da multiplicação dos NEP. Adultos emergidos foram recolhidos e transferidos com ajuda de tubo de vidro, para potes de vidro cilíndricos com tampa, para a manutenção da criação. A manutenção foi realizada em dias alternados, fazendo-se a limpeza dos recipientes.

**Tabela 2:** Ingredientes da dieta artificial fornecida para lagartas de *Galleria mellonella* (Lepidoptera: Pyralidae).

Itens	Unidade de medida
Farelo de trigo	200 g
Gérmen de trigo	200 g
Farinha de trigo	200 g
Glicerina	130 g
Levedura de cerveja	120 g
Leite em pó desnatado	400 g
Mel	240 g

Fonte: Dolinski (2005)

### 5.3. Obtenção e multiplicação *in vivo* dos nematoides entomopatogênicos

Para a realização dos bioensaios, foram utilizados isolados nativos e exóticos de NEP pertencentes ao gênero *Steinernema* e *Heterorhabditis*, descritos na Tabela 8, pertencentes do Banco de Patógenos do Laboratório de Patologia e Controle Microbiano de Insetos da Universidade Federal de Lavras – UFLA.

**Tabela 3:** Isolados de nematoides entomopatogênicos dos gêneros *Heterorhabditidae* e *Steinernematidae* utilizados nos bioensaios.

Isolado	Local de origem
<i>H. amazonensis</i> RSC05	Benjamin Constant/AM/Brasil
<i>H. amazonensis</i> Alho	Lavras/MG/Brasil
<i>Steinernema carpocapsae</i> All	Carolina do Norte/EUA
<i>Steinernema brazilense</i>	Porto Murtinho/MT/Brasil
<i>Steinernema feltiae</i>	Florida/EUA

A multiplicação dos nematoides foi realizada através do método *in vivo*, Woodring; Kaya (1988) adaptado, multiplicados em lagartas do 6º ínstar de *G. mellonella*, sendo aplicados JI nos hospedeiros em uma placa de Petri (9 cm x 1,5 cm) contendo dois papéis filtro (90 mmØ), em volume de 2mL de suspensão com concentração de

aproximadamente 200 JI/larva.

Estas placas foram mantidas em câmara climatizada ( $25 \pm 1^\circ\text{C}$ , UR  $70 \pm 10\%$ , 12 horas de fotofase) e, após 48 horas, as larvas com sintomas de infecção por NEP foram transferidas para placas de Petri (9x1,5 cm) forrada com papel filtro (90 mmØ), na qual permaneceram nas mesmas condições citadas anteriormente, para desenvolvimento do nematoide.

Depois de quatro dias, as lagartas com sintomas foram alocadas para a armadilha de White adaptadas, compostas por placa de Petri de plástico em seu interior um pedaço de acrílico fixado no centro forrada com uma folha de papel filtro (90 mm Ø) e adicionada água destilada, para fins de deposição dos nematoides nas laterais da placa. O conteúdo das armadilhas de White foi vertido em uma proveta de 1000 mL, completado com água destilada, permanecendo por 24 horas para decantação e lavagem dos nematoides. Por fim, a suspensão de NEP foi armazenada em frascos utilizados para cultura de tecido (250mL) e acondicionados em câmara climatizada ( $16 \pm 2^\circ\text{C}$ , UR  $70 \pm 10\%$ ) e sem luminosidade até a utilização em até 7 dias para os experimentos.

#### **5.4. BIOENSAIO 1: Interferência da dieta artificial na virulência de nematoides entomopatogênicos sobre *Ceratitis capitata***

Os isolados de nematoides entomopatogênicos *Heterorhabditis amazonensis* Alho; *Heterorhabditis amazonensis* RSC05; *Steinernema brazilense*; *Steinernema carpocapsae* All e *Steinernema feltiae* provindos do banco de microrganismos entomopatogênicos do Laboratório de Patologia e Controle Microbiano de Insetos do Departamento de Entomologia da Universidade Federal de Lavras, foram utilizados no presente bioensaio.

Para avaliar se a presença da dieta artificial afeta a mortalidade de *C. capitata* pelos isolados de NEP, foram utilizadas larvas de terceiro instar do inseto.

A unidade experimental consistiu de uma placa de Petri de 5 cm de diâmetro, contendo 3 papéis filtro em todas as repetições, sendo o tratamento com dieta tinha 5 gramas do mesmo sendo espalhado pela superfície e sem a presença da dieta artificial. Em cada placa foram colocadas 10 larvas de *C. capitata* e em seguida os NEP foram aplicados em 1mL de suspensão aquosa na concentração de 100 JI/inseto (Dose padrão). Cada tratamento continha 30 repetições, e foi repetido com e sem adição de dieta artificial, sendo, portanto, conduzido no esquema fatorial 5 x 2 (5 isolados x 2 presença ou ausência de dieta).

A avaliação foi realizada no sétimo dia após a inoculação da suspensão e a confirmação da mortalidade foi através da observação da sintomatologia e pordissecação dos

cadáveres para a verificação da presença de nematoides (Figura 1).

**Figura 1:** Larva de *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae) com a sintomatologia de infecção por nematoides entomopatogênicos e a presença do agente de controle biológico.



Foto: OLIVEIRA, V. V. Laboratório de Patologia e Controle Microbiano de Inseto, UFLA, Lavras, MG, Brasil.

Os dados foram submetidos a análise de modelos lineares generalizados (GLM) para a determinação dos melhores isolados para os próximos bioensaios. O teste da razão de verossimilhança (log-likelihood ratio) foi utilizado para testar o efeito dos diferentes NEP, seguida por comparações de Tukey ( $p < 0,05$ ). A qualidade do ajuste foi determinada através de um gráfico semi-normal com um envelope de simulação.

### **5.5. BIOENSAIO 2: Interferência da dieta na viabilidade dos isolados de NEP**

Para verificar se a presença ou ausência da dieta interferiu na viabilidade dos NEP, e consequentemente se isso afetou a capacidade infectiva sobre as larvas de *C. capitata*, foram utilizados copos plásticos de 50 mL, onde cada repetição tinha a base contendo 9 mL de água deionizada, uma folha de papel filtro e 5 g de dieta. Também foi feito um tratamento controle que não continha dieta (Figuras 2 e 3).

Em seguida os nematoides foram inoculados em 1 mL da suspensão na concentração de 1000 JI/mL, e cada tratamento foi repetido 9 vezes, e a recuperação dos JIs e a viabilidade foi avaliada após 24, 48 e 72 horas.

**Tabela 4: Esquema de avaliação diária de coleta dos JI**

Horas	24	48	72
Repetições/NEP	9	9	9

Fonte: OLIVEIRA, V. V.

**Figura 2: Sequência da montagem das repetições**

Fotos: OLIVEIRA, V. V. Laboratório de Patologia e Controle Microbiano de Inseto, UFLA, Lavras, MG, Brasil.

**Figura 3: Demonstração das repetições dos tratamentos com dieta e sem dieta**

Fotos: OLIVEIRA, V. V. Laboratório de Patologia e Controle Microbiano de Inseto, UFLA, Lavras, MG, Brasil.

Os dados foram submetidos a análise de modelos lineares generalizados (GLM) com distribuição Poisson em seguida submetida a teste de Tukey para a comparação de média. O teste da razão de verossimilhança (log-likelihood ratio) foi utilizado para testar o efeito dos diferentes NEP, seguida por comparações de Tukey ( $p < 0,05$ ). A qualidade do ajuste foi determinada através de um gráfico semi-normal com um envelope de simulação.

### 5.6. BIOENSAIO 3: TESTE DE NUTRIÇÃO

Os isolados e os procedimentos utilizados neste bioensaio foram os mesmos do

bioensaio 1, modificando apenas a forma de fornecimento e a consistência da dieta (Tabela 10), diminuindo as áreas de contato proporcionadas pela granulometria da mesma.

O objetivo do bioensaio foi o fornecimento da dieta sem interferir como barreira física aos NEP, portanto utilizou-se dieta com consistência de gelatina, evitando assim com que a área exposta fosse maior, cada repetição consistindo em placas de Petri de 5 cm de diâmetro, forradas com 3 papéis filtros, 10 larvas de *C. capitata* e 3/4 da área livre para o deslocamento dos indivíduos (Figura 4).

**Tabela 5:** Composição da dieta artificial para o desenvolvimento larval de *C. capitata*.

<b>Ingrediente</b>	<b>Quantidade</b>
Levedo	20,4 g
Açúcar	18,12 g
Nipagin	0,2 g
Nipazol	0,2 g
Benzoato	0,2 g
Ágar	1 g
Farelo	20 g
H <sub>2</sub> O	101 mL

Fonte: OLIVEIRA, V. V.

**Figura 4:** Repetição com pequena parte da dieta artificial



Foto: OLIVEIRA, V. V. Laboratório de Patologia e Controle Microbiano de Inseto, UFLA, Lavras, MG, Brasil.

Os dados foram submetidos a análise de modelos lineares generalizados (GLM) com distribuição Binominal em seguida submetida a teste de Tukey para a comparação de média. O teste da razão de verossimilhança (log-likelihood ratio) foi utilizado para testar o efeito dos diferentes NEP, seguida por comparações de Tukey ( $p < 0,05$ ). A qualidade do ajuste foi determinada através de um gráfico semi-normal com um envelope de simulação.

#### **5.7. BIOENSAIO 4: Determinação da concentração de NEP para *C. capitata*.**

Foi escolhido os isolados *S. brazilense* e *S. feltiae* para os próximos bioensaio, pois os dados obtidos pelo bioensaio 1 e 3, demonstraram que foram os melhores, optou-se por não utilizar o *S. carpocapse* por ser generalista, sendo utilizado como testemunha positiva. Neste bioensaio foram utilizadas diferentes concentrações de *S. feltiae* e *S. brazilense*, escolhidos no bioensaio anterior com o intuito de encontrar a concentração ótima e estimar a  $DL_{50}$  e a  $DL_{90}$ .

O bioensaio foi realizado com dez placas de Petri para cada tratamento, forradas com três papéis filtros sendo inoculadas nas seguintes concentrações: 0, 10, 25, 50, 75, 100, 200 e 300 JI/larva, sendo dez larvas do terceiro instar em cada repetição.

As repetições dos tratamentos foram avaliadas no sétimo dia após inoculação das suspensões de NEP, observando-se a sintomatologia e a confirmação da mortalidade com a dissecação, sendo anotados os números de hospedeiros mortos em cada concentração.

Os dados foram submetidos a análise de modelos lineares generalizados (GLM) com distribuição Binominal em seguida submetida a teste de Tukey para a comparação de média. O teste da razão de verossimilhança (log-likelihood ratio) foi utilizado para testar o efeito dos diferentes NEP, seguida por comparações de Tukey ( $p < 0,05$ ). A qualidade do ajuste foi determinada através de um gráfico semi-normal com um envelope de simulação. Para o cálculo do doses efetivas  $DL_{50}$  e  $DL_{90}$  do isolado de NEP foi ajustado um modelo log-logístico com dois parâmetros  $y = 1/(1+\exp\{b[\ln(x)-\ln(e)]\})$ , utilizando o teste “Goodness-of-fit test” para verificar a qualidade do ajuste.

#### **5.8. BIOENSAIO 5: Susceptibilidade das larvas de *C. capitata* aos NEP de acordo com a fonte de alimentação e interferência na produção e progênie**

Para determinar se a taxa de mortalidade de NEP em *C. capitata* foi afetada segundo a alimentação do hospedeiro, os insetos foram alimentados com diferentes dietas à base de frutas, tais como a goiaba (*P. guajava*), manga (*M. indica*), laranja (*C. sinensis*), maçã (*M. domestica* Borkh) e a Artificial, (Tabela 11) (Figuras 5 e 6).

Para tanto, foram introduzidos 5 mL de ovos em recipientes, contendo 100 gramas da respectiva dieta, com as larvas se desenvolvendo até o terceiro instar, quando foram usadas no bioensaio.

Cada repetição consistiu de uma placa de 5 cm, forrada com três papéis filtros, contendo dez indivíduos e foi inoculado 1 mL de suspensão na concentração de 500 JI/ mL (determinada no bioensaio anterior) de *S. braziliense* e *S. feltiae*. Após sete dias da inoculação, foram contabilizadas as larvas mortas que apresentaram sintomas de morte por NEPe realizada a dissecação da metade das larvas para confirmar a morte por NEP (Figuras 7).

O restante das larvas do bioensaio foram colocadas em placa de White, para verificar se a alimentação interfere na produção, onde cada repetição consistiu de 10 larvas e foi avaliada a produção até o esgotamento, sem a emergência de JI por 5 dias consecutivos (Figura 8).

Com os JI produzidos nos cinco primeiros dias, foi obtida uma suspensão aquosa com concentração de 1000 JI/mL e inoculada em 5 placas contendo 10 lagartas de *G. mellonella* para a verificação da infectividade da progênie dos NEP (Figura 9)

Os dados foram submetidos a análise de modelos lineares generalizados (GLM) com distribuição Poisson para a susceptibilidade e Binominal para a progênie, em seguida submetida a teste de Tukey para a comparação de média. O teste da razão de verossimilhança (log-likelihood ratio) foi utilizado para testar o efeito dos diferentes NEP, seguida por comparações de Tukey ( $p < 0,05$ ).

