

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”

FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRONÔMICAS

CÂMPUS DE BOTUCATU

**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)**

ALEXANDRE CÂNDIDO DA SILVA

Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências Agronômicas da UNESP -Câmpus de Botucatu, para a obtenção do título de Mestre em Agronomia (Proteção de Plantas).

BOTUCATU-SP

Fevereiro-2009

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”

FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRONÔMICAS

CÂMPUS DE BOTUCATU

**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)**

ALEXANDRE CÂNDIDO DA SILVA

BIÓLOGO

Orientador: Prof. Dr. Antonio Batista Filho

Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências Agronômicas da UNESP -Câmpus de Botucatu, para a obtenção do título de Mestre em Agronomia (Proteção de Plantas).

BOTUCATU-SP

Fevereiro-2009

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉCNICA DE AQUISIÇÃO E TRATAMENTO DA INFORMAÇÃO - SERVIÇO TÉCNICO DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - UNESP - FCA - LAGEADO - BOTUCATU (SP)

S586p Silva, Alexandre Cândido, 1976-
Potencial de nematóides entomopatogênicos para o controle da mosca-do-mediterrâneo *Ceratitis capitata* (Wiedemann) (Diptera: Tephritidae) e do gorgulho-da-goiaba *Conotrachelus psidii* (Marshall) (Coleoptera: Curculionidae) / Alexandre Cândido da Silva. - Botucatu : [s.n.], 2009. ii, 58 f. : gráf., tabs., fots. color.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrônomicas, Botucatu, 2009
Orientador: Antonio Batista Filho
Inclui bibliografia.

1. Agentes no controle biológico de pragas. 2. Goiaba - Doenças e pragas. 3. Nematóides entomopatogênicos. I. Batista Filho, Antonio. II. Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" (Campus de Botucatu). Faculdade de Ciências Agrônomicas. III. Título.

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA "JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRONÔMICAS
CAMPUS DE BOTUCATU

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO: "POTENCIAL DE NEMATÓIDES ENTOMOPATOGENICOS PARA O
CONTROLE DA MOSCA-DO-MEDITERRÂNEO, Ceratitis capitata,
E DO GORGULHO-DA-GOIABA, Conotrachelus psidii"

ALUNO: ALEXANDRE CANDIDO DA SILVA

ORIENTADOR: PROF. DR. ANTONIO BATISTA FILHO

Aprovado pela Comissão Examinadora



PROF. DR. ANTONIO BATISTA FILHO



PROF.ª DR.ª SILVIA RENATA SICILIANO WILCKEN



PROF. DR. LUIS GARRIGÓS LEITE

Data da Realização: 26 de janeiro de 2009.

A minha mãe Janete da Silva (*in memoriam*) pelo exemplo de mulher e de garra que contagiou e inspirou seus filhos a buscar sempre a verdade, a sabedoria, o amor e a honestidade para crescer sempre com o trabalho.

Ofereço

Ao meu pai Valter, Rosinha e minhas irmãs Patrícia, Karem e Hidyanara pelo amor e apoio incondicional que têm por mim. E a minha namorada Mariana Ávila que me fez retomar todo o trabalho e por fazer rebrotar dentro de mim a capacidade de amar.

Dedico

AGRADECIMENTOS

À Deus por ter me feito nascer no meio de uma família como a minha e por colocar em meu caminho pessoas maravilhosas que me deram amor e me ensinaram a ser homem e também por ter colocado pessoas não tão boas assim que me fizeram ser menos inocente.

À Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", em especial ao Programa de Pós Graduação em Proteção de Plantas, pela oportunidade concedida para a realização desse curso.

À CAPES pela concessão da bolsa.

Ao Dr. Antonio Batista Filho por abrir as portas do mestrado.

Ao Dr. Luis Garrigós Leite Pesquisador Científico do Instituto Biológico, pela coorientação e aprendizado.

Ao Dr. Adalton Raga por disponibilizar os insetos e adicionar informações importantes a este trabalho.

Ao Senhor Lourival Roncáglio, proprietário do Sítio Roncáglio, por todo e valioso apoio necessário para a realização do experimento de campo.

Aos meus pais Valter e Janete (*in memoriam*) pela paciência e por simplesmente terem acreditado em mim.

As minhas irmãs por terem me dado apoio e coragem para finalizar este trabalho.

A Rosinha por ter me dado colo nos momentos de angústia.

Ao amigo e companheiro Fernando Martins Tavares pelas orientações, ajuda, e pelas mãos estendidas nos momentos de maiores dificuldades.

Ao amigo Luciano Zappellini pela ajuda com as fotos e por ceder seu ombro nos momentos de crise.

Ao amigo irmão Xexéu que em todos os momentos me deu força e apoio para passar por todas as dificuldades que tive em paralelo ao mestrado.

A amiga Bete por me dar muita força em todos os momentos.

A amiga Dani por me ajudar e me encorajar em todos os momentos.

Ao meu primo e amigo Juninho por ter ajudado muito nos momentos de dificuldades financeiras e por sempre ter apostado em mim.

Ao amigo Ivair pelas conversas e conselhos de vida.

A amiga Aline Sampaio Pinto por ter cuidado com todo carinho da criação de

Ceratitidis capitata.

Aos amigos do laboratório de controle biológico do Instituto Biológico, Thaís, Veridiana, Márcio, Ferdigoto pelos momentos de ajuda, descontração e alegria durante o tempo de trabalho.

E à minha amada Mariana por ter reaparecido na minha vida para me dar força, paz, carinho, muito amor e também por resgatar o homem adormecido dentro de mim.

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

SUMÁRIO

1. RESUMO.....	1
2. SUMMARY.....	3
3. INTRODUÇÃO.....	4
4. OBJETIVOS.....	6
5. REVISÃO DE LITERATURA.....	7
5.1. Cultura da goiaba.....	7
5.1.1. Goiabeira.....	7
5.2. Mosca-das-frutas e Gorgulho da goiaba.....	9
5.2.1. Moscas-das-frutas <i>Ceratitis capitata</i>.....	9
5.2.1.1. Características gerais.....	9
5.2.1.2. Aspectos taxonômicos.....	10
5.2.1.3. Ciclo de vida.....	11
5.2.1.4. Prejuízos.....	14
5.2.1.5. Controle.....	15
5.2.2. Gorgulho da goiaba <i>Conotrachelus</i>	19
5.2.2.1. Considerações gerais.....	19
5.2.2.2. Ciclo de vida.....	20
5.2.2.3. Prejuízos.....	20
5.2.2.4. Controle.....	21
5.3. Nematóides Entomopatogênicos.....	22
5.3.1. Considerações gerais.....	22
5.3.1.1. Ciclo de vida.....	23
5.3.1.2. Pesquisas usando nematóides entomopatogênicos contra as	
moscas-das-frutas.....	24
6. MATERIAIS E MÉTODOS.....	27
6.1. Multiplicação dos nematóides.....	28
6.2. Obtenção dos insetos.....	31
6.3. Experimento em laboratório.....	31
6.4. Testes em Casa de Vegetação.....	32

6.4.1. Teste 1.....	32
6.4.2. Teste 2.....	34
6.4.3. Teste 3.....	35
6.5. Teste de Campo.....	35
7. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	38
7.1. Teste de laboratório.....	38
7.2. Seleção de isolados -Teste 1 Casa de Vegetação.....	40
7.3. Seleção de isolados -Teste 2 Casa de Vegetação.....	42
7.4. Seleção de isolados -Teste 3 em Casa de Vegetação.....	43
7.5. Teste de Campo.....	45
8. CONCLUSÕES.....	50
9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	51

1. RESUMO

Dentre os insetos pragas mais frequentes e limitantes à produção de frutas, incluem-se a mosca-do-mediterrâneo, *Ceratitis capitata* (Wiedemann) (Diptera: Tephritidae), e o gorgulho-da-goiaba, *Conotrachelus psidii* (Marshall) (Coleoptera: Curculionidae). As larvas desses insetos se alimentam da polpa das frutas, sendo que no final dessa fase, os insetos descem para o solo onde se enterram e atravessam a fase de pupa. O objetivo do trabalho foi avaliar a virulência de 7 nematóides dos gêneros *Steinernema* e *Heterorhabditis* contra a mosca-do-mediterrâneo, e o potencial de *Heterorhabditis indica* Poinar, Karunakar & David 1992 no controle desse inseto e do gorgulho-da-goiaba. Foram realizados cinco experimentos, sendo um experimento em laboratório, três em casa de vegetação e um em campo. De acordo com os resultados, a mosca-do-mediterrâneo é suscetível aos nematóides quando exposta no estágio de pré-pupa e fase de pupa com 1 dia de desenvolvimento; O nematóide *H. indica* IBCB n5 mostrou-se como o mais virulento contra *C. capitata*. No teste de campo procurando avaliar *H. indica* IBCB n5 contra *C. capitata* e contra *C. psidii*, todos os tratamentos diferenciaram significativamente da testemunha. O nematóide apresentou-se bem mais eficiente contra a mosca-do-mediterrâneo, com mortalidade do inseto de 66% e 93% para as dosagens de 1 e 10 JI/cm², respectivamente, do que contra o gorgulho-da-goiaba, com mortalidade de 33% e 50%,

respectivamente, tendo todos esses tratamentos diferidos significativamente da testemunha.

Palavras-chaves: controle biológico, *Heterorhabditis indica*, pragas de frutíferas.

Potential of entomopathogenic nematodes for the control of mediterranean fly *Ceratitis capitata* (Wiedemann) (Diptera: Tephritidae) and the guava weevil *Conotrachelus psidii* (Marshall) (Coleoptera: Curculionidae). Botucatu, 2009. 58p. Dissertação (Mestrado em Agronomia/Proteção de Plantas) -Faculdade de Ciências Agronômicas, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”.

Author: Alexandre Cândido da Silva

Adviser: Antonio Batista Filho

2. Summary

The fruit fly, *Ceratitis capitata*, and the guava weevil, *Conotrachelus psidii*, are among the most frequent and injurious pest of fruit crops. The insects larva feed on the fruit pulp and, at the end of this phase, the insects reach the soil where they spent their pupa phase. This research aimed to evaluate the virulence of 7 strains of entomopathogenic nematodes against the fruit fly in laboratory and green house conditions, and the efficiency of *Heterorhabditis indica* IBCB n5 against this insect and the guava weevil on field conditions. Five trials were done, being one trial done in laboratory, 3 in green house, and one at field condition. According to the results, the fruit fly is susceptible to the nematodes when exposed at the phases of pre-pupa and one day aged pupa. *H. indica* IBCB n5 was the most virulent nematode against *C. capitata*. At the field trial aiming to evaluate the efficiency of *H. indica* IBCB n5 against *C. capitata* and *C. psidii*, all the treatments with the nematode differed significantly from the control. *H. indica* IBCB n5 showed being much more virulent to the fruit fly, with insect mortality ranging from 66% to 93% at the dosages from 1 to 10 IJ/cm², respective than to the guava weevil, with mortality ranging from 33 to 50%, respectively.

Key words: biological control, *Heterorhabditis indica*, insect pests of fruit plantations.

3. INTRODUÇÃO

A fruticultura mundial enfrenta atualmente uma grande quantidade de insetos praga, que por sua vez, ocasionam prejuízos severos nas lavouras. Dentre as pragas que causam prejuízos na fruticultura mundial podemos destacar duas de grande importância econômica, a *Ceratitidis capitata* (Wied) conhecida como mosca das frutas e o *Conotrachelus psidi* (Marshall), popularmente conhecido como gorgulho da goiaba. A importância destas duas pragas se deve à capacidade de destruição da polpa, manchas e perfurações em diferentes espécies de frutos, gerando prejuízos consideráveis, bem como elevados custos de produção e restringindo a comercialização dos frutos pelos países produtores no mercado internacional por se tratarem de pragas quarentenárias.

As moscas-das-frutas pertencem à família Tephritidae, uma das maiores e economicamente mais importantes da ordem Diptera, com 4.000 espécies classificadas em 500 gêneros (White e Elson-Harris 1992). Dentre estas, aproximadamente 861 espécies se encontram no continente americano (Hernandez-Ortiz e Aluja 1993). Mais de 350 espécies de plantas foram catalogadas como hospedeiras de *C. capitata* (Liquido et al., 1991), tendo 58 espécies botânicas referidas no Brasil, das quais 20 são espécies nativas (Zucchi, 2001). No Estado de São Paulo, estão referidas 34 espécies de frutos hospedeiros de *C. capitata*, relativos a 12 famílias botânicas, com destaque para a família Rutaceae: laranjas doces (*Citrus sinensis* L. Osbeck), 'Laranja Azeda' (*Citrus aurantium*),

‘Limão Cravo’ (*Citrus limonia*), ‘Mexerica do Rio’ (*Citrus deliciosa*), tangerinas ‘Cravo’ e ‘Ponkan’ (*Citrus reticulata*), ‘Tangor Murcott’ (*C. reticulata* x *C. sinensis*), kunquat (*Fortunella* sp.) e cidra (*Citrus medica*) (Souza Filho et al., 2003; Raga et al., 2004). A *Ceratitis capitata* (*C. capitata*) sempre ocupou lugar de destaque entre as pragas em fruticultura, porém o seu potencial de destruição sempre fora negligenciado. Porém recentemente, a relevância da *C. capitata* aumentou com a comprovação da sua capacidade de transmitir a bactéria *Escherichia coli* para frutos comerciais (Sela et al., 2005).

O gorgulho-da-goiaba, *C. psidii* também pode ser considerado uma das principais pragas da goiabeira no Brasil por sua capacidade de causar danos tanto na fase larval quanto na fase adulta. A fase larva pode ocasionar danos no fruto como podridão, queda precoce do fruto, bem como proporcionar aberturas que podem servir de porta de entrada para outras pragas. Já os adultos danificam órgãos da planta como pecíolos, botões florais e pedúnculos. A eficiência do controle químico para o gorgulho é deficiente devido às características bióticas deste inseto praga (Orlando *et al.* 1974, Sampaio 1977, Medina 1991).