**Tabela 6** – Unidade de Dieta Padrão à base de Frutas

Dieta a base de frutos	
Produtos	Unidade de medida
Nipagin	0,0519 g
Nipazol	0,0519 g
Benzoato	0,0462 g
Ágar	1,2 g
Fruto	190 g
Água Deionizada	26 mL

Fonte: OLIVEIRA, V. V.

**Figura 5:** Dietas para as larvas de *Ceratitiscapitata* à base de diferentes frutas





Foto: OLIVEIRA, V. V. Laboratório de Patologia e Controle Microbiano de Inseto, UFLA, Lavras, MG, Brasil.

**Figura 6:** Larvas de terceiro instar na dieta à base de manga.



Foto: OLIVEIRA, V. V. Laboratório de Patologia e Controle Microbiano de Inseto, UFLA, Lavras, MG, Brasil.

**Figura 7:** Ilustração de uma dissecação de larva de *C. capitata* que morreu com sintoma de NEP.

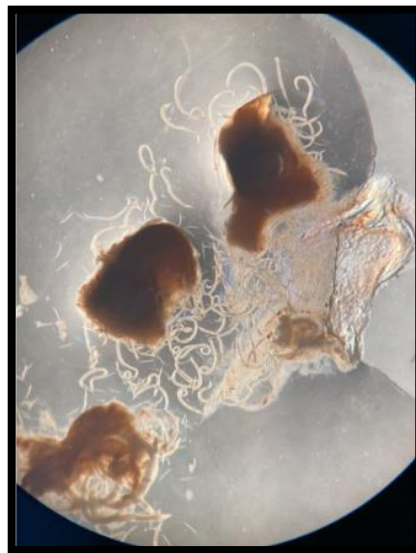
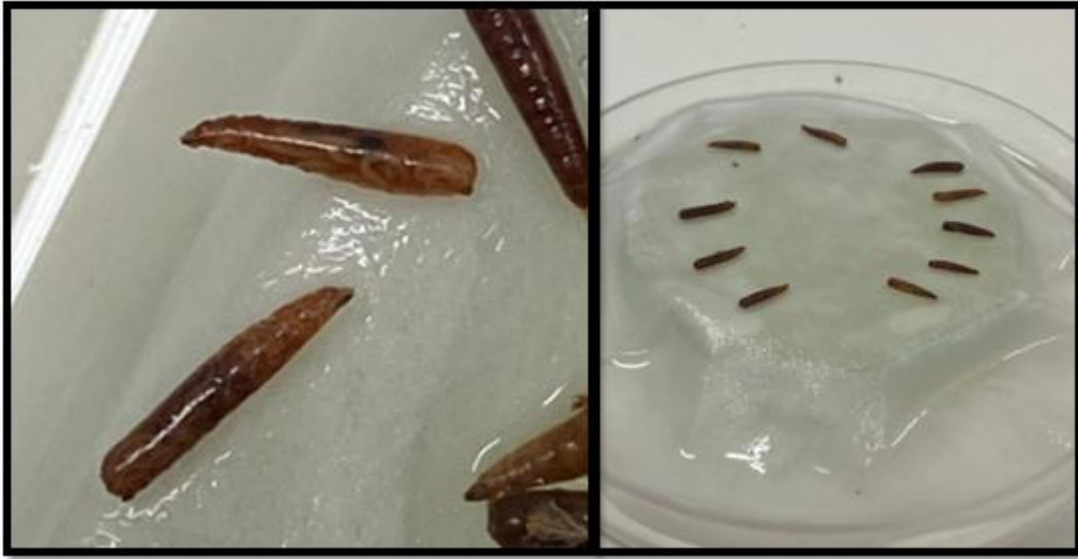


Foto: OLIVEIRA, V. V. Laboratório de Patologia e Controle Microbiano de Inseto, UFLA, Lavras, MG, Brasil.

**Figura 8:** Larvas de *Ceratitiscapitata* com sintoma de morte por NEP na placa de White



Fotos: OLIVEIRA, V. V. Laboratório de Patologia e Controle Microbiano de Inseto, UFLA, Lavras, MG, Brasil.

**Figura 9:** Repetições por tratamento

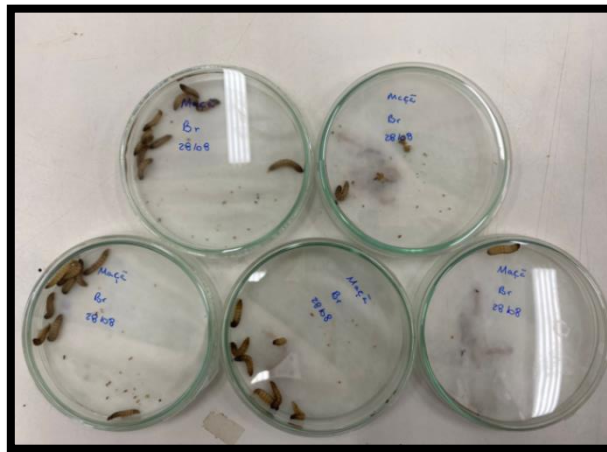


Foto: OLIVEIRA, V. V. Laboratório de Patologia e Controle Microbiano de Inseto, UFLA, Lavras, MG, Brasil.

### 5.9. Análise estatística

Para testar as diferenças entre os isolados de NEP em diferentes tratamentos fornecendo dieta e sem dieta, os diferentes tipos de dieta fornecidos e o efeito da concentração

dos isolados foram utilizados Modelos Lineares Generalizados (GLM) com distribuição quasibinomial. Foi ajustado um GLM considerando dois fatores: o efeito da dieta nas larvas e o efeito dos isolados de NEP e a interação entre eles, fazendo um desdobramento dos tipos desenvolvimento em diferentes dietas e de cada isolado de nematoides.

O teste da razão de verossimilhança (log likelihood ratio) foi utilizado para testar o efeito dos diferentes NEP, seguido por comparações com o teste de Tukey ( $p < 0,05$ ). A qualidade do ajuste foi determinada através de um gráfico semi-normal com um envelope de simulação.

Para o cálculo das doses efetivas ( $DL_{50}$  e  $DL_{90}$ ) dos isolados de NEP foi ajustado um modelo log-logístico com dois parâmetros  $y = 1/(1+\exp\{b[\ln(x)-\ln(e)]\})$ , utilizando o teste “Goodness-of-fittest” para verificar a qualidade do ajuste.

Todas as análises foram feitas utilizando-se o software R 3.6 (R CORE TEAM, 2019), sendo utilizados os seguintes pacotes lme4 (BATES et al., 2015), emmeans (SEARLE; SPEED; MILLIKEN, 1980), drc (RITZ et al., 2015) e hnp (MORAL; HINDE; DEMÉTRIO, 2017).

## 6. RESULTADOS

### 6.1. BIOENSAIO 1: Interferência da dieta como substrato na virulência em *C. capitata*

As larvas de *C. capitata* morreram por todos os isolados de NEP, independente se estavam com dieta ou sem dieta, havendo variação na taxa de mortalidade entre elas. Não houve mortalidade no tratamento controle.

O fornecimento da dieta afetou a taxa de mortalidade por NEP. A mortalidade das larvas variou de 38,3% a 92,8% quando alimentadas, sendo que *S. brazilense* apresentou melhores resultados, enquanto que para as larvas com restrição de dieta, a mortalidade variou de 53,3% a 90,1%, com destaque para *S. feltiae*, *S. carpocapsae* All e *S. brazilense*.

A mortalidade das larvas sem dieta foi superior em todos os isolados em comparação com as larvas com dieta para todos os isolados, com exceção de *S. brazilense* e *S. carpocapse* que não tiveram diferença. Neste caso, as larvas sem dieta foram mais susceptíveis aos nematoides entomopatogênicos.

Todos os isolados de NEP apresentaram patogenicidade sobre às larvas de *C. capitata*, independente se estavam com ou sem dieta, havendo variação na taxa de mortalidade (virulência) dos isolados. Não houve mortalidade no tratamento controle (Tabela 12).

O fornecimento da dieta afetou a taxa de mortalidade do inseto causada por NEP para os isolados *S. feltiae*, *S. brazilense*, *H. amazonensis* Alho e *H. amazonensis* RSC05, mas não afetou para o isolado *S. carpocapsae* (Tabela 12).

Quando analisados os dados dentro dos tratamentos que receberam dieta, a mortalidade variou de 38,3% a 92,8% para as larvas alimentadas, sendo que *S. brazilense* apresentou melhores resultados.

Por outro lado, para as larvas com restrição de dieta, a mortalidade variou de 53,3% a 90,1%, com destaque para *S. feltiae*, *S. carpocapsae* All e *S. brazilense*.

**Tabela 7:** Variação dataxa de mortalidade de larvas de 3º instar de *Ceratitis capitata* causada por isolados de nematoides entomopatogênicosna presença e ausência de dieta alimentar

<b>Isolados de Nematoides Entomopatogênicos</b>	<b>Com Dieta</b>	<b>Sem dieta</b>
<i>Steinernema feltiae</i>	78,8 cB	90,1 aA
<i>Steinernema carpocapsae</i> All	86,2 bA	89,2 aA
<i>Steinernema brazilense</i>	92,8 aB	89,0 aA
<i>Heterorhabditis</i> sp. Alho	44 dB	54,8 bA
<i>Heterorhabditis amazonenses</i> RSC05	38,3 dB	53,3 bA
Água deionizada	0,37 eA	0,37 cA

\*Médias seguidas por letras maiúsculas diferentes indicam diferenças significativas na mortalidade das larvas de *C. capitata* entre o tratamento com e sem dieta, enquanto que as médias seguidas por letras minúsculas diferentes indicam diferenças significativas entre os isolados de NEP estudados (na coluna) pelo teste de Tukey a 5% de significância.

## 6.2. BIOENSAIO 2: Interferência da dieta nos isolados de NEP

Os JI de todos os isolados foram recuperados, tanto no tratamento com dieta como sem dieta, com variação na taxa total de recuperação de 24,07 a 92,30% (Tabela 8).

Ao comparar a coleta de JI entre o tratamento sem dieta com o com dieta, houve diferença em todos os isolados (Tabelas 8). A coleta diária dos JI no tratamento sem dieta foi menor nas 24 horas e cresceu nos dias seguintes, entretanto o isolado *H. amazonensis* foi o único que manteve a maior coleta nos três dias de avaliação, enquanto na presença de dieta, todos os isolados tiveram a maior coleta nas primeiras 24 horas e diminuindo nos próximos dias (Tabelas 9).

Comparando o controle com a dieta notou-se que houve predominância nas repetições sem a dieta na recuperação dos isolados e de JI vivos, enquanto na presença da dieta coletaram-se poucos JI e a maior parte desses NEP estavam mortos (Tabelas 8 e 14).

Sobre a coleta de JI vivos, houve diferença entre os tratamentos, sendo que os tratamentos sem dieta apresentaram maior recuperação (Tabela 10).

A taxa de coleta diária dos JI no tratamento sem dieta variou de 20 a 91,59%, sendo o isolado *S. brazilense* apresentou a menor recuperação e *H. amazonensis* RSC05 a maior (tabela 9).

No tratamento com dieta os valores de recuperação foram de 0,22 a 4,44% (Tabela 9).

Houve diferença para o isolado *H. amazonensis* RSC05 quanto aos JI mortos

recuperados nos tratamentos (Tabela 12), enquanto a coleta dos indivíduos independente do isolado variou somente na primeira coleta (Tabela 13). A coleta diária dos JI no tratamento controle dos isolados de *H. amazonensis* Alho, *S. braziliense* e *S. feltiae* foi menor nas 24 horas e cresceu nos seguintes dias, enquanto *S. carpocase* decaiu e *H. amazonensis* teve comportamento de crescer e decair (Tabelas 13). Os isolados com dieta apresentaram propensão de serem maiores na primeira coleta e decair nas próximas (Tabelas 13).

Os JI de todos os isolados foram recuperados, tanto na dieta como sem dieta, com variação na taxa de recuperação de 24,07 a 92,30% (Tabela 8).

Ao comparar a coleta de JI entre o tratamento controle com o fornecimento da dieta, houve diferença em todos os isolados (Tabelas 9). A coleta diária dos JI no tratamento controle foi menor nas 24 horas e cresceu nas seguintes, entretanto o isolado *H. amazonensis* foi o único que manteve a maior coleta nos três dias de avaliação, enquanto na presença de dieta, todos os isolados tiveram a maior coleta nas primeiras 24 horas e diminuindo nos próximos dias (Tabelas 9).