Nos estudos de controle biológico das moscas-das-frutas e do gorgulho-da-goiaba, dois inimigos naturais que vem ganhando cada vez mais importância são os nematóides entomopatogênicos dos gêneros *Steinernema* e *Heterorhabditis*, tendo em vista o uso desses agentes para combater as fases dos insetos que passam no solo: pré-pupa e pupa. A importância, cada vez maior desses nematóides, deve-se principalmente à comprovada virulência dos mesmos à esses insetos nessas fases, e também ao grande avanço nos estudos com nematóides entomopatogênicos nos últimos anos, especialmente no tocante aos métodos de produção e descoberta de novas espécies/isolados. Atualmente, estão disponíveis no mercado mundial pelo menos 9 espécies de nematóides para o controle biológico de pragas, quais sejam: *Heterorhabditis bacteriophora*, *H. megidis*, *H. marelatus*, *H. indica*, *Steinernema carpocapsae*, *S. feltiae*, *S. scapterisci*, *S. riobrave* e *S. glaseri* (Leite e Ferraz, No prelo).

Conhecendo as limitações da ação dos químicos para o controle destas duas pragas e sabendo-se que ambas permanecem sob o solo da cultura desde a última fase larval até a fase adulta acredita-se que a utilização de nematóides entomopatogênicos (NEPs) para o controle destes insetos seja uma alternativa mais racional, com melhor custo benefício e muito promissora para a fruticultura brasileira.

4. OBJETIVOS

Este trabalho teve os seguintes objetivos:

1. Avaliar a virulência de isolados de nematóides entomopatogênicos em pupas de *C. capitata* em condições de laboratório;
2. Avaliar diferentes dosagens desses agentes em larvas e pupas de *C. capitata* em condições de casa de vegetação;
3. Avaliar a eficiência de *H. indica* contra a mosca-das-frutas *C. capitata* e o gorgulho-da-goiaba *C. psidi* em condições de campo.

5. REVISÃO DE LITERATURA

5.1 Cultura da goiaba

5.1.1. Goiabeira

A goiabeira (*Psidium guajava* L.) é uma planta originária da América Tropical, pertencente à família das Mirtáceas, que foi difundida por todas as regiões tropicais e subtropicais do mundo (Pereira e Martinez Jr., 1986). No Brasil, a goiaba é uma das frutas tropicais mais conhecidos, principalmente, pelo seu ótimo paladar, elevado teor nutritivo e qualidade como matéria prima para indústria.

Para o consumo *in natura* ou para a industrialização a preferência do mercado interno é para frutos grandes e sem defeitos e por de variedades de polpa vermelha (Pereira e Martinez Jr., 1986; Zambão e Bellintani Neto, 1998).

A produção de goiaba no Brasil em escala industrial iniciou-se na década de 70 (Amaro, 1979). Esta produção foi direcionada para o mercado interno e externo na forma de fruta *in natura*, industrializada e desidratada (Choudhury, 2001). Na década de 90, o Brasil alcançou o terceiro lugar como produtor mundial de goiabas (Carraro e Cunha, 1997). No ano de 2000 com 14.000 ha plantados, liderava a produção

mundial com 260.000 toneladas (Agrinual 2000). Em 2002 a produção brasileira teve um aumento considerável na área cultivada de 2000 ha, o que permitiu produzir cerca de 322.000 toneladas (IBGE, 2007).

Os principais Estados responsáveis pela produção brasileira de goiabas são: São Paulo e Pernambuco, que juntos representam 70% do total produzido no Brasil, seguidos da Bahia, Goiás, Rio de Janeiro e Espírito Santo (IBGE, 2007). A região Norte Fluminense no Estado do Rio de Janeiro, considerada historicamente como canavieira, apresentou nos últimos anos importantes projetos para aumentar a área cultivada da cultura da goiaba (SEBRAE RJ, 2003). São Paulo também se destaca na produção de goiaba, com uma área de 4.888ha plantada e 4.887ha colhidos em 2003 (IBGE 2007).

As principais limitações na produção de goiabas são os danos ocasionados por pragas e doenças. As pragas, além de ocasionar danos diretos à planta, podem atuar como um veículo para entrada de patógenos. Dentre as principais pragas destaca-se o gorgulho-da-goiaba, *Conotrachelus psidii* Marshall e a Mosca do Mediterrâneo, *Ceratitis capitata*. Sendo a última descrita no início do século XX, quando raras eram as goiabas que não apresentavam sinais de ataque deste inseto (Bondar, 1924). Desde então, vêm sendo constatados as conseqüências desta praga nos Estados de São Paulo, Pernambuco, Bahia e Rio de Janeiro (Sampaio, 1977; Medina, 1991).

Atualmente, o controle de *C. psidii* é realizado com aplicações frequentes de inseticidas. Porém, essa forma de controle apresenta baixa eficiência e, além disso, pode promover biótipos resistentes, morte de possíveis inimigos naturais, aumento da poluição ambiental e riscos de contaminação alimentar (Innocenzi et al., 2001; Hoffmann et al., 2004). Uma das formas de reduzir esses riscos seria a utilização do manejo integrado de pragas (MIP). O MIP é uma estratégia utilizada no controle de pragas, mediante a integração de técnicas selecionadas com base em parâmetros ecológicos e econômicos, interferindo o mínimo possível no agroecossistema (Kogan, 1998 *apud* Gallo et al., 2002).

5.2 Mosca-das-frutas e Gorgulho da goiaba

A mosca das frutas *C. capitata*, juntamente com *Anastrepha fraterculus*, constitui-se em uma das principais pragas da cultura dos citros e da goiaba. O gorgulho da goiaba, *C. psidii*, é uma importante praga restrita a cultura da goiabeira.

5.2.1 Mosca-das-frutas *C. capitata*

5.2.1.1 Considerações gerais

A importância das moscas-das-frutas da família Tephritidae, particularmente *Ceratitis capitata* Wiedemann e *Anastrepha* spp., como pragas em pomares cítricos são mundialmente reconhecida (White e Elson-Harris, 1992).

No Brasil, a importância das moscas-das-frutas em citros varia entre problema de primeira ordem até praga secundária com nenhum impacto sobre a produção. Esse “status” depende principalmente da região onde se localiza o pomar e qual o seu cultivar (Malavasi et al., 1994). Uma lista de hospedeiros de moscas-das-frutas foi publicada por Malavasi et al. (1980) e Zucchi (2000) mostrando que *Anastrepha* ocorre nas mais diversas espécies de plantas hospedeiras, nativas e introduzidas, enquanto que *C. capitata* ocorre com mais frequência em espécies introduzidas. Frutos de diversas fruteiras são hospedeiros de moscas-das-frutas constituindo-se excelentes depósitos naturais, sendo a proximidade de pomares um fator de elevação de danos. Entretanto, os frutos de citros são considerados hospedeiros secundários desse inseto, devido às características bioquímicas dos frutos que concentram terpenóides oxigenados do óleo na casca ocasionando mortalidade nas moscas-das-frutas (Bodenheimer, 1951).

Uma das espécies de maior interesse na fruticultura mundial, pela capacidade de causar danos econômicos e sociais, é a *Ceratitis capitata* (Wied 1824) ou Mosca-do-mediterrâneo, como é vulgarmente conhecida. O ataque deste díptero, pertencente à família Tephritidae, 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. Em apenas uma década foram introduzidas na Califórnia seis espécies de mosca das frutas (Carey e Dowell 1989).

5.2.1.2 Aspectos taxonômicos

Entre os tefritídeos que infestam frutos, encontramos os gêneros *Dacus*, *Bactrocera*, *Ceratitis*, *Toxotrypana*, *Anastrepha* e *Rhagoletis*. Drew (1989) reclassificou as espécies até então descritas no gênero *Dacus* em dois gêneros: *Dacus* e *Bactrocera*. Critérios morfológicos, biológicos e de distribuição geográfica foram considerados para esta reclassificação. Assim, as espécies de *Dacus* são aquelas que infestam apenas plantas das famílias Asclepiadaceae e Cucurbitaceae na África e na região do Pacífico asiático e *Bactrocera* as que infestam hospedeiros de aproximadamente 45 famílias de espécies de plantas da floresta tropical da região asiática (Raga et al. 1996 B).

Ocorrendo na América do Sul, especificamente no Suriname, encontramos uma espécie de *Bactrocera* (*Dacus*) considerada como próxima a *dorsalis*. Embora de introdução recente, já apresenta ampla distribuição geográfica, infestando um considerável número de hospedeiros como carambola e manga. Esta espécie constitui uma séria ameaça para a fruticultura no Brasil, pois foi registrada há dez anos no município de Oiapoque-AP, e poderá causar danos incalculáveis caso não seja introduzida monitorada no território brasileiro, que conta com uma lista de frutos hospedeiros com mais de 220 espécies (Embrapa 2007).

As espécies de moscas-das-frutas que causam danos à produção de frutos no Brasil pertencem aos gêneros *Anastrepha* e *Ceratitis*. Os demais gêneros não ocorrem no país ou, quando presentes, infestam plantas nativas que não possuem interesse econômico. Quanto à *Ceratitis capitata*, conhecida como mosca-do-mediterrâneo, é a única espécie deste gênero que ocorre no Brasil, sendo provavelmente originária da África (FONSECA & AUTUORI, 1936), sendo referida pela primeira vez no Brasil por Ihering (1901).

Carvalho et al., (1991) verificaram a sua ocorrência principalmente em fruteiras introduzidas, apresentando ampla distribuição geográfica, desde o estado do

Rio Grande do Sul até a região do Nordeste, com recentes detecções no sub-médio São Francisco e em Fortaleza.

No gênero *Anastrepha* estão descritas 193 espécies, das quais 78 ocorrem no Brasil (Norrbom e Kim, 1988). Foram coletadas praticamente em todos os estados brasileiros (Zucchi, 2000) e desenvolvem-se preferencialmente, em frutos nativos (Malavasi et al., 1980).

Segundo estudos de Malavasi et al. (1980) e Campus (1995), a distribuição de moscas das frutas está relacionada à distribuição de plantas hospedeiras, o que permite sua localização em praticamente todo território brasileiro.

5.2.1.3 Ciclo de vida

O ciclo de vida das moscas-das-frutas ocorre nas espécies vegetais, onde os adultos buscam proteção, alimento e local para o cortejo e cópula. No fruto, as fêmeas depositam seus ovos, e após a eclosão, as larvas se desenvolvem alimentando-se da polpa. No solo, as larvas se enterram após completar seu desenvolvimento para se transformarem-se em pupas. Neste local ocorre a metamorfose e os adultos emergem dos pupários e reiniciam um novo ciclo. A duração do ciclo de vida varia de espécie para espécie, conforme as características climáticas de cada região. (Malavasi et al., 1980).

Longevidade dos adultos

Martins (1986) constatou uma longevidade média de 156,6 dias para machos e de 87,8 dias para fêmeas de *Anastrepha fraterculus* quando mantidas a 25°C.

Oviposição

A oviposição é realizada em frutos na fase de amadurecimento. Fatores ambientais como a temperatura, luminosidade, forma, tamanho e características da superfície do fruto, influenciam o processo de ovoposição. Para a localização correta do fruto, a fêmea utiliza estímulos visuais e olfativos detectados por estruturas localizadas nas antenas, tarsos, probóscide e ovopositor. A localização correta do sítio de ovoposição é

uma das etapas cruciais do ciclo de vida, pois a escolha errada leva à perda da descendência (Martins 1986).

Número de ovos por ovoposição

Em *Ceratitidis capitata*, Souza et al. (1983) encontraram um número médio de 10,5 ovos por ovoposição em pêssego e 5,76 em café. Os mesmos autores verificaram que em *Anastrepha fraterculus* a média de ovos por ovoposição foi de 1,6; 1,04; e 1,00 infestando café, pêssego e maçã respectivamente.

Período de incubação

O tempo de duração do processo de embriogênese varia nas diferentes espécies e de acordo com as condições de temperatura. Em média, a 25° C, dura de 72 horas para *A. fraterculus* e 48 horas para *C. capitata*. Com a eclosão das larvas inicia-se o período larval (Souza et al. 1983).

Média de ovos por fêmea

Para *A. fraterculus* o número médio de ovos foi de 394,2 por fêmea, quando mantidas sob temperatura de 25°C. Segundo Martins (1986), a frequência de postura é maior no início da ovoposição e decresce com a idade da fêmea. Em *C. capitata*, as fêmeas ovopositam de 300 a 1000 ovos (Fletcher, 1989).

Período de oviposição

Em *A. fraterculus* o período de ovoposição foi de 80 dias, existindo um período de pré-ovoposição de 10 dias, pois as fêmeas emergem com os ovários ainda não totalmente desenvolvidos. Nesse período, consomem com avidez alimentos ricos em proteína, necessários ao pleno desenvolvimento ovariano (Martins 1986).

Caracterização dos ovos

Os ovos de diferentes espécies podem ser identificados através da morfologia externa. Barros (1988) estudou a morfologia dos ovos *C. capitata*, *A. fraterculus*, *A. obliqua* e *A. serpentina*.

Os ovos apresentam-se com coloração branco-leitosa, fusiformes e em algumas espécies, encurvados. Nas espécies onde a morfologia dos adultos é muito semelhante (espécies crípticas), os ovos são diferentes, como são os casos de *A. fraterculus* e *A. obliqua*. O tamanho dos ovos varia de espécie para espécie (Martins 1986).

Larvas

As larvas das moscas-das-frutas são do tipo vermiforme, sem pernas torácicas e abdominais e sem cápsula cefálica. O desenvolvimento larval ocorre por meio de três estádios, que podem ser caracterizados pelo aspecto dos ganchos bucais. O estudo da morfologia de larvas ainda é incipiente. Poucas espécies foram estudadas e algumas de maneira incompleta. Como consequência, apenas 13 espécies podem ser identificadas através das larvas (Martins 1986).

Duração da fase larval

A fase larval de *A. fraterculus*, quando mantidas a 25°C, tem a duração de 14 dias. Em *C. capitata*, Souza Filho e Raga (1998) determinou um período de 11 dias para estoques recém coletados e de nove dias, para aqueles mantidos por 10 gerações, estabilizando esse período para as demais gerações.

Pupas

As pupas são do tipo coarctata. São livres, cobertas pelas exúvias do último estágio larval que formam o pupário. Em *A. fraterculus* a pupa mede 5mm de comprimento por 2,5mm de largura e em *C. capitata*, 4mm de comprimento por 2mm de largura (Fletcher, 1989).

Duração da fase de pupa

Em *A. fraterculus* e espécies próximas, a fase de pupa tem uma duração média de 13 dias quando mantidas a 25°C.