Sobre a coleta de JI vivos, houve diferença em todos os isolados nos respectivos tratamentos, sendo o melhor o controle (Tabela 10). A taxa de coleta diária dos JI no tratamento controle variou de 20 a 91,59%, sendo os isolados *S. braziliense* o menor e *H. amazonensis* o maior, e na presença de dieta foi de 0,22 a 4,44% (Tabela 10). A coleta diária dos JI no tratamento controle foi menor nas 24 horas e cresceu nos seguintes dias, entretanto o isolado *H. amazonensis* foi o único que manteve a maior coleta nos três dias de avaliação, enquanto na presença de dieta, todos os isolados tiveram a maior coleta nas primeiras 24 horas e diminuindo nos próximos dias (Tabelas 11).

Houve diferença para o isolado *H. amazonensis* RSC05 quanto aos JI mortos recuperados nos tratamentos (Tabela 12), enquanto a coleta dos indivíduos independente do isolado variou para o sem dieta nos isolados *H. amazonensis* Alho e *H. amazonensis* RSC05, enquanto ao tratamento com dieta somente o *H. amazonensis* Alho (Tabela 12). A coleta diária dos JI no tratamento controle dos isolados de *H. sp.* Alho, *S. braziliense* e *S. feltiae* foi menor nas 24 horas e cresceu nos seguintes dias, enquanto *S. carpocase* decaiu e *H. amazonensis* teve comportamento de crescer e decair (Tabelas 13). Os isolados com dieta apresentaram propensão de serem maiores na primeira coleta e decair nas próximas (Tabela 13).

Comparando o controle com a dieta notou-se que houve predominância nas repetições sem a dieta na recuperação dos isolados e de JI vivos, enquanto na presença da dieta coletaram-se poucos JI e a maior parte desses NEP estavam mortos (Tabelas 8 e 14).

**Tabela 8:** Total de Juvenis Infectantes (JI) coletados em armadilhas após exposição dos isolados de NEP a tratamentos com e sem dieta utilizada na alimentação de *Ceratitidis capitata* em condições de laboratório

<b>Isolados</b>	<b>Sem Dieta (%)</b>	<b>Com Dieta (%)</b>
<i>H. amazonensis</i> Alho	60,93 bcA	1,56 aB
<i>H. amazonensis</i> RSC05	92,30 aA	9,81 abB
<i>S. brasiliense</i>	24,07 dA	6,93 abB
<i>S. carpocapse</i>	78,41 abA	12,86 aB
<i>S. feltiae</i>	52,89 cA	13,22 aB

\*Médias seguidas por letras maiúsculas diferentes indicam diferenças significativas na recuperação de JI no tratamento com e sem dieta, enquanto que as médias seguidas por letras minúsculas diferentes indicam diferenças significativas entre os isolados de NEP estudados (na coluna) pelo teste de Tukey a 5% de significância.



**Tabela 9:** Porcentagem de juvenis infectantes (JI) coletados por dia após exposição a tratamento com e sem dieta utilizada na criação de *Ceratitis capitata* em condições de laboratório.

Tratamentos	Com Dieta			Sem Dieta		
	24 horas	48 horas	72 horas	24 horas	48 horas	72 horas
<i>H. amazonensis</i> Alho	3,22 bB A	0,77 aB A	0,66 aB A	38,11 bcA B	71,78 aA A	72,89 abA A
<i>H. amazonensis</i> RSC05	22,11 aB A	5,67 aB B	1,66 aB B	92,89 aA A	84,22 aA A	99,78 aA A
<i>S. brasiliense</i>	16,55 abA A	1,11 aB B	3,11 aB B	14,00 cA B	17,67 bA AB	40,56 bA A
<i>S. carpocapse</i>	23,33 aB A	6,89 aB B	8,33 aB B	67,33 abA A	76,11 aA A	91,44 aA A
<i>S. feltiae</i>	23,00 aA A	8,56 aB A	8,11 aB B	21,89 cA B	60,33 aA A	76,44 abA A

\*Médias seguidas por letras maiúsculas diferentes indicam diferenças significativas na recuperação diária de JI no tratamento com e sem dieta, enquanto que as médias seguidas por letras minúsculas diferentes indicam diferenças significativas entre os isolados de NEP estudados (na coluna) pelo teste de Tukey a 5% de significância.

**Tabela 10:** Porcentagem de JI vivos coletados dos isolados de NEP após exposição a dieta de *Ceratitiscapitata* em condições de laboratório

Isolados	Sem Dieta (%)	Com Dieta (%)
<i>H. amazonensis</i> Alho	59,63 bcA	0,22 aB
<i>H. amazonensis</i> RSC05	91,59 aA	0,44 aB
<i>S. brasiliense</i>	20,00 dA	1,11 aB
<i>S. carpocapse</i>	69,52 abA	1,26 aB
<i>S. feltiae</i>	41,48 cA	4,44 aB

\*Médias seguidas por letras maiúsculas diferentes indicam diferenças significativas na mortalidade das larvas de *C. capitata* entre o tratamento com e sem dieta, enquanto que as médias seguidas por letras minúsculas diferentes indicam diferenças significativas entre os isolados de NEP estudados (na coluna) pelo teste de Tukey a 5% de significância.

**Tabela 11:** Porcentagem de juvenis infectantes (JI) vivos coletados por dia após exposição a tratamento com e sem dieta utilizada na criação de *Ceratitidis capitata* em condições de laboratório.

Tratamentos	Com Dieta			Sem Dieta		
	24 horas	48 horas	72 horas	24 horas	48 horas	72 horas
<i>H. alho</i>	0,22 bB A	0,22 aB A	0,22 aB A	37,56 bcA B	70,67 aA A	70,67 abc A
<i>H. amazonensis</i>	0,88 bB A	0,22 aB A	0,22 aB A	92,56 aA A	82,67 aA A	99,56 aA A
<i>S. brasiliense</i>	2,89 abB A	0,22 aA* A	0,22 aB A	11,89 cA B	12,67 bA* B	35,44 cA A
<i>S. carpocapse</i>	1,56 abB A	2,00 aB A	0,22 aB A	53,22 abA B	71,00 aA AB	84,33 abA A
<i>S. feltiae</i>	8,67 aA A	4,44 aB a	0,22 aB A	20,22 cA B	50,89 aA A	53,33 bcA A

\*Médias seguidas por letras maiúsculas diferentes indicam diferenças significativas na recuperação diária de JI no tratamento com e sem dieta, enquanto que as médias seguidas por letras minúsculas diferentes indicam diferenças significativas entre os isolados de NEP estudados (na coluna) pelo teste de Tukey a 5% de significância.

**Tabela 12:** Porcentagem de JI mortos coletados dos isolados de NEP após exposição a dieta de *Ceratitidis capitata* em condições de laboratório.

Isolados	Sem Dieta (%)	Com Dieta (%)
<i>H. amazonensis</i> Alho	1,30 bA	1,33 bA
<i>H. amazonensis</i> RSC05	0,70 bA	9,37 abB
<i>S. brasiliense</i>	4,07 abA	5,81 abA
<i>S. carpocapse</i>	8,89 aA	11,59 aA
<i>S. feltiae</i>	11,41 aA	8,78 aA

\*Médias seguidas por letras maiúsculas diferentes indicam diferenças significativas na mortalidade das larvas de *C. capitata* entre o tratamento com e sem dieta, enquanto que as médias seguidas por letras minúsculas diferentes indicam diferenças significativas entre os isolados de NEP estudados (na coluna) pelo teste de Tukey a 5% de significância.

**Tabela 13:** Porcentagem de juvenis infectantes (JI) mortos coletados por dia após exposição a tratamento com e sem dieta utilizada na criação de *Ceratitis capitata* em condições de laboratório.

Tratamentos	Com Dieta			Sem Dieta		
	24 horas	48 horas	72 horas	24 horas	48 horas	72 horas
<i>H. alho</i>	3,00 bA A	0,56 aA A	0,44 aA A	0,56 bA A	1,11 aA A	2,22 bA A
<i>H. amazonensis</i>	21,22 aA A	5,44 aA B	1,44 Aa B	0,33 bB A	1,56 aA A	0,22 bA A
<i>S. brazilense</i>	13,67 abA A	0,89 aA B	2,89 aA B	2,11 bB A	5,00 aA A	5,11 bA A
<i>S. carpocapse</i>	21,78 aA A	4,89 Aa B	8,11 Aa B	14,11 aA A	5,11 aA A	7,44 bA A
<i>S. feltiae</i>	14,33 abA A	4,11 aA A	7,89 aB A	1,67 bA A	9,44 aA B	23,11 aA C

\*Médias seguidas por letras maiúsculas diferentes indicam diferenças significativas na recuperação diária de JI no tratamento com e sem dieta, enquanto que as médias seguidas por letras minúsculas diferentes indicam diferenças significativas entre os isolados de NEP estudados (na coluna) pelo teste de Tukey a 5% de significância.

**Tabela 14:** Relação entre a taxa de coleta de JI vivos e mortos em dieta e controle.

Isolado/Tratamentos	Vivo	Morto
<i>H. alho</i>	Dieta	14,29%
	Sem Dieta	97,87%
<i>H. amazonensis</i>	Dieta	4,53%
	Sem Dieta	99,24%
<i>S. brazilense</i>	Dieta	16,04%
	Sem Dieta	83,08%
<i>S. carpocapse</i>	Dieta	9,80%
	Sem Dieta	88,66%
<i>S. feltiae</i>	Dieta	33,61%
	Sem Dieta	78,43%

### 6.3. BIOENSAIO 3: Comparação do efeito de diferente textura da dieta artificial na sobrevivência dos nematoides entomopatogênicos

Todos os isolados causaram mortalidade nas larvas de *C. capitata* em todos os tratamentos, e apenas o tratamento com *S. brasiliense* não apresentou diferença significativa quando os tratamentos com e sem dieta foram comparados para cada isolado (Tabela 15).

Nos tratamentos contendo dieta houve variação na taxa de mortalidade de *C. capitata* de 55,3% a 82,8%, enquanto nos tratamentos sem dieta os valores variaram de 79,7% a 91% e não diferiram entre si (Tabela 15).

Na interação entre o bioensaio 1 onde há dieta em toda a área da placa e o bioensaio 3 que tem 25% da área disposta com alimento, houve diferença somente no isolado *S. brasiliense*, além de que ao se comparar a taxa de mortalidade entre os isolados, percebe-se que foi semelhante, sendo melhores *S. brasiliense*, *S. carpocapsae*, *S. feltiae*, *H. amazonensis* RSC05 e *H. amazonensis* GL (Tabela 16).

**Tabela 15:** Porcentagem de mortalidade de larvas de *Ceratitis capitata* com  $\frac{3}{4}$  da área exposta e  $\frac{1}{4}$  com a mesma dieta artificial do bioensaio 1, porém com textura gelatinosa.

Isolados	Mortalidade (%)	
	Dieta	Sem Dieta
Água	0,33 dA	0,33 bA
<i>H. amazonensis</i> GL	55,3 cB	79,7 aA
<i>H. amazonensis</i> RSC05	61,8 cB	91,0 aA
<i>S. brasiliense</i>	82,8 aA	87,3 aA
<i>S. carpocapsae</i>	81,0 abB	87,7 aA
<i>S. feltiae</i>	73,2 bB	86,4 aA

\*Médias seguidas por letras maiúsculas diferentes indicam diferenças significativas na mortalidade das larvas de *C. Capitata* entre o tratamento com e sem dieta, enquanto que as médias seguidas por letras minúsculas diferentes indicam diferenças significativas entre os isolados de NEP estudados (na coluna) pelo teste de Tukey a 5% de significância.

**Tabela 16:** Interação da mortalidade de larvas de terceiro instar de *Ceratitis capitata* onde houve disposição da dieta em toda superfície da área (Bioensaio 1) e o Bioensaio 3 que teve presença da dieta artificial em ¼ da superfície da área

Isolados	Mortalidade (%)	
	Bioensaio 1	Bioensaio 3
Água	0,35 eA	0,33 dA
<i>H. amazonensis</i> GL	32,1 dA	30,9 cA
<i>H. amazonensis</i>	27,9 dA	32,6 cA
<i>S. brazilense</i>	87,4 aA	78,2 aB
<i>S. carpocapsae</i>	78,8 bA	74,4 abA
<i>S. feltiae</i>	63,8 cA	60,0 bA

\*Médias seguidas por letras maiúsculas diferentes indicam diferenças significativas na mortalidade das larvas de *C. capitata* entre os bioensaios, enquanto que as médias seguidas por letras minúsculas diferentes indicam diferenças significativas entre os isolados de NEP estudados (na coluna) pelo teste de Tukey a 5% de significância.

#### 6.4. BIOENSAIO 4: Determinação das concentrações de NEP para *C. capitata*

A escolha dos isolados foi feita a partir dos dados obtidos pelos bioensaios 1, 2 e 3, e optou-se por utilizar *S. brazilense* e *S. feltiae*.