Nascimento et al. (1981) obtiveram de um total de 2.000 pupas de *C. capitata*, emergência de 80 dos adultos, ocorrida entre 11 e 14 horas.

Duração média do ciclo de vida

O desenvolvimento das moscas-das-frutas depende da temperatura. Ovos, larvas e adultos têm o desenvolvimento influenciado pela temperatura do ar, enquanto que a pupa, pela temperatura do solo. Em condições de laboratório, à temperatura de 25°C, o ciclo de vida de *A. fraterculus* dura 30 dias (ovo, três dias; fase larval, 14 dias; e pupa, 13 dias). Em *C. capitata* o ciclo dura 30 dias para insetos recém-coletados (ovo dois dias, fase larval 11 dias e pupa 17 dias) e 21 dias para insetos mantidos em laboratório por 10 gerações (ovos, dois dias; fase larval, 9 dias; e pupa, 10 dias) (Raga et al. 1996 A).

Convém destacar que a duração do ciclo está diretamente relacionada com a temperatura, diminuindo em temperaturas mais altas e aumentando em temperaturas mais baixas. Além disso, o tipo de hospedeiro também pode alterar a duração do ciclo de vida das espécies de moscas-das-frutas (Souza Filho 1999).

5.2.1.4 Prejuízos

Nas culturas

Os frutos infestados tornam-se impróprios, não só para o consumo *in natura*, como também para a industrialização, ocorrendo a depreciação dos pomares infestados. O efeito disso são as perdas, que variam com o tipo de fruto e com a região plantada. Em alguns casos pode atingir até 100% de perda (Gallo et al. 2002).

A falta de incentivo para a melhoria da qualidade é outro fator mencionado pelo autor, por conta do fruto chegar ao mercado interno com baixa qualidade para um consumidor pouco exigente.

Econômicos

A depreciação dos pomares tornando-os anti-econômicos, ocasionando perda do investimento e insolvência do produtor, gerando a impossibilidade de comercialização dos frutos no mercado externo, não gerando divisas para o país, que por sua vez, arrecada menos impostos quando o fruto de área infestada é locado no mercado interno, não atingindo preços compensadores (Parra, 2002)

Sociais

A quantidade de trabalhadores envolvidos na fruticultura é relativamente alta, e com a queda da produção dos pomares é inevitável a migração interna dos funcionários aumentando o desemprego na agricultura e depreciando ainda mais a qualidade e o valor dos produtos produzidos. A causa deste efeito é, o abandono dos pomares proporcionando a diminuição da procura por mão de obra agrícola (Gallo et al. 2002).

5.2.1.5 Controle

Durante a Frutificação e Colheita

O controle das moscas-das-frutas é usualmente realizado com iscas tóxicas, pulverização em cobertura com agrotóxicos; em algumas fruteiras, faz-se o ensacamento individual dos frutos, impedindo ou dificultando a ovoposição. Existe alternativas como o uso de paraferomônios, também conhecida como aniquilamento de machos, ou ainda, a utilização de machos estéreis (Raga et al. 1997).

O controle tradicional, mediante o uso de agrotóxicos, é de alto custo, provoca contaminação ambiental e, dada a sua inespecificidade reduz não só a população das espécies polinizadoras, mas também os inimigos naturais das espécies pragas (Souza Filho 1999).

Atrativos alimentares

Na composição das iscas inseticidas, utiliza-se o melaço da canade-açúcar ou proteína hidrolizada misturado com inseticidas. São os sais de amônio presentes em tais substâncias, os responsáveis pela atração das moscas que buscam alimento de natureza protéica para completar, sobretudo, o pleno desenvolvimento do ovário. As iscas assim preparadas são aspergidas sobre uma parte da copa da árvore, atraindo as moscas e matando-as pela ingestão dos inseticidas existentes na sua composição. De uma maneira geral, tais iscas têm se constituído numa das alternativas para o controle de diversas espécies de *Anastrepha* e de *C. capitata* (Raga et al. 1997).

Paraferomônio

A busca de atrativos específicos para o controle da praga levou pesquisadores a identificarem substâncias naturais que atraem especificamente machos de apenas uma determinada espécie de moscas-das-frutas. Tais substâncias, denominadas de paraferomônios, passaram a ser empregadas no seu combate, sendo esta técnica denominada de aniquilação de machos. Deste modo, controla-se a praga sem provocar os efeitos indesejáveis da contaminação ambiental, da redução de polinizadores e de inimigos naturais.

Hoje, já existem no mercado o metil-eugenol, empregado no controle de *Bactrocera dorsalis* (*Dacus*), a mosca-do-orientes; o cuelure para *Bactrocera cucurbitae*, a mosca-oriental-do-melão (ambas não ocorrem no Brasil) e o trimedilure para *C. capitata*, a mosca-do-mediterrâneo. Estas substâncias atraem especificamente machos dessas espécies. Ainda não existem paraferomônios para qualquer das espécies de *Anastrepha* (Raga et al. 1997).

Macho estéril

Este método consiste na criação em massa da espécie considerada praga, cujos machos esterilizados serão liberados em áreas de sua ocorrência. Na área onde forem liberados, os insetos estéreis entrarão em competição com os da população fértil e, dada a maior densidade de insetos estéreis por várias gerações os machos estéreis terão maior probabilidade de copular com fêmeas férteis, que não deixarão descendentes. Trata-

se de um método eficiente, que requer grandes investimentos, não só para a construção e manutenção das fábricas de insetos, mas também para o conhecimento da população natural da praga e para o controle de qualidade dos insetos estéreis, que deverão competir com aqueles da população natural. Dentre os projetos com moscas-das-frutas estéreis, destaca-se o de erradicação de *B. dorsalis* no Japão e o de erradicação de *C. capitata* na Guatemala e sul do México (Chiapas), através do programa MOSCAMED (Anuário de Fruticultura, 2003).

Armadilhas

No controle e monitoramento de tefritídeos têm sido empregados em larga escala, atrativos químicos em frascos caça-moscas do tipo McPhail. No interior desses frascos pode ser colocada uma variedade muito grande de atrativos, todos com características alimentares. Além das substâncias já citadas, destacamos suco de frutas e açúcar mascavo. Entretanto todas as substâncias com tais propriedades são inespecíficas, isto é, atraem machos e fêmeas de diferentes espécies de moscas-das-frutas (Souza Filho 1999).

Para atração de *C. capitata*, Nakagawa et al. (1970) utilizaram paraferomônios sexuais sintéticos, Trimedlure e metileugenol, que apresentaram maior eficiência, superior às iscas atrativas à base de proteínas hidrolisadas, empregadas em programas de controle e erradicação desta praga.

Na pós-colheita

Até 1987, em diversos países, empregava-se o dibrometo de etileno (EDB) como inseticida fumigante para o tratamento de frutos em fase de pós-colheita, sendo tal tratamento aceito pelas autoridades sanitárias dos Estados Unidos e do Japão. Entretanto, estudos feitos pelo Environmental Protection Agency (EPA -USA) revelaram que esta substância tem propriedades cancerígenas, fato que levou à proibição do seu uso em frutos consumidos no território americano (Ferraz 1998).

Tratamento hidrotérmico (hot water dip)

Segundo Assis (2004), consiste em mergulhar os frutos em água à temperatura de 46,1°C, durante o tempo de 70 a 90 minutos, de acordo com o peso do fruto. Este tratamento vem sendo utilizado em manga e atende às exigências fitossanitárias do Departamento de Agricultura dos Estados Unidos.

O México e Haiti, já utilizam este procedimento há três anos e o Brasil, Peru e países da América Central o em pregaram na safra 2003 de manga. No Brasil foram feitos testes para as espécies mais comuns (*A. obliqua*, *A. fraterculus* e *C capitata* e que infestam manga). O custo deste tratamento é relativamente baixo e tem como desvantagens a menor durabilidade da manga, isto é, menor tempo de prateleira; a necessidade de cuidados rigorosos, no que se refere à época da colheita e no manuseio de transporte do fruto antes e depois do tratamento (Assis 2004).

Tratamento a vapor

Consiste em submeter o fruto a um ambiente saturado de vapor de água quente durante 10 minutos, de modo que a polpa do fruto, na sua parte mais interna, atinja a temperatura de 46°C. Este tipo de tratamento é exigido pelo Ministério da Agricultura do Japão para diversos frutos e legumes que chegam àquele país, para o consumo in natura (Bollen e Rue 1999).

O Brasil não possui aprovação para a utilização deste processo, pois ainda não foram desenvolvidas pesquisas para a determinação dos tempos de exposição dos frutos ao vapor e que venham a causar a morte das espécies de moscas-dasfrutas, consideradas pragas pelas autoridades quarentenárias japonesas, no caso de interesse para a exportação (Bollen e Rue 1999).

Tratamento a ar quente

Este método de tratamento por ar quente foi recentemente desenvolvido pelos Estados Unidos e utilizado em papaya cultivado no Havaí. O processo consiste em forçar a passagem de ar a 47°C em uma câmara onde estão os frutos. Trata-se de um sistema que parece causar menor dano que aquele provocado pela água quente e pode ser utilizado em diversos tipos de frutos. Também, neste caso, há necessidade de

testes específicos para os frutos produzidos no Brasil e análise da mortalidade das moscas que infestam tais frutos (Assis 2004).

Tratamento a frio (cold treatment)

Pode ser utilizado para matar ovos e larvas de moscas-das-frutas quando expostas a temperaturas inferiores a 10°C. Na prática, utilizam-se temperaturas abaixo de 5°C para a diminuição do tempo de tratamento. O fator limitante neste procedimento é a pouca tolerância dos frutos à baixa temperatura. Para frutos de clima temperado como uva e maçã, constitui uma das melhores alternativas.

O aspecto vantajoso neste tipo de tratamento é a sua aplicação em frutos que estão sendo transportados das áreas de produção para os pontos de comercialização (Assis 2004).

Radiação gama

Segundo Arthur et al. (1993) trata-se o fruto com baixa dose de radiação, que varia entre 0,2 a 1,0 kilogray (equivalente a 100 kilorad). A radiação mata todos os estádios das moscas-das-frutas que possam estar presentes no fruto. Organismos internacionais consideram que exposições de produtos a até 10 kilogray não causam prejuízos para a saúde humana. Entretanto, o produto irradiado sofre restrições em diferentes mercados consumidores, constituindo um sério entrave para a sua utilização.

5.2.2 Gorgulho-da-goiaba *Conotrachelus psidii*

5.2.2.1 Considerações gerais

Dentro da família Curculionidae, o gênero *Conotrachelus* Dejean, 1835 consta de, aproximadamente, 1.000 espécies. Algumas destas espécies são exclusivamente neotropicais, que se distribuem desde a América Central à América do Sul (O'Brien e Couturier, 1995). Segundo Fiedler (1940) *apud* Mendes et al., (1988), 600

espécies são descritas na América do Sul, as quais se desenvolvem em frutos de diversas plantas silvestres e cultivadas.

Entre os gorgulhos do gênero *Conotrachelus*, que atacam frutos em regiões de clima temperado destaca-se *C. nenuphar* Herbst. Esta espécie ataca ameixa (Jacklin e Yonce, 1970; Racette et al., 1991), maçã, pêra, cereja, marmelo, nectarina, damasco e pêssego (O'Brien e Couturier, 1995; Hoffmann et al., 2004).

O gorgulho-da-goiaba pertence à classe Insecta, subclasse Pterygota, ordem Coleoptera, subordem Polyphaga, superfamília Curculionoidea, família Curculionidae, subfamília Cryptorhynchinae, tribo Conotrachelini, subtribo Conotrachelina, gênero *Conotrachelus* (Gallo et al., 2002).

5.2.2.2. Ciclo de vida

O inseto adulto é um besouro de, aproximadamente 6 mm de comprimento por 4 mm de largura, de coloração pardo escura. A longevidade do inseto adulto em condições de laboratório pode superar os 7 meses (Bailez et al., 2003). Depois de acasaladas as fêmeas realizam perfurações com o rostro nos frutos de goiabas ainda verdes e podem depositar até 15 ovos por dia. O ovo de *C.psidii* é de coloração branca leitosa e mede de 0,1-0,2 mm. Após a oviposição, a fêmea cobre os orifícios com restos provenientes da escavação do fruto e com suas fezes (Sobrinho et al., 1998; Bailez e Viana, 2001; Gallo et al., 2002). A larva eclode cerca de 4 dias após a postura e migra para o interior do fruto, alimentando-se da polpa. As larvas podem alcançar seu máximo desenvolvimento em apenas 16 dias. Após quatro ínstars, a larva abandona o fruto e penetra no solo, onde permanece por um tempo variável de até 140 dias como pré-pupa até transformação em pupa. A pupa mede cerca de 6 mm de comprimento por 4 mm de largura. A fase de pupa é relativamente curta, com 16 dias de duração em média. Posteriormente, o inseto adulto pode permanecer enterrado por várias semanas antes de abandonar o solo e reiniciar o ciclo (Orlando et al., 1974; Boscán de Martinez e Cásares, 1983; Bailez et al., 2003)

5.2.2.3. Prejuízos

Os primeiros danos ocorrem quando os adultos do gorgulho-da-goiaba, recém emergidos do solo, alimentam-se dos botões florais ocasionando perfurações que podem prejudicar o desenvolvimento dos frutos ainda pequenos e diminuir a qualidade comercial do fruto maduro. Também atacam frutos jovens, maduros, pecíolos e pedúnculos. (Orlando et al., 1974; Sampaio, 1977; Boscán de Martinez e Cásares, 1980).

O principal dano ocorre quando as fêmeas de *C. psidii* ovipositam sobre frutos jovens. Neste caso, os frutos amadurecem precocemente ou podem cair sem completar o seu desenvolvimento (Pereira e Martinez Jr., 1986). Quando os frutos se aproximam do ponto de maturação, as larvas do gorgulho-da-goiaba alimentam-se apenas do aglomerado das sementes ou “arilo” desqualificando o fruto para consumo *in natura* e prejudicando o seu aproveitamento industrial. Os frutos maduros atacados apresentam externamente uma depressão endurecida com um ponto negro em cada local de oviposição e internamente a polpa e as sementes ficam enegrecidas na forma de uma podridão seca (Orlando et al., 1974; Sampaio, 1975; Boscán de Martinez e Cásares, 1983; Gallo et al., 2002).