Os isolados de *S. feltiae* e *S. brazilense* causaram mortalidade nas larvas de *C. capitata* em todas as concentrações, com exceção no tratamento controle. A mortalidade causada pelo isolado *S. feltiae* nas concentrações 10 e 25 JI/inseto foram as menores, diferindo das demais concentrações (Tabela 17). Para o isolado *S. brazilense* houve diferença somente na concentração de 10 JI/inseto, a qual causou a menor mortalidade. Quando comparados os dois isolados em cada concentração, houve diferença apenas nas concentrações 25 e 100 JI/inseto (Tabela 17).

**Tabela 17:** Mortalidade de larvas de *Ceratitits capitata* ocasionada pelos isolados de *Steinernema feltiae* e *Steinernema brazilense* aplicados em diferentes concentrações (juvenis infectantes JIs/inseto) em condições de laboratório.

Dose (JIs/Inseto)	<i>S. feltiae</i> (%)	<i>S. brazilense</i> (%)
0	1,0cA	1,0cA
10	40,8 bA	47,3 bA
25	62,6 bA	82,0aB
50	88,0aA	86,0aA
75	93,9 aA	84,7 aA
100	96,0aA	83,0aB
200	84,9 aA	90,0aA
300	99,0aA	99,0aA

\*Médias seguidas de letras minúsculas diferentes indicam diferenças na mortalidade das larvas de *C. capitata* entre as concentrações de cada isolado (na coluna). Médias seguidas por letras maiúsculas diferentes indicam diferenças na mortalidade entre diferentes isolados em cada concentração (entre as colunas)

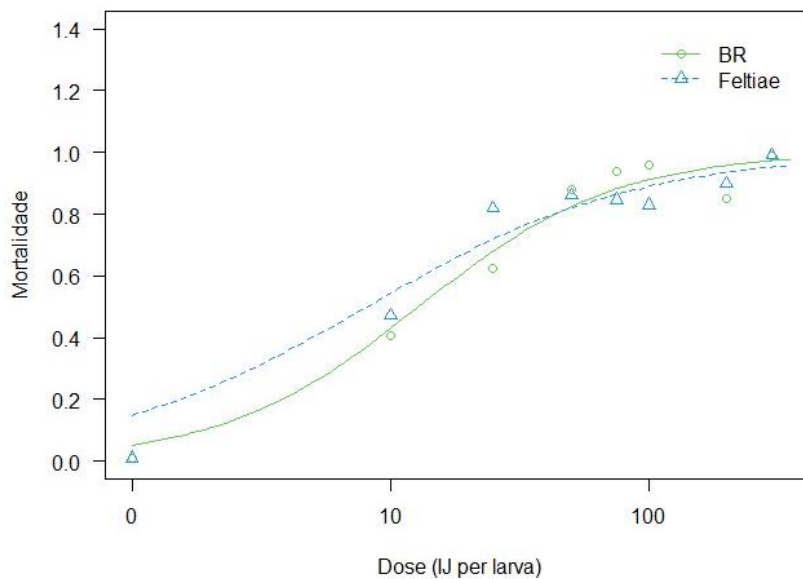
A concentração necessária para causar 50% de mortalidade das larvas de *C. capitata*, ou seja, a DL<sub>50</sub>, foi de 16,3 e 11,76 JI/inseto, enquanto que a DL<sub>90</sub> foi de 112,24 e 155,38 JI/inseto para *S. brazilense* e *S. feltiae* respectivamente. Para dar continuidade aos bioensaios, foi escolhida a concentração de 50 JI/inseto para os dois isolados, pois foi responsável por matar 80% das larvas de *C. capitata* uma vez que seria necessário mais que o dobro de JI para *S. brazilense* e o triplo para *S. feltiae* para aumentar apenas 10% de mortalidade (Tabela 18).

Além disso, foi observado que a mortalidade, independentemente do isolado, foi diretamente proporcional ao aumento da concentração de JI, sendo que a curva se mantém aos 80% de mortalidade, não havendo uma crescente expressiva ao aumentar a concentração de JI (Figura 8).

**Tabela 18:** Concentração de JI dos isolados de *Steinernema brazilense* e *Steinernema feltiae* necessária para causar mortalidade em uma determinada população de *Ceratitis capitata*.

Mortalidade (%)	Nº JI	
	<i>S. brazilense</i>	<i>S. feltiae</i>
10	2,97	1,18
20	5,57	2,78
30	8,45	4,89
40	11,88	7,73
50	16,3	11,76
60	22,48	17,94
70	32,35	28,79
80	51,99	53,79
90	112,24	155,38
99	1183,32	4049,53

**Figura 10:** Análise de regressão para a mortalidade confirmada de larvas de *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae) submetidas a diferentes concentrações de *S. brazilense* e *S. feltiae*.



Modelo log-logístico com dois parâmetros  $y=1/(1+\exp\{b[\ln(x)-\ln(e)]\})$ , utilizando o teste “Goodnessof-fittest”.

## 6.5. BIOENSAIO 5: Susceptibilidade das larvas de *C. capitata* aos NEP de acordo com a fonte de alimentação

*Steinernema brazilense* e *S. feltiae* causaram morte das larvas de *C. capitata* em todos os tratamentos. Quando comparados os dados de mortalidade causados pelos dois isolados em cada dieta, apenas o tratamento com larvas providas da dieta com laranja não apresentou diferença entre as médias analisadas.

Quando comparados os resultados de mortalidade avaliando as diferentes dietas para o mesmo isolado de nematoide, os tratamentos com a dieta à base de goiaba e manga apresentaram valores inferiores aos demais para o isolado *S. feltiae* (Tabela 19)

**Tabela 19:** Porcentagem de mortalidade de *Ceratitis capitata* alimentadas com diferentes dietas causada por dois isolados de nematoides entomopatogênicos em condições de laboratório.

Dietas	Mortalidade (%)	
	<i>S. feltiae</i>	<i>S. brazilense</i>
Artificial	94,8 aA	88,0 aB
Goiaba	77,6 bA	67,4 bB
Laranja	91,0 abA	90,5 aA
Maçã	96,0 aA	73,8 bB
Manga	77,3 bA	66,8 bB

\* Dados seguidos de mesma letra maiúscula na linha e minúscula na coluna não diferiram entre si pelo teste de Médias de Tukey com  $P \leq 0,05$ .

### 6.5.1. BIOENSAIO 5.1: Produção de progênie

*S. brazilense* e *S. feltiae* obtiveram progênie em todas as larvas que se alimentaram das dietas, porém houve diferença nos tratamentos Manga, Maçã e Laranja (Tabela 20). O isolado *S. brazilense* teve maior produção de JI nas larvas de *C. capitata* que se alimentaram de Laranja (38,21 JI/inseto) e a menor produção foi nas larvas alimentadas com a dieta à base de Maçã (5,43 JI/inseto). A progênie de *S. feltiae* foi diferente nas larvas de *C. capitata* que se alimentaram de Dieta Artificial (4,89 JI/inseto) e maior na dieta à base de Manga (14,59 JI/Inseto) (Tabela 20).



**Tabela 20:** Produção in vivo dos isolados *Steinernema brazilense* e *Steinernema feltiae* em larvas de *C. capitata* que se desenvolveram em diferentes dietas

<b>Dieta</b>	<i>S. brazilense</i>	<i>S. feltiae</i>
Dieta Artificial	5,81 cA	4,89 bA
Goiaba	7,41 cA	8,94 abA
Laranja	38,12 aA	12,38 aB
Maçã	5,43 cB	12,59 aA
Manga	23,27 bA	14,59 aB

\* Dados seguidos de mesma letra maiúscula na linha e minúscula na coluna não diferiram entre si pelo teste de Médias de Tukey com  $P \leq 0,05$ .

### 6.5.2. BIOENSAIO 5.2: Infectividade da progênie

Os JI provindos do bioensaio 6 foram virulentos para *G. mellonella*, variando a taxa de mortalidade variou de 76 a 100%. A progênie das larvas de *C. capitata* da dieta artificial não foram suficientes para se obter a suspensão necessária à execução do experimento. A taxa de mortalidade dos isolados somente não diferiu na dieta à base de Manga. A mortalidade causada pelos JI de *S. feltiae* não foram diferentes, enquanto *S. brazilense* foi diferente na Dieta Artificial (Tabela 21).

**Tabela 21:** Porcentagem de mortalidade de lagartas de *Galleria mellonella* causada por Juvenis Infectantes obtidos a partir de produção in vivo em lagartas de *Ceratititis capitata* alimentadas com diferentes dietas artificiais.

<b>Dieta</b>	<i>S. brazilense</i>	<i>S. feltiae</i>
Dieta Artificial	76,0 bA	0,0 bB
Goiaba	90,0 abB	98,0 aA
Laranja	86,0 abB	100,0 aA
Maçã	100,0 aA	90,0 aB
Manga	98,0 aA	98,0 aA

\* Dados seguidos de mesma letra maiúscula na linha e minúscula na coluna não diferiram entre si pelo teste de Médias de Tukey com  $P \leq 0,05$ .

### 6.5.3. BIOENSAIO 5.3: Produção de progênie em *Galleria mellonella* a partir dos NEP provindos de larvas de *C. capitata* alimentadas por diferentes dietas.

*S. brazilense* não produziu JI no tratamento com NEP provindos de larvas que se alimentaram de Maçã. A progênie de *G. mellonella* do isolado *S. Feltiae* somente foi maior

que *S. brazilense* nos JI provindos de *C. capitata* alimentadas por dieta à base de Manga (Tabela 22).

**Tabela 22:** Progênie dos isolados de *S. brazilense* e *S. feltiae* (JI/10 Insetos) em lagartas de *G. mellonella* com JI provindos de larvas de *C. capitata* que se alimentaram de diferentes dietas.

<b>Produção de JI</b>		
<b>Dieta</b>	<b><i>S. brazilense</i> (JI)</b>	<b><i>S. feltiae</i> (JI)</b>
Dieta Artificial	36,8	0
Goiaba	322	59,6
Laranja	570	236,4
Maçã	0	454,8
Manga	713,6	979,2

## 7. DISCUSSÃO

Investigações laboratoriais para selecionar isolados disponíveis quanto à eficácia em *C. capitata* sob condições abióticas variáveis são necessárias antes de realizar ensaios de campo. Esse conhecimento ajuda a otimizar sua aplicação em pomares comerciais e outros ambientes em que possam ser aplicados. Dessa forma, suas possibilidades de serem introduzidos no mercado comercial serão aumentadas e as perdas econômicas por *C. capitata* serão reduzidas (GODJO et al., 2018).

A ação dos NEP em larvas de tefritídeos foi estudado por diversos autores ROHDE et al., (2012); KAMALI et al., (2013); LANGFORD et al., (2014); FOELKEL; MONTEIRO; VOSS, (2015); BRIDA, (2015); MINAS et al., (2016); HEVE et al., (2017); SOUZA (2020); JEAN-BAPTISTE et al., (2021). O estudo realizado comprovou que as larvas de *C. capitata* foram susceptíveis aos cinco isolados utilizados, além de terem sido aferidos por trabalhos anteriores tais autores a seguir: ROHDE et al., (2012); FOELKEL, MONTEIRO, VOSS, (2015); SOUZA (2020); JEAN-BAPTISTE et al., (2021); GÖZEL, (2021).

Resultados obtidos por Rohde et al. (2012) demonstraram que as larvas de *C. capitata* são susceptíveis aos isolados de NEP, corroborando os dados obtidos, e que os indivíduos sem a presença de dieta obtiveram taxa de mortalidade semelhante ao presente trabalho, onde os isolados *H. amazonensis* RSC05, *S. carpocapsae* e *S. feltiae*, obtiveram uma taxa de mortalidade de  $53,8\% \pm 6,25$ ;  $86,3\% \pm 3,75$  e  $51,3\% \pm 7,18$  respectivamente.

Nobioensaio 1 observou-se que a mortalidade de *C. capitata* foi superior no isolado *S. feltiae* (90,1%), onde houve diferença de aproximadamente 38,7% com o autor citado inicialmente e a taxa de mortalidade foi semelhante a *H. amazonensis* RSC05 (53,3%) e *S. carpocapsae* All (89,2%). Há diferença de mortalidade entre os gêneros *Heterorhabditis* e *Steinernema*, convergindo com os autores citados, além de que os isolados deste trabalho como *S. feltiae*, *S. carpocapsae* e *S. brazilense* apresentaram diferenças maiores que os isolados de *H. amazonensis*. Alho e *H. amazonensis* RSC05 (Tabela 7).

Segundo Souza (2020) as larvas de *C. capitata* foram susceptíveis aos isolados de NEP utilizados, igualmente ao corrente trabalho, e a mortalidade causada por *S. carpocapsae* All ( $97,67 \pm 1,49\%$ ) foi semelhante ao trabalho realizado com mortalidade de 89,2%, com diferença de aproximadamente 20%. Para o gênero *Heterorhabditis*, Souza (2020) obteve no isolado *H. amazonensis* RSC05 ( $77,33 \pm 6,73\%$ ) e *H. amazonensis* GL ( $73,16 \pm 7,15\%$ ), enquanto no bioensaio 1 para *H. amazonenses* RSC05 (53,3) e *H. amazonensis* GL (54,8%) (Tabela 7).