5.2.2.4 Controle

O controle do gorgulho-da-goiaba baseia-se em freqüentes aplicações de inseticidas. Os produtos recomendados nas aplicações são à base piretróides (Gallo et al., 2002). No controle de outras pragas da família Curculionidae, são utilizados métodos alternativos ou complementares ao controle químico. Um dos métodos que estão sendo considerados refere-se a utilização de inimigos naturais. Experimentos foram realizados para estabelecer a viabilidade deste método de controle com o parasitóide *Nealiolus curculionis*, sobre *C. nenuphar*. No entanto, a eficiência alcançada através deste método em condições de campo foi de apenas 5% (Laurence, 1994).

Outro método complementar ao uso de inseticidas é a catação e destruição dos frutos brocados sob a copa das goiabeiras e o ensacamento dos frutos em estágio inicial de desenvolvimento. Este método é utilizado com relativo sucesso para reduzir os efeitos dos ataques e a população do gorgulho-da-goiaba, entretanto, exigem um aumento na mão-de-obra e no gasto com materiais, aumentando assim, o custo de produção da fruta (Gallo et al., 2002).

O controle comportamental, com a utilização de semioquímicos tem sido utilizado no monitoramento e na coleta massal de alguns curculionídeos. Armadilhas iscadas com semioquímicos foram utilizadas com sucesso na coleta do gorgulho da cana-de-açúcar, *Metamasius hemipterus* Linnaeus (Cerda et al., 1999), no controle da broca-do-coqueiro, *Rhynchophorus palmarum* (Jaffé et al., 1993; Gilblin-Davis et al., 1994), do bicudo-do-algodoeiro, *Anthonomus grandis* (Rochat et al., 1991), do gorgulho-da-pimenta, *Anthonomus eugenii* (Eller et al., 1994), do gorgulho-do-arroz, *Sitophilus oryzae* (Phillips et al., 1993; Tiglia et al., 1995), do gorgulho-da-batata-doce, *Cylas formicarius* (Jansson et al., 1992) e dos gorgulhos-dos-pinheiros, *Hylobius radialis* e *Pachylobius picivorus* (Hunt e Raffa, 1989), entre outros.

Em relação ao gênero *Conotrachelus*, Leskey e Prokopy (2000) utilizaram aleloquímicos do hospedeiro e feromônios do inseto com o objetivo de desenvolver um método de controle e/ou monitoramento do gorgulho-da-ameixa, *C. nenuphar*, obtendo respostas significativas no número de insetos coletados.

5.3 Nematóides Entomopatogênicos

5.3.1. Considerações gerais

Nos estudos de controle biológico das moscas-das-frutas e do gorgulho-da-goiaba, dois inimigos naturais que vem ganhando cada vez mais importância são os nematóides entomopatogênicos dos gêneros *Steinernema* e *Heterorhabditis*, tendo em vista o uso desses agentes para combater as fases dos insetos que passam no solo: pré-pupa e pupa. A importância cada vez maior desses nematóides nos estudos deve-se, principalmente, a comprovada virulência dos mesmos contra esses insetos, nessas fases, e também ao grande avanço nos estudos com nematóides entomopatogênicos nos últimos anos, especialmente no tocante aos métodos de produção e descoberta de novas espécies/isolados. Atualmente, estão disponíveis no mercado mundial pelo menos 9 espécies de nematóides para o controle biológico de pragas, quais sejam: *Heterorhabditis bacteriophora*, *H. megidis*, *H. marelatus*, *H. indica*, *Steinernema carpocapsae*, *S. feltiae*, *S. scapterisci*, *S. riobrave* e *S. glaseri* (Leite e Ferraz, No prelo).

5.3.1.1 Ciclo de vida

Steinernema e *Heterorhabditis* são gêneros de nematóides entomopatogênicos encontrados freqüentemente no solo ou infectando insetos, em diversas regiões do mundo (Hominick, 2002). No solo, esses nematóides são encontrados na fase de juvenis infectivos de terceiro estágio, forma responsável pela busca e infecção do hospedeiro. Nessa fase o nematóide não se alimenta, podendo resistir por um bom tempo as ações do intemperismo (Glazer, 2002).

Esses agentes de controle carregam bactérias altamente patogênicas a insetos em seu trato digestório, numa associação mutualística em que o nematóide, ao penetrar em um hospedeiro pelas aberturas naturais, tais como o ânus, boca e espiráculos ou ainda para o *Heterorhabditis* penetrar pelo tegumento, e invadir a hemocele, liberam a bactéria que causa septicemia no inseto entre 24 e 48 horas (Ferraz, 1998). O nematóide se alimenta da bactéria e tecidos do hospedeiro, se reproduzindo entre 2 a 3 gerações. Com a exaustão dos nutrientes, o nematóide emerge do cadáver como juvenil infectivo para a procura de novos hospedeiros.

O ciclo de vida para a maioria dos esteinernematídeos e heterorabditídeos, da infecção à emergência dos juvenis infectivos, varia de 7 a 10 e 12 a 15 dias, respectivamente, em temperatura ambiente (Ehlers, 2001)

Sobrevivência e persistência

Nematóides entomopatogênicos são extremamente dependentes da quantidade de lipídios armazenada no seu organismo e da umidade e temperatura para sobreviverem no solo (Patel e Wright, 1997; Glazer, 2002). A capacidade de sobrevivência em diferentes temperaturas tem sido avaliada em diversos estudos, procurando selecionar isolados que permitam estar adaptados às adversidades de cada região.

Cada espécie e até mesmo isolados da mesma espécie reagem diferentemente às variações de temperatura e umidade. Desse modo, a avaliação de nematóides se faz necessária, com o objetivo de descobrir novos agentes que sejam mais eficientes para uso nos programas de controle biológico de pragas. Estudos de formulação e técnicas de aplicação tentam amenizar os efeitos do clima. Essas formulações permitem

maior persistência dos nematóides no ambiente, garantindo melhores resultados no controle de pragas. Também o cuidado na aplicação pode ser um fator essencial para garantir o sucesso desses agentes a níveis de controle de uma determinada praga (Georgis, 1992).

Cabe ressaltar que muitos fatores podem interferir na reciclagem e manutenção desses agentes no campo. McCoy et al. (2000) demonstraram que formigas podem interferir nesta reciclagem, capturando insetos infectados pelos nematóides e interrompendo a reprodução dos nematóides nos cadáveres. Por outro lado, a possibilidade dos nematóides infectarem mais de um estágio de desenvolvimento de uma mesma espécie pode provocar um aumento na quantidade de inóculo no campo, acarretando muitas vezes num controle maior do que o esperado (Loya e Hower Jr., 2003).

5.3.1.2 Pesquisas usando nematóides entomopatogênicos contra as moscas-dasfrutas

São poucos os trabalhos relacionados ao uso de nematóides entomopatogênicos contra a mosca das frutas *C. capitata* e *A. fraterculus* em condições de campo, sendo a quase totalidade dos trabalhos realizados em condições de laboratório e casa de vegetação.