Estudos realizados por Lindegren (1990) apresentaram resultados semelhantes aos aqui obtidos, sendo que *S. carpocapsae* causou mortalidade superior a 90% e no presente trabalho 89,2%. Também Lindegren & Vail (1986), Lindegren et al. (1989), Rohde et al. (2012) e Souza (2020) demonstraram suscetibilidade de larvas de *C. capitata* a *S. feltiae* em condições de laboratório (Tabela 7).

Minas et al. (2016) aplicaram suspensão de 100 JI/inseto em larvas de *C. capitata*, e os isolados causaram mortalidade que variou entre 72,5 e 98,5%, sendo os maiores valores de mortalidade absoluta obtidos por *Heterorhabditis* sp. LPP17 (98,5%), seguido por *Heterorhabditis* sp. LPP14 (96%) e *H. baujardi* LPP7 (89%), além de afirmar que quando os JI são grandes, como os dois isolados de *S. feltiae* (Filipjev) e *S. glaseri* (Steiner), a mortalidade larval de *C. capitata* foi baixa, apesar das altas concentrações de JI aplicadas, contrariando o presente trabalho, no qual *Heterorhabditis* sp. foi inferior comparando com *Steinernema* sp. (Tabela 7).

Gazit et al. (2000) verificaram a susceptibilidade de larvas de *C. capitata* em diferentes isolados tais como *S. riobrave*, *S. feltiae*, *S. carpocapsa* e Mexican, *S. carpocapse* All, *H. bacteriophora*, *H. sp. IS-5*, *H. sp. IS-12*, *H. sp. IS-21*, *H. sp. IS-25* e *H. sp. IS-23*, onde a taxa de mortalidade foi de 82,5, 33,9, <10, <10, <10, 53,3, 81,5, 76,9, 61,5 e 69,9%, respectivamente, ao comparar com os dados obtidos com o trabalho executado. Verificou-se que a mortalidade dos isolados *S. feltiae* e *S. carpocapse* foram superiores, 90,1 e 89,2% respectivamente, porém ao relacionar a *Heterorhabditis* sp., foi inferior, sendo em média 55% e o dos autores em questão a taxa de mortalidade foi superior a 61,5% (Tabela 7).

Chergui et al., (2019) verificaram que a presença do solo causou diferença na taxa de mortalidade das larvas de *C. capitata*, aplicando-se 100 JI/mL dos isolados de NEP. As larvas que estavam sobre o solo tiveram 31% de mortalidade, em comparação ao controle com 54%, corroborando o presente trabalho, pois houve diferença entre os indivíduos que estavam sobre a dieta artificial e sobre o papel filtro (Tabela 7).

Rohde et al. (2012) aplicaram isolados de *Heterorhabditis* sp. e *S. carpocapsae* em *C. capitata* com diferentes níveis de solo, e verificaram que a aplicação promoveu taxas de mortalidade entre em 26% e 74% respectivamente, sendo semelhante aos dados obtidos com larvas na dieta artificial, na qual *Heterorhabditis* sp. teve taxa de mortalidade de 23,2 a 33,3% e para *S. carpocapsae* 83,2%. (Tabela 7).

Brida (2015) realizou teste com os isolados *S. carpocapsae* IBCB 02, *S. brazilense* IBCB 06, *H. amazonensis* IBCB 24 e *S. feltiae* IBCB 47 em lagartas de *G. mellonella* com tratamentos de papel filtro no escuro e na luz, areia no escuro e na luz, não havendo

diferença entre o papel filtro no escuro e no claro, nem entre os tratamentos com areia no escuro e no claro, porém houve diferença na taxa de mortalidade entre os tratamentos com o papel filtro e areia, coincidindo com o bionsaio 1, no qual observou-se diferença na mortalidade entre os tratamentos com dieta artificial e controle (Tabela 7).

Não há artigos sobre a influência da dieta na susceptibilidade de larvas de *C. capitata* aos isolados de NEP, mas algumas hipóteses de possíveis causas, como a barreira física, fator nutricional da dieta, aumento da área de contato, o alimento mantendo o sistema imunológico ativo, estresse por cessar o alimento, entre outros, são passíveis de estudos posteriores.

Trabalhos realizados com diferentes tipos de substratos para verificar a movimentação e a virulência dos NEP foram realizados, como o de Rodrigues et al. (2005), que confirmaram que a textura do solo influencia na movimentação dos nematoides, sendo mais intensa em solos arenosos do que em solo argilosos, corroborando os dados aqui obtidos, nos quais a dieta tem a característica de reter a água, conseqüentemente contendo os NEP (Tabela 8).

Segundo Brida (2015) NEP sobreviveram até 5 dias sem a dieta com taxas de 98% (*S. carpocapsae*), 47,2% (*H. amazonensis*), 100% (*S. feltiae*), enquanto no presente trabalho foram de 69,52% (*S. carpocapsae*), 91,59% (*H. amazonensis*), 41,48% (*S. feltiae*), além de que *S. carpocapsae* sobreviveu cerca de 30% a mais nesse trabalho, podendo se supor que tais diferenças foram devidas aos hospedeiros, dieta fornecida a *G. mellonella*, reserva lipídica dos JI, entre outros (Tabela 10).

A textura do solo afeta na interação dos isolados de NEP com o respectivo hospedeiro, como verificaram Campos-Herrera & Gutiérrez (2009), avaliando *S. feltiae* Rioja em lagartas de *Spodoptera littoralis* (Lepidoptera: Noctuidae), sendo a interação significativa na mortalidade larval e nas concentrações letais, utilizando-se três tipos de solos (franco-argilo-arenoso com 24% de argila, e outros 2 com 14% e 5% de de argila, respectivamente). Os resultados de DL<sub>50</sub> e DL<sub>90</sub> para o primeiro solo citado mostram redução da virulência do nematoide em relação aos outros dois, uma redução de 50% na mortalidade larval em solo argiloso em comparação com os solos mais leves, e tais resultados foram compatíveis com os de Blackshaw e Senthamizhselvan (1991), que observaram que *S. feltiae* foi mais virulento contra *G. mellonella* em frações de areia com partículas menores que 600 µm. Portillo-Aguilar et al. (1999) sugerem que essas perdas de virulência podem ser devidas ao alto teor de argila, diminuição da aeração, além de que restringe o movimento do nematoide, resultando em uma redução da sobrevivência e eficácia do mesmo em encontrar possíveis hospedeiros (Tabela

15).

Gözel&Genç (2021) registraram taxa de mortalidade em larvas de *C. capitata* com o isolado *S. feltiae* nas concentrações de 100 JI e 200 JI, de 83% e 96% respectivamente, e estes dados foram semelhantes aos dados obtidos, onde 100 JI e 200 JI promoveram 96% e 84,9% de mortalidade, não havendo diferença na mortalidade entre as concentrações dos autores (Tabela 17).

Chergui et al. (2019), com a aplicação de *S. feltiae* em diferentes dosagens, 50, 100 e 200 JI/mL, gerou taxas de mortalidade de 22%, 54% e 82%, respectivamente, em larvas de *C. capitata* sobre o papel filtro, tendo como único dado semelhante ao trabalho realizado a dosagem 200 JI de 84,9% e divergindo com o restante das doses (Tabela 17).

Mokrini et al. (2020) avaliaram diferentes dosagens do isolado *Steinernema feltiae* (10, 25, 50, 100 e 150 JI/cm<sup>2</sup>), onde as duas melhores concentrações foram de 50 e 100 JI/cm<sup>2</sup>, e exibiram taxas de mortalidade de 94 e 92%, respectivamente, sendo que o presente trabalho demonstrou que as concentrações de 50 e 100 JI/inseto causaram mortalidade de 88 e 96%, respectivamente, variando de 6 a 4% (Tabela 17).

Souza (2020) realizou teste de concentração de JI de *H. amazonensis* GL (Rhabditida: Heterorhabditidae) necessária para causar mortalidade de larvas de *C. capitata*, e as concentrações letais (CL50 e CL90) foram de 45,20JI/larva e 181,86 JI/larva, respectivamente, enquanto a mortalidade das larvas nas concentrações de 50, 150, 250 e 350 JI/inseto foram de 53,9, 80, 86 e 96,6%, respectivamente, enquanto os dados obtidos no presente trabalho nos isolados de *S. brazilense* e *S. feltiae* foram de DL<sub>50</sub> e DL<sub>90</sub> de 16,3, 11,76, 112,24 e 155,38 JI/inseto, respectivamente, sendo mais virulento que o *H. amazonensis* GL. Adicionalmente, a mortalidade das larvas nas concentrações 50, 100, 200 e 300 foram de 86 e 88, 83 e 96, 90 e 84,9, 99 e 99 %, tendo a taxa de mortalidade superior ao isolado que autor citado trabalhou (Tabela 17 e 18).

Minas et al. (2016) avaliaram a interação entre as dosagens de JI e a mortalidade causada por diferentes cepas, *H. baujardi* LPP7 e *H. sp.* LPP14, verificando que houve correlação direta entre mortalidade e concentração de JI, corroborando o presente trabalho, além de que a suspensão de 50 JI/inseto no isolado *H. baujardi* LPP7 atingiu mortalidade de 87%, assemelhando-se ao trabalho no qual *S. brazilense* e *S. feltiae* promoveram mortalidades de 86 a 88% respectivamente, porém divergindo nas outras duas cepas que tiveram mortalidade abaixo de 80% na mesma concentração (Tabela 17).

Chaneiko et al. (2021) estimaram DL<sub>50</sub> e DL<sub>90</sub> de *S. feltiae* IBCBn 47 para larvas de

terceiro ínstar de *Anastrepha fraterculus*, onde a quantidade de JI foi de 595 e 1551,4 respectivamente, sendo expressivamente maior, pois para *S. feltiae* obteve-se DL<sub>50</sub> e DL<sub>90</sub> para *C. capitata* de 11,76 e 155,38 JI respectivamente, sendo esta diferença provavelmente devida ao tamanho do hospedeiro (Tabela 18).

Yağcı et al. (2021) realizaram teste de inoculação de diferentes concentrações do isolado *S. feltiae* (Tokat-Emir) em larvas de terceiro instar de *C. capitata*, nas concentrações de 0, 50, 100, 200 JI/inseto e a taxa de mortalidade foi de 0,66, 71 e 71%, respectivamente. Ao comparar com a mortalidade obtida pelo presente trabalho, verifica-se que as taxas de mortalidades citadas foram inferiores, pois as doses de 50, 100 e 200 JI/inseto utilizadas foram capazes de atingir 88, 96 e 84,9% (Tabela 17).

Godjo et al. (2018) analisaram o efeito das doses de *Steinernema* sp. Thui na mortalidade de *Bactrocera dorsalis*, sendo 20, 50, 100, 200 e 300 JI/inseto, resultando em 43,49, 69,09, 72 e 79% de mortalidade, respectivamente, sendo inferior em todas as concentrações nos dois isolados avaliados no presente trabalho (Tabela 17). Sobre a dose letal (DL), em 3 isolados de NEP avaliados, *H. taylorae* Azohoue, *H. taylorae* Hessa e *S. sp.* Thui, obtiveram-se DL<sub>50</sub> de 4,6, 5,39 e 35,2 JI e para DL<sub>90</sub> 18,78, 10,51 e 50,82 JI, respectivamente. Ao comparar com os isolados *S. brazilense* e *S. feltiae* utilizados no presente trabalho, *Heterorhabditis* sp. foram superiores, pois precisaria do triplo de *S. brazilense* e o dobro de *S. feltiae* para causar 50% da mortalidade, além da DL<sub>90</sub>, sendo que *Heterorhabditis* sp. necessitaria de 10% do total utilizado nos isolados de *S. brazilense* e *S. feltiae* (Tabela 18).

Noujem et al. (2015) aplicaram diferentes doses de NEP (*H. bacteriophora* LIB04) em larvas de *Cephalia tannourinensis*, com variação de 40, 100, 250 e 580 JI/inseto e a taxa de mortalidade foi de 83, 87, 100 e 97%, enquanto no presente trabalho com os isolados *S. brazilense* e *S. feltiae*, utilizando as concentrações de 50, 100, 200 e 300 JI/inseto em uma população de *C. capitata*, obtiveram-se mortalidades de 86 e 88, 83 e 96, 90 e 85, 99 e 99, respectivamente (Tabela 18).

James et al., (2018) realizaram teste de dose letal para larvas de *C. capitata*, utilizando isolados de *S. yirgalemense* e *H. noenieputensis*, a DL<sub>50</sub> e DL<sub>90</sub> foram 526,90 e 8863,2 JI/inseto, e, 37,80 e 635,84 IJs/inseto respectivamente. A potência relativa de *H. noenieputensis* foi 13,94 vezes superior à de *S. yirgalemense*, enquanto os dados obtidos no presente trabalho nos isolados de *S. brazilense* e *S. feltiae* foram de DL<sub>50</sub> e DL<sub>90</sub> de 16,3, 11,76 e 112,24, 155,38 JI/inseto respectivamente, sendo mais potente como agente de controle biológico contra as larvas de terceiro (Tabela 18). Para as duas espécies de NEP testadas, as linhas de regressão probit paralelas obtidas mostraram uma relação positiva, para ambas as

espécies, com a porcentagem de mortalidade de larvas aumentando à medida que a concentração de JI aumentava (Figura 10).

Mokrini et al., (2020) realizaram trabalho com larvas de *C. capitata* que foram alimentadas em fruto de damasco, onde a taxa de mortalidade causada pelo isolado *S. feltiae*-MOR9 foi de 77% em suspensão de 100 JI/cm<sup>2</sup>, sendo semelhante aos dados aqui obtidos, de 77,3% para o tratamento manga e 96% para as larvas que se desenvolveram na maçã (Tabela 19).

Godjo et al. (2018) utilizaram larvas de terceiro instar de *B. dorsalis* que se desenvolveram no mamão, ao aplicar 100 JI/inseto dos isolados *H. taysearae* Azohoue2, *H. taysearae* Hessa1, *H. indica* Ayogbe1, *H. taysearae* Ze3, *H. taysearae* Akohoun, *H. Taysearae* Hessa2, *H. Taysearae* Kemonджи, *H. taysearae* Korobororou, *Steinernemasp.* Thui, *H. taysearae* Manga e *Steinernemasp.* Bembereke, resultando em taxa de mortalidade de 96,09, 94,53, 93,75, 90,62, 85,93, 82,81, 76,56, 79,69, 69,53, 64,06, 51,56 e 7,03% respectivamente.

Em comparação com os dados obtidos pelo trabalho consumado, nota-se que a mortalidade causada pelo isolado de *Steinernema* sp. Thui foi semelhante a *S. brazilense*, onde os JI se desenvolveram em larvas de *C. capitata* que se alimentaram de dieta à base de goiaba, com mortalidade de 67,4%. Enquanto nos isolados de *Heterorhabditis* sp. houve uma variação de mortalidade de 96,09 a 51,56%, nos de *Steinernema* sp. do presente trabalho foram de 96 a 67,4%, sendo semelhante na maior e diferenciando na menor em 15,84% (Tabela 19).

Godjo et al. (2018) utilizaram larvas de 3º instar de *B. dorsalis* que se desenvolveram em mamão, inoculando suspensão de 100 JI/inseto, sendo que o potencial de reprodução de NEP dentro das larvas variou significativamente de acordo com isolados de nematoides. *H. taysearae* Hessa1, *H. taysearae* Azohoue 2 e *S. sp.* Thui, produziram em média 59577,2, 31000 e 4858,2 JI, respectivamente. De acordo com Giometti et al. (2011) esta diferença de progênie é devido à diferença de tamanho dos NEP. Os JI do isolado *H. taysaerae* têm 418 µm de comprimento e *Steinernema* sp. podendo ter até 900µm (POINAR, 1990). Assim, possivelmente para *Heterorhabditis* é vantajoso o tamanho diminuto, pois a exigência de energia e de nutrientes para o desenvolvimento dos JI e posteriormente na continuação do ciclo fisiológico em comparação a *Steinernema* sp. será menor, além da baixa competição entre os juvenis. Sobre a progênie do presente trabalho, que resultou em dados menores na produção de JI, pode ser considerado a espécie de hospedeiro e fatores nutricionais. Segundo Nash & Chapman (2014), a dieta larval com níveis diferentes de carboidratos e proteínas afeta



os parâmetros biológicos, como o desenvolvimento e o tamanho corporal, conseqüentemente tendo a disposição para o NEP uma quantia menor de nutrientes (Tabela 20).

Malan e Manrakhan (2009) utilizaram larvas de *Ceratitits rosa*, inocularam *H. zealandica* e a média da progênie foi de 6171,43 JI, valor obtido após 19–21 dias de incubação.

Noujem et al. (2015) aplicaram em larvas de *C. tannourinensis* o isolado de NEP *H. bacteriophora* LIB04, na concentração de 100 JI/inseto, produzindo diariamente 17 JI. O presente trabalho com a progênie dos isolados de *S. brazilense* e *S. feltiae*, não houve semelhança com o trabalho citado, pois todos os tratamentos de *S. feltiae* foram inferiores, variando de 4,89 a 14,59 JI/dia, e *S. brazilense* nos tratamentos de JI provindos das larvas de *C. capitata* que se desenvolveram na dieta à base de Laranja (38,12 JI/dia) e Manga (23,27 JI/dia), enquanto os tratamentos Maçã (5,43 JI/dia) e Goiaba (7,41 JI/dia) foram inferiores (Tabela 20).

Brida (2015) verificou a mortalidade de *G. mellonella* em diferentes temperaturas, inoculando o isolado de nematoide *H. amazonensis* IBCB 24, obtendo em temperatura de 26°C, 100% dos hospedeiros com sintomas, dado semelhante ao presente trabalho, no qual os tratamentos foram inoculados na temperatura de 25°C, além de que os JI foram provindos de larvas de *C. capitata* que se alimentaram de diferentes dietas à base de frutos, sendo para *S. brazilense*, Maçã (100%) e Manga (98%), além do isolado *S. feltiae*, Laranja (100%), Manga (98%) e Goiaba (98%) (Tabela 21).

Campos-Herrera & Gutiérrez (2009) utilizaram como hospedeiro *S. littoralise* inocularam isolados de *S. feltiae*, com mortalidade de 74-100%, enquanto o presente trabalho, ao utilizar JI de *S. feltiae* provindos de larvas de *C. capitata* que se alimentaram de diferentes dietas à base de frutos promoveu taxa de mortalidade que variou de 90 a 100%, sendo mais virulento a *G. mellonella* (Tabela 21).

Negrisoni Jr. et al., (2008) inocularam dois isolados de NEP, *S. carpocapsae* e *H. bacteriophora* em lagartas de *G. mellonella*, com 78.25 e 94% de mortalidade respectivamente, sendo semelhante ao presente trabalho, no qual a taxa de mortalidade dos JI de *S. feltiae* e *S. brazilense* provindos de larvas de *C. capitata* que se alimentaram de diferentes dietas à base de frutos variou de 90 a 100% e 76 a 100% (Tabela 21).

Yul et al. (2002) observaram que *S. carpocapsae* foi patogênico a lagartas de *G. mellonella* a 13, 18, 24, 30, e 35°C, com a mortalidade mais elevada a 24°C, e, Andaló et al., (2006) acrescentaram que o nematoide *H. amazonensis* é uma espécie que se adapta em temperaturas entre 25 a 27°C, portanto houve a infecção pelo nematoide, mas não o seu

desenvolvimento no cadáver hospedeiro. Tal fenômeno ocorreu no presente trabalho, onde o tratamento que foi aplicado com NEP *S. feltiae* que se desenvolveu em larvas de *C. capitata* alimentadas na dieta artificial não obteve a progênie das respectivas lagartas mortas com sintomas (Tabela 22).

Brida (2015) realizou trabalho onde aplicou isolados de NEP em *G. mellonella*. Houve 100% de mortalidade nas variações de temperatura, porém ao averiguar a emergência de JI, identificou que a 18°C e 26°C houve 40% de lagartas com emergência de JI, a 22°C, 60% e a 30°C, 80%, portanto, pode se levar em consideração que a ausência de progênie no presente trabalho com o tratamento em dieta artificial no isolado *S. feltiae* e a dieta à base de Maçã para *S. brazilense*, podem ter sofrido a interferência dos fatores nutricionais e/ou pela temperatura (Tabela 22).

## 8. CONCLUSÕES

1. Todos os isolados de nematoides entomopatogênicos testados foram patogênicos à fase larval de *C. capitata*.
2. Os isolados *S. carpocapsae*, *S. brazilense* e *S. feltiae* são os mais virulentos para a fase larval de *C. capitata*.
3. A mortalidade das larvas de *C. capitata* é diretamente proporcional ao aumento da concentração de *S. brazilense* e *S. feltiae*.
4. O fator nutricional da dieta larval influencia nos parâmetros biológicos das larvas de *C. capitata*, conseqüentemente afeta a capacidade infectiva dos isolados de NEP.
5. O fator nutricional das larvas influencia diretamente na susceptibilidade aos NEP, infectividade e na progênie dos respectivos isolados de NEP.
6. Os isolados *S. brazilense* e *S. feltiae* que tiveram os JI provindos das larvas alimentadas com a dieta artificial foram afetados na sua virulência.
7. A dieta artificial influencia na mortalidade dos JI.

## REFERÊNCIAS

- ALUJA, M. 1999. A pesquisa com moscas-das-frutas (diptera: tephritidae) na américa latina: Mitos, realidades e perspectivas. *An. Soc. Entomol. BRASIL* 28: 565-594.
- ALUJA, M.; MANGAN, R. L. Fruit fly (Diptera: Tephritidae) host status determination: Critical conceptual, methodological, and regulatory considerations. **Annual Review of Entomology**, v. 53, p. 473–502, 2008.
- Araújo, E.L.; Ribeiro, J.C.; Chagas, M.C.M.; Dutra, V.S.; Silva, J.G. 2013. Moscas-das-frutas (Diptera: Tephritidae) em um pomar de goiabeira, no semiárido brasileiro. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 35(2): 471-476
- ARAÚJO, Natália de Souza. Análise de espécies crípticas do complexo *Anastrephafraterculus* (Diptera: Tephritidae) no Brasil através de sequências do gene mitocondrial Cytochrome Oxidase I. 2012. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo.
- Aguiar, Weber Marcilio Malheiro. "Moscas-das-frutas (Dip.: Tephritidae) de importância econômica no Estado da Bahia–biodiversidade e perfil do consumidor de manga no mercado interno." (2013).
- Andaló, V., Nguyen, K. B., Moino Jr., A. 2006. *Heterorhabditis amazonensis* n. sp. (Rhabditida: Heterorhabditidae) from Amazonas, Brazil. *Nematology* 8:853-867.
- Anuário brasileiro de fruticultura 2017. 2017. Santa Cruz do Sul: Editora Gazeta. 88 p.
- INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICAS (IBGE), 2020. Levantamento Sistemático da Produção Agrícola (LSPA). Disponível em: <https://www.ibge.gov.br/estatisticas/economicas/agricultura-e-pecuaria/9201-levantamento-sistematico-da-producao-agricola.html?=&t=resultados>. Acesso em: 23 set. 2022.
- BANCO REGIONAL DE DESENVOLVIMENTO DO EXTREMO SUL. Cadeia produtiva da maçã no Brasil: limitações e potencialidades. Porto Alegre: BRDE, 2011. 44 p.
- BALAGAWI, S. et al. Influence of fruit traits on oviposition preference and offspring performance of *Bactrocera tryoni* (Froggatt) (Diptera: Tephritidae) on three tomato (*Lycopersicon lycopersicum*) cultivars. **Australian Journal of Entomology**, v. 44, p. 97–103, 2005.
- BALAGAWI, S.; DREW, R. A. I.; CLARKE, A. R. Simultaneous tests of the preferenceperformance and phylogenetic conservatism hypothesis: is either theory useful? **Arthropod-Plant Interactions**, v. 7, p. 299–313, 2013.
- BEKKER, G. F. H. G.; ADDISON, M.; ADDISON, P.; VAN NIEKERK, A. Using machine learning to identify the geographical drivers of *Ceratitidis capitata* trap catch in na agricultural land scape. *Computer sand Electronics in Agriculture*, v. 162, p. 582- 592, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.compag.2019.05.008>
- BLACKSHAW, RP; SENTHAMIZHSELVAN, M. O efeito do tamanho da partícula de areia na atividade de *Steinernema feltiae* sensu Filipjev (1934)(= *N. bibionis* Bovien) contra larvas

de *Galleria mellonella*. **Anais de biologia aplicada**, v. 118, n. 3, pág. 637-643, 1991.

BLEICHER, J. História da macieira. In: EPAGRI (Ed.). **A cultura da macieira**. Florianópolis: GMC/Epagri, 2006. cap. 1, p. 29-36.

BRIDA, Andressa Lima de. Levantamento de nematoides entomopatogênicos em áreas agrícolas e influência da temperatura e do substrato na sobrevivência, multiplicação e armazenamento. 2015.

BROUGHTON, S.; LIMA, P. F. Field evaluation of female attractants for monitoring *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae) under a range of climatic conditions and population levels in Western Australia. **Journal of Economic Entomology**, v. 95, n. 2, p. 507-512, 2002

CARVALHO, C. et al. Anuário Brasileiro da fruticultura 2017. Santa Cruz do Sul: Editora Gazeta Santa Cruz, Santa Cruz do Sul, RS, 2017.

Campos-Herrera, R., & Gutiérrez, C. (2009). Triagem de isolados espanhóis de nematoides steinernematídeos para uso como agentes de controle biológico por meio de estudos de microcosmo em laboratório e estufa. *Journal of Invertebrate Pathology*, 100(2), 100–105. doi:10.1016/j.jip.2008.11.009

Cavalcante, L.F.; Vieira, M.S.; Santos, A.F.; Oliveira, W.M.; Nascimento, J.A.M. 2010. Água salina e esterco bovino líquido na formação de mudas de goiabeira cultivar paluma. **Revista Brasileira de Fruticultura**, 32(1): 251-261.

COSMO, Marcelo; GALERIANI, Vinícius. Manejo Integrado de Pragas. 1ª Edição. Minas Gerais: Universidade Federal de Viçosa, 2020. 144 p.

Chaneiko, S. M., de BRIDA, A. L., Bernardi, D., Leite, L. G., & Garcia, F. R. M. (2021). Biological activity of entomopathogenic nematodes on *Anastrepha fraterculus* (Diptera: Tephritidae). **Bio science Journal**, 37(e37047), 1981-3163.

CHERGUI, S.; BENZEHRA, A.; BOUDJEMAA, K.; BARKOU, H.; KARACA, I. Efficacy of Turkish isolate of *Steinernema feltiae* (Rhabditida: Steinernematidae) in controlling the Mediterranean fruit fly, *Ceratitis capitata* (Wiedemann) (Diptera: Tephritidae), under laboratory conditions. **Egyptian Journal of Biological Pest Control**, v. 29, n. 60, 2019. doi: 10.1186/s41938-019-0162-4.

CHRISTENSON, L. D.; FOOTE, R. H. Biology of fruit flies. **Annual Review of Entomology**, v. 5, p. 171-192, 1960.

COSTA, A. M. et al. Influence of different tropical fruits on biological and behavioral aspects of the Mediterranean fruit fly *Ceratitis capitata* (Wiedemann) (Diptera, Tephritidae). **Revista Brasileira de Entomologia**, Curitiba, v. 55, n. 3, p. 355–360, 2011.

CUNHA, M. M. da; S. FILHO, H. P.; NASCIMENTO, A. S.; Manga: fitossanidade: frutas do Brasil. Brasília: Embrapa – SPI, 2000. 104 p

DA SILVA, Laís Alves Santana; DE OLIVEIRA, Vinicius Cunha; MENDES, Fabrício Bruno. Principais aplicações dos resíduos da laranja e sua importância industrial. *Revista*

Artigos. Com, v. 22, p. e5139-e5139, 2020.

DA SILVA SOBRINHO, Marilângela et al. Modeling the potential distribution of *Mangifera indica* L. Under future climates cenarios in the caatinga biome. **Revista Brasileira de Meteorologia**, v. 34, p. 351-358, 2019.

DAZA, Nelson Augusto Canal. Levantamento, flutuação populacional e análise faunística das espécies de moscas-das-frutas em quatro municípios do norte do estado de Minas Gerais. 1997. Tese (Doutorado) – ESALQ, Piracicaba.

DA SILVA NETO, Alberto M.; DIAS, Vanessa S.; JOACHIM-BRAVO, Iara S. Importância da ingestão de proteína na fase adulta para o sucesso de acasalamento dos machos de *Ceratitiscapitata* Wiedemann (Diptera: Tephritidae). **Neotropical Entomology**, v. 39, p. 235-240, 2010.

DA COSTA ALVES, Emanuel et al. Moscas-das-frutas, Diptera Tephritidae, associadas com mangueiras no Seridó Oriental da Paraíba. *Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável*, v. 15, n. 2, p. 127-132, 2020.

DERAL - Departamento de Economia Rural. Fruticultura: Análise da Conjuntura. 2020. Disponível em: [https://www.agricultura.pr.gov.br/sites/default/arquivos\\_restritos/files/documento/2020-01/fruticultura\\_2020.pdf](https://www.agricultura.pr.gov.br/sites/default/arquivos_restritos/files/documento/2020-01/fruticultura_2020.pdf) Acesso em: 15/01/2023

DÍAZ-FLEISCHER, F.; PINERO, J. C.; SHELLY, T. E. Interactions between tephritid fruitfly physiological state and stimuli from bait sandtraps: looking for the pied piper of Hamelinto lure pestiferous fruitflies. In: *Trapping and the detection, control, and regulation of tephritid fruitflies*. Springer, Dordrecht, p. 145-172, 2014.

DIAS, N. P.; ZOTTI, M. J.; MONTOYA, P.; CARVALHO, I. R.; NAVA, D. E. Fruit fly management research: A systematic review of monitoring and control tactics in the world. **Crop Protection**, v. 112, p. 187–200, 2018. doi: 10.1016/j.cropro.2018.05.019.

DIMARCO, Carlos Eduardo da Silva; BARBOZA, Lucinda Gomes; SANTOS, Wilson Rodrigues dos. Adoção de manejo sustentável no combate às moscas-das-frutas. **Extramuros**, Petrolina-PE, v. 3, n. 2, p. 53-64, edição especial, 2015.

Fachinello, J.C.; Pasa, M.S.; Schmtiz, J.D.; Betemps, D.L. Situação e perspectivas da fruticultura de clima temperado no Brasil. *Revista Brasileira de Fruticultura*, volume especial, p. 109-120, 2011.

FERRAZ, L.C.C.B. Nematóides entomopatogênicos. In: *Controle Microbiano de Insetos*, ALVES, S.B. (ed.). FEALQ, Piracicaba, 1998, p. 541-569.

Hernandes, J.L.; Blain, G.C.; Pedro Junior, M.J. 2013. Controle de moscas-das-frutas (Diptera: Tephritidae) em cultivo orgânico de ameixa pelo ensacamento dos frutos com diferentes materiais. **Revista Brasileira de Fruticultura**, 35(4): 1209-1213.

HERRMANN, G. R., JUNIOR, R. B., FARIA, P., & PIAZENTIM, A. C. Controle

Biológico. *Agro ANALYSIS*, 33(10), 35-40, 2013.

Gazit, Y., Rossler, Y., & Glazer, I. (2000). Avaliação de Nematóides Entomopatogênicos para o Controle da Mosca das Frutas do Mediterrâneo (Diptera: Tephritidae). **Biocontrol Science and Technology**, 10(2), 157–164. doi:10.1080/09583150029297

GIOMETTI, F. H. C.; LEITE, L. G.; TAVARES, F. M.; SCHMIT, F. S.; BATISTA FILHO, A.; DELL'ACQUA, R. Virulência de nematoides entomopatogênicos (Nematoda: Rhabditida) a *Sphenophorus levis* (Coleoptera: Curculionidae). *Bragantia*, v. 70, p. 81- 86, 2011.

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

GREWAL, PS; MATSUURA, M.; CONVERSE, V. Mecanismos de especificidade de associação entre o nematoide *Steinernemas capterisci* e sua bactéria simbiótica. **Parasitologia**, v. 114, n. 5, pág. 483-488, 1997.

Gözel, C. , Genç, H. "Implementando nematóides entomopatogênicos locais para controlar a mosca da fruta do Mediterrâneo *Ceratitis capitata* (Wiedemann, 1824) (Diptera: Tephritidae)" . *Jornal Turco de Entomologia* 45 (2021).

HOMINICK, W. M. Biogeography. In: GAUGLER, R. (Ed). *Entomopathogenic Nematology*. RutgersUniversity: New Jersey, p. 115-143, 2002.

JAMES, M.; MALAN, A. P.; ADDISON, P. Surveying and screening South African entomopathogenic nematodes for the control of the Mediterranean fruit fly, *Ceratitis capitata* (Wiedemann). **Crop Protection**, v. 105, p. 41–48, 2018. doi: 10.1016/J.CROPRO.2017.11.008.

JEAN-BAPTISTE, Maguintontz Cedney et al. Effectiveness of entomopathogenic nematodes against *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae) pupae and nematode compatibility with chemical insecticides. **Journal of Economic Entomology**, v. 114, n. 1, p. 248-256, 2021.

LEITE, S. A.; COSTA, D. R. D.; RIBEIRO, A. E. L.; MOREIRA, A. A.; SÁ NETO, R. J. D.; CASTELLANI, M. A. Oviposition preference and biological performance of *Ceratitis capitata* in Anacardiaceae, Cactaceae and Vitaceae fruit. *Arquivos do Instituto Biológico*, v. 86, 2019. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/1808-1657001282018>

LEWIS, E. E. et al. Behavioral ecology of entomopathogenic nematodes. *Biological Control*, Maryland Heights, v. 38, n.1, p. 66-79, 2006.

LEITE, L. G. Controle de pragas no Brasil com nematoides entomopatogênico. In: APONTE, A. S.; NÚÑES, J. C. L.; LEVA, L. A. G (eds.). *Experiencias com Nematodos Entomopatogênicos. Retos y oportunidades de su uso em latinoamérica*. Bogota, p. 38-55, 2011.

LEFTWICH, P. T.; NASH, W. J.; FRIEND, L. A.; CHAPMAN, T. Adaptation to divergent larval diets in the medfly, *Ceratitis capitata*. **Evolution**, v. 71, n. 2, p. 289- 303, 2017.

LOUZEIRO, Léo Rodrigo Ferreira. “**Estudo da relação entre insetos e frutas hospedeiras:**

**o caso das moscas polípagas *Anastrepha fraterculus* (Wiedemann) e *Ceratitis capitata* (Wiedemann)(Diptera: Tephritidae) em citros” .2022.**

LINDEGREN, J. E. Field suppression of three fruitfly 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 fruitfly, melonfly, and oriental fruitfly (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 fruitfly (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.

LIMA FILHO, J.M.P.; ASSIS, J.S.; TEIXEIRA, A.H.C.; CUNHA, G.A.P.; CASTRO NETO, M.T. Ecofisiologia. In: GENÚ, P.J.C.; PINTO, A.C.Q. (Org.). A Cultura da Mangueira. Brasília: **Embrapa Informações Tecnológica**, 2002. p. 38-4.

LIQUIDO, N. J.; SHINODA, L. A.; CUNNINGHAM. Host plants of the Mediterranean fruitfly (Diptera: Tephritidae): an annotated world review. Miscellaneous Publication 77. Entomological Society of America, Lanham, MD, 1991. IHERING, H. V. Laranjas bichadas. Revista Agrícola, v.70, p.179-181, 1901.

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, 2017. Levantamento Sistemático da Produção Agrícola 2017. Rio de Janeiro: IBGE. IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, 2017.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. Produção agrícola municipal: banco de dados agregados do IBGE, sistema IBGE de recuperação automática - SIDRA. Disponível em: <<http://www.sidra.ibge.gov.br/bda/acervo/acervo2.asp?>> . Acesso em: 15 set. 2022.

IGLESIAS, I. et al. Innovación varietal em manzano. Revista de Fruticultura, Barcelona, n. 1, p. 13-25, 2009.

James, Monique, Antoinette Paula Malan, and Pia Addison. "Surveying and Screening South African Entomopathogenic Nematodes for the Control of the Mediterranean Fruit Fly, *Ceratitis capitata* (Wiedemann)." **Crop Protection**. 105 (2018): 41-48. Web.

MALAVASI, A. Programas de Controle de Moscas-das-Frutas no Continente Americano. In: Biologia, monitoramento e controle. Curso internacional de capacitação em moscas-das-frutas, 5., 2009. Juazeiro, Bahia, Brasil: (Ed.) Aldo Malavasi, Jair Virginio, 2009, p. 57 – 61.

MALAVASI, A.; ZUCCHI, R. A.; SUGAYAMA, R. L. Biogeografia. In: MALAVASI, A.; ZUCCHI, R. A. (eds.). **Moscas-das-frutas de importância econômica no Brasil: conhecimento básico e aplicado**. Ribeirão Preto: Holos. p. 41-48. v. 1 (2000).

MALAN, Antoinette P.; MANRAKHAN, Aruna. Susceptibilidade da mosca-das-frutas do



Mediterrâneo (*Ceratitis capitata*) e da mosca-das-frutas do Natal (*Ceratitis rosa*) a nematoides entomopatogênicos. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 100, n. 1, pág. 47-49, 2009.

MARTINS, D. S. Manejo integrado de moscas-dasfrutas. In: ZAMBOLIM, L.(Ed). Manejo integrado de fruteiras tropicais: doenças e pragas. Viçosa: UFV, 2002. p.615-647.

Minas, RDS, Souza, RM, Dolinski, C., Carvalho, RDS, & Burla, RDS. Potencial de nematóides entomopatogênicos (Rhabditida: Heterorhabditidae) para controlar as fases do solo da mosca-das-frutas do Mediterrâneo (Diptera: Tephritidae). **Nematoda**, v. 3, 2016.

MONTEIRO, Laura. Controle biológico de pragas da agricultura. 1ª Edição. Brasília: Embrapa, 2020. 514 p.

MORGANTE, S. Boletim Técnico de Recomendações para os Perímetros Irrigados do Vale do S. Francisco, Brasília, n. 2, 19 p, 1991.

Morton, A., Garcia-Del-Pino, F. 2009. Ecological characterization of entomopathogenic nematodos isolated in stone fruit or chard soils of Mediterranean áreas.J. Invert. Pathol. 102, 203-213.

MOUCO, M. A. do C. (Ed.). Cultivo da mangueira. 3. ed. Petrolina: Embrapa Semiárido, 2015. (Embrapa Semiárido. Sistema de Produção, 2). Disponível em: <[https://www.spo.cnptia.embrapa.br/conteudo?p\\_p\\_id=conteudoportlet\\_WAR\\_sistemasdeproducaolf6\\_1galceportlet&p\\_p\\_lifecycle=0&p\\_p\\_state=normal&p\\_p\\_mode=view&p\\_p\\_col\\_id=column-1&p\\_p\\_col\\_count=1&p\\_r\\_p\\_-76293187\\_sistemaProducaoId=7743&p\\_r\\_p\\_-996514994\\_topicoId=8289](https://www.spo.cnptia.embrapa.br/conteudo?p_p_id=conteudoportlet_WAR_sistemasdeproducaolf6_1galceportlet&p_p_lifecycle=0&p_p_state=normal&p_p_mode=view&p_p_col_id=column-1&p_p_col_count=1&p_r_p_-76293187_sistemaProducaoId=7743&p_r_p_-996514994_topicoId=8289)> Acesso em: 07 out. 2022.

MUKHERJEE, S.K; LITZ, R.E. Introduction: Botany and Importance. In: LITZ, R.E. (Org.). The Mango: Botany, Production and Uses. Florida: Tropical Research and Education Center, 2009. p. 1-1.

Mokrini, F., Laasli, S. E., Benseddik, Y., Joutei, A. B., Blenzar, A., Lakhal, H., ... & Dababat, A. A. (2020). Potential of Moroccan entomopathogenic nematodes for the control of the Mediterranean fruitfly *Ceratitis capitata* Wiedemann (Diptera: Tephritidae). **Scientificreports**, 10(1), 1-11.

Nash, WJ e Chapman, T. (2014). Efeito dos componentes da dieta nas características da história de vida larval da mosca do mediterrâneo (*Ceratitis capitata*: Diptera, Tephritidae). *PLoS One*, 9 (1), e86029. <https://doi-org.ez26.periodicos.capes.gov.br/10.1371/journal.pone.0086029>

NEVES, Eduardo. Laranjas. 1ª Edição. Paraná: All Print, 2011. 104 p.

NEGRISOLI JR, Aldomario S.; BARBOSA, Carla RC; MOINO JR, Alcides. Comparação entre metodologias de avaliação da compatibilidade de produtos fitossanitários com nematoides entomopatogênicos (Nematoda: Rhabditida). **Nematologia Brasileira**, v. 32, n. 1, p. 65-75, 2008.

NORA, I.; HICKEL, E. Pragas da macieira: dípteros e lepidópteros. In: EPAGRI. (Ed.). A

cultura da macieira. Florianópolis: GMC/Epagri, 2006. cap. 15, p. 463- 486.

NORRBOM, A. L. Tephritidae (fruit flies, moscas de frutas). **Manual of Central American Diptera**, v. 2, p. 909-954, 2010.

Noujeim, E., Rehayem, M., & Nemer, N. (2015). Comparison of indigenous and exotic entomopathogenic nematode strains for control of the cedar web-spinning saw fly, *Cephalcia tannourinensis* in vitro. *Biocontrol Science and Technology*, 25(7), 843–851. doi:10.1080/09583157.2015.1019832

SANTOS, Janaína Pereira dos. Flutuação populacional e danos de *Anastrepha fraterculus* (Wied.)(Diptera: Tephritidae) relacionada à fenologia de quatro genótipos de macieira (*Malus domestica* Borkh.)(Rosaceae). 2013.

SANTOS, J. P. et al. Incidência de podridão-branca em frutos de macieira com e sem fermentos. *Revista Brasileira de Fruticultura*, Jaboticabal, v. 30, n. 1, p. 118-121, 2008.

SANTOS, Jeanny Christine Gomes dos et al. **Desenvolvimento de sistema liberador para semioquímicos das moscas-das-frutas *Ceratitis capitata* e *Anastrepha fraterculus* (Diptera: Tephritidae)**. 2022

SHAURUB, E. H.; SOLIMAN, N. A.; HASHEM, A. G.; ABDEL-RAHMAN, A. M. Infectivity of four entomopathogenic nematodes in relation to environmental factors and their effects on the biochemistry of the Medfly *Ceratitis capitata* (Wied.) (Diptera: Tephritidae). *Neotropical Entomology*, v. 44, n. 6, p. 610–618, 2015. doi: 10.1007/s13744-015-0332-3

SOARES, André. Controle biológico. 1ª Edição. São Paulo: Editora do Brasil, 2019. 13 p.

SOUZA, Alexandra Soares de. Análise faunística e flutuação populacional de moscas-das-frutas (Diptera: Tephritidae) em cultivos de aceroleira, mangueira e goiabeira em três propriedades no município de Brasil Novo, Pará. 2019.

SOUZA, M. M. de. Interação de nematoides entomopatogênicos com o parasitoide *Diachasmimorpha longicaudata* (Hymenoptera: Braconidae) para o controle de *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae). 2020. 61 p. Dissertação (Mestrado em Entomologia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2020.

SOARES, Gabriel Henrique Bueno. Bagaço de laranja na alimentação de vacas leiteiras: Revisão Bibliográfica. 2022.

Sikorowski, P. P.; Lawrence, A. M. Major diseases of *Heliothis virescens* and *Helicoverpa zea* in Mississippi fields and insectaries. Mississippi: MAFES, 1997. 58 p. (MAFES. Technical Bulletin, 218).

SILVA, Alexandre Cândido da. Potencial de nematóides entomopatogênicos para o controle da mosca-do-mediterrâneo *Ceratitis capitata* (Wiedemann)(Diptera: Tephritidae) e do gorgulho-da-goiaba *Conotrachelus psidii* (Marshal)(Coleoptera: Curculionidae).2009.

SILVA, Michele Emily Souza da. "Prospecção de Mosca-das-frutas na Região Norte de Mato Grosso." (2018).

SILVA, Tauany et al. O potencial da comercialização de frutas brasileiras no mercado externo: uma revisão. 2022.

SZYNISZEWSKA, Anna M.; TATEM, Andrew J. Global assessment of seasonal potential distribution of Mediterranean fruit fly, *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae). **PLOS one**, v. 9, n. 11, p. e111582, 2014.

TAVARES, F. M.; BATISTA FILHO, A.; LEITE, L. G.; ALMEIDA, L. C.; SILVA, A. C.; AMBRÓS, C. M. G. Efeito de *Heterorhabditis indica* e *Steinernema* sp. (Nemata: Rhabditida) sobre larvas do bricudo da cana-de-açúcar, *Sphenophorus levis* (Coleoptera: Curculionidae), em laboratório e casa de vegetação. **Nematologia Brasileira**, v. 31, p. 12-19, 2007.

Teixeira, R.; Boff, M.I.C.; Ribeiro, L.G.; Pedro, B.O.F.F. 2015. Bordadura de pomar e flutuação populacional de *Anastrepha fraterculus* (Diptera: Tephritidae) em sistema orgânico de produção de maçã. **Scientia agraria**, 16(1): 33-39.

THOMAS, M.C. et al. **Mediterranean fruit fly, *Ceratitis capitata* (Wiedemann) (Insecta: Diptera, Tephritidae)**. University of Florida. IFAS Ext. EENY, (DPI Entomology Circulars 273) 2019

FREITAS, Leticia. Controle biológico e manejo de pragas na agricultura sustentável. 1ª Edição. São Paulo: Departamento de Entomologia/UFLA, 2018. 34 p.

OLIVEIRA, M. R. V. de; MORAES, S. V. P. de; Moscas-das-Frutas Quarentenárias Potenciais para o Brasil. Brasília: Embrapa Cerrados, 2006.

PARANHOS, B. J.; NAVA, D. E.; MALAVASI, A. Biological control of fruit flies in Brazil. **Pesquisa Agropecuaria Brasileira**. Embrapa, 2019. doi: 10.1590/S1678-3921.pab2019.v54.26037.

PARRA, José Roberto P. et al. Controle biológico: terminologia. Controle biológico no Brasil: parasitoides e predadores. São Paulo: Manole, p. 1-16, 2002.

PEREIRA, F.M., MARTINEZ JR., M. Goiabas para a industrialização. Jaboticabal: UNESP, p.13-22. 1986.

POINAR, JR., G. O. Biology and taxonomy of Steinernematidae and Heterorhabditidae. In: GAUGLER, R.; KAYA, H. K. Entomopathogenic nematodes in biological control. Boston: CRC Press, p. 23-62, 1990.

Portillo-Aguilar, C., Villani, MG, Tauber, MJ, Tauber, CA e Nyrop, JP (1999). Resposta de nematoides entomopatogênicos (Rhabditida: Heterorhabditidae e Steinernematidae) à textura e densidade do solo. **Entomologia Ambiental**, 28 (6), 1021-1035.

RAMOS-RODRIGUEZ, O.; CAMPBELL, J. F.; RAMASWAMY, S. B. Efficacy of the entomopathogenic nematode *Steinernema riobrave* against the stored-product insect pests *Tribolium Castaneum* and *Plodia Interpunctella*. **Biological Control**, Maryland Heights, v. 40, n.1, p. 15–21, 2007.

Risterucci, A.M.; Duval, M.F.; Rohde, W.; Billote, N. 2005. Isolation and characterization of micro satellite loci from *Psidium guajava* L. **Molecular Ecology Notes**, 5: 745- 748.

RODRIGUES, Regina Celia Devitte et al. Influência de diferentes doses de torta de filtro no solo sobre a migração e persistência de *Steinernema glaseri* (STEINER, 1929)(Nematoda: Rhabditida). **Holos Environment**, v. 5, n. 1, p. 52-64, 2005.

RONCHI-TELES, Beatriz. Ocorrência e Flutuação populacional de espécies de moscas-das-frutas e parasitóides, com ênfase para o gênero *Anastrepha* (Diptera: Tephritidae), na Amazônia brasileira, Manaus. 2000. Tese (Doutorado) - INPA/UA.

Rodríguez, N.N.; Valdés, J.J.; Rodríguez, J.A.; Velásquez, J.B.; Rivero, D.; Martinez, F.; Gonzalez, G.; Sourd, D.G.; González, L.; Cañizares, J. 2010. Recursos genéticos e reprodução de goiaba (*Psidium guajava* L.) em Cuba. **Biociencia Aplicada**, 27: 238 – 241

ROHDE, C.; MOINO JUNIOR, A.; CARVALHO, F. D.; SILVA, M. A. T. Selection of entomopathogenic nematodes for the control of the fruitfly *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae). **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v. 7, n. suppl. p. 797–802, 2012. doi: 10.5039/agraria.v7isa2217.

ROHDE, Cristhiane et al. Compatibilidade de nematoides entomopatogênicos e extratos vegetais aquosos visando o controle da mosca-das-frutas *Ceratitis capitata* (Wiedemann)(Diptera: Tephritidae). *Semina: Ciências Agrárias*, v. 34, n. 3, p. 1033-1042, 2013.

Tobias, N. J.; Shi, Y.-M.; Bode, H. B. Refining the Natural Product Repertoire in Entomopathogenic Bacteria. *Trends in Microbiology*, v. 26, n. 10, p. 833–840, out. 2018. van den Bosch, R., P.S. Messenger & A.P. Gutierrez. 1982. An introduction to biological control. New York, Plenum Press, 247p.

VALADARES, Gabriele Moreira; LANDAU, Elena Charlotte. Evolução da produção de manga (*Mangifera indica*, Anacardiaceae). Embrapa Milho e Sorgo-Capítulo em livro científico (ALICE), 2020.

VIDAL<sup>1</sup>, Maria Larissa Bitencourt et al. Nematoides entomopatogênicos: agentes promissores no controle biológico de parasitos. **TÓPICOS ESPECIAIS EM CIÊNCIA ANIMAL VII**, p. 188, 2018.

VIJENDRAVARMA, R. K.; NARASIMHA, S.; KAWECKI, T. J. Chronic malnutrition favours smaller critical size for metamorphosis initiation in *Drosophila melanogaster*. **Journal of Evolutionary Biology**, v. 25, n. 2, p. 288-292, 2012.

Yağcı, M., AkdenizFirat, T., Erdoğan, FD e Şahin, M. (2021). Virulência de quatro nematoides entomopatogênicos contra diferentes estágios da mosca-das-frutas do Mediterrâneo, *Ceratitis capitata* Wiedemann (Diptera: Tephritidae). *Jornal Egípcio de Controle Biológico de Pragas*, 31 (1), 1-5.

Yul, C., Wonn, L., Sook, Y., Myeong, L., Thi, H. 2002. Effects of temperature and nematode concentration on pathogenicity and reproduction of entomopathogenic nematode, *Steinernema carpocapsae* Pocheon strain (Nematode: Steinernematidae). *Korean J Appl Entomol* 41: 269-

277.

ZAMBÃO, J.C., BELLINTANI NETO, A.M. A Cultura da Goiaba. Campinas: CATI, 23p. 1998. (Bol. Téc.,nº 236).