Beavers & Calkins (1984) testaram em condições de laboratório a suscetibilidade dos diferentes estágios de desenvolvimento de *Anastrepha suspensa* (Loew) a diversos isolados de nematóides pertencentes aos gêneros *Steinernema* e *Heterorhabditis*. Foi verificado que larvas e adultos foram suscetíveis aos nematóides, atingindo um índice de mortalidade máxima de 90,7% e 91,7%, respectivamente. No entanto, a fase de pupa não foi suscetível, apresentando mortalidade máxima de 1,1%, dados que não corroboram com este trabalho.

Lindgren et al. (1990) avaliaram em condições de laboratório a suscetibilidade de larvas de *C. Capitata*, *Dacus cucurbitae* (Coquillette) e *D. dosalis* Hendel a diferentes concentrações de *S. feltiae*, verificando que as três espécies de moscas-das-frutas foram suscetíveis ao entomopatógeno, sendo que na maior concentração a mortalidade foi igual a 92,86 e 85%, respectivamente.

Lindgren et al. (1990) observaram em condições de campo elevada dosagem de *S. feltiae* sobre larvas de *C. capitata*, apresentando CL50 igual a 38 JI/cm².

A suscetibilidade de larvas de *C. Capitata*, *D. cucurbitae* e *D. dosalis* também foi observada para *S. carpocapsae*, em condições de laboratório, com mortalidade média de 87,1% (Lindegren et al., 1990).

A patogenicidade de *S. feltiae*, *S. carpocapsae*, *S. riobrave*, *H. bacteriophora* e *H. marelatus* sobre larvas de *Rhagoletis indifferens* Curran foi verificada em condições de laboratório. A mortalidade causada pelas diferentes espécies de nematóides variou entre 15 e 83,3%, indicando este grupo de entomopatógenos como promissor no controle de mosca-das-frutas (Stark e Lacey, 1999).

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

Carvalho et al. (1991) e Grewal et al. (2000) ressaltam que nematóides entomopatogênicos pertencentes aos gêneros *Steinernema* e *Heterorhabditis* são promissores no controle de mosca-das-frutas, já que o comportamento deste inseto de abandonar o fruto e penetrar no solo para desenvolvimento das pupas, permite a ação do nematóide.

Attalla et al. (2002) avaliaram a patogenicidade de *S. carpocapsae*, *S. riobrave* e *H. bacteriophora* sobre larvas no final do último ínstar e pupas de *Bactrocera zonata* (Diptera: Tephritidae) (Saunders), verificando variação entre 28,72 e 91,49% na mortalidade de larvas e 16,67 e 93,70% na mortalidade de pupas.

Laborta et al. (2003) estudaram a suscetibilidade de larvas e pupas de *C. capitata* ao produto Biorend C (mistura de *Steinernema* spp. e quitosan, idebio/ABF, Espanha), verificando mortalidade larval superior a 90%, sem efeito sobre a fase de pupa.

Yee e Lacey (2003) também comprovaram a suscetibilidade de *R. indifferens* a *S. carpocapsae*, *S. feltiae* e *S. intermedium*, sendo estágio larval o mais suscetível, com a mortalidade variando entre 62 e 100%. Os maiores índices de mortalidade foram causados por *S. carpocapsae* e *S. feltiae*.

Maior eficiência de *S. carpocapsae* e *S. feltiae* também foi verificada em um estudo de suscetibilidade de larvas e pupas de *Rhagoletis cerasi* Loew a diferentes espécies e isolados de nematóides entomopatogênicos, com mortalidade variando entre 54 e 70% (Koppler et al. 2003).

Toledo et al. (2005) avaliaram a eficiência de *H. bacteriophora* sobre larvas de *Anastrepha ludens* (Loew), obtendo CL50 de aproximadamente 115 JI/cm² em laboratório. Em condições de campo foi verificada mortalidade igual a 47 e 76% nas concentrações de 115 e 345 JI/cm², respectivamente.

Rohde (2007) observou uma grande variação entre os gêneros *Steinernema* e *Heterorhabditis* quanto a virulência para larvas de *C. capitata*, com mortalidade variando entre 32,5 e 87,5% dentre os 14 isolados avaliados.

6. MATERIAIS E MÉTODOS

Foram realizados cinco experimentos, sendo um em laboratório, tres em casa de vegetação e um em campo. Os experimentos em condições de laboratório e casa de vegetação foram realizados nas dependências do Laboratório de Controle Biológico do Instituto Biológico, enquanto que o experimento de campo foi realizado em um pomar comercial de goiaba orgânica. O experimento em laboratório, realizado em 10 de novembro de 2007, teve como objetivo avaliar a virulência de sete isolados de nematóides entomopatogênicos contra o inseto de *C. capitata*, liberados na fase de pupa com um dia de desenvolvimento. O primeiro experimento em casa de vegetação, realizado em no dia 5 de dezembro de 2007, objetivou avaliar o efeito desses nematóides das dosagens de 50 e 100 JI/inseto também contra o inseto liberado na fase de pupa com a mesma idade.

O segundo experimento em casa de vegetação, realizado em 02 de janeiro de 2008, teve como objetivo avaliar os 4 nematóides mais virulentos nas dosagens de 100 e 200 JI/inseto, também contra pupas do inseto, enquanto que o terceiro teste em casa de vegetação, realizado em 23 de janeiro de 2008, objetivou avaliar esses mesmos nematóides nas dosagens de 50 e 100 JI/inseto contra o inseto liberado na fase de pré-pupa.

Finalmente foi realizado um experimento de campo com o objetivo de avaliar a eficiência do nematóide mais virulento, *H. indica*, nas dosagens de 1 e 10 JI/cm², contra a mosca-das-frutas, *C. capitata*, e contra o gorgulho-da-goiaba, *Conotrachelus psidii*, ambos os insetos liberados na fase de pré-pupa.

Nos estudos foram utilizados isolados dos nematóides do gênero *Heterorhabditis* e *Steinernema* (Tabela 1), os quais encontram-se depositados na Coleção de Nematóides Entomopatogênicos do Banco de Entomopatógenos “Oldemar Cardim Abreu”, pertencente ao Instituto Biológico (Goulart et al., 2003).

Tabela 1. Isolados de nematóides entomopatogênicos utilizados nos experimentos.

Nematóide	Isolado	Origem	Procedência
<i>S. carpocapsae</i>	IBCB n2	Solo	Flórida – EUA
<i>H. indica</i>	IBCB n5	Solo/citros	Itapetininga – SP
<i>Steinernema</i> sp.	IBCB n6	Solo/mata	Porto Murtinho – MS
<i>Heterorhabditis</i> sp.	IBCB n10	Solo/manga	Santa Fé do Sul – SP
<i>Steinernema</i> sp.	IBCB n25	Solo/mata	Mogi Guaçu -SP
<i>Steinernema</i> sp.	IBCB n31	Solo/mata	Naviraí – MT
<i>Steinernema</i> sp.	IBCB n35	Solo/mata	Mogi Mirim -SP

6.1 Multiplicação dos nematóides

Os nematóides usados foram multiplicados em larvas de *Galleria mellonella* (3º ao 5º instar), mais conhecida como “traça dos favos”, as quais foram criadas em bandejas metálicas circulares, sendo mantidas em dieta artificial à base de soja e cera de abelha, em estufa (32°C), segundo metodologia citada por Machado (1988) (Figura 1).



Figura 1. Bandeja de criação de *G. mellonella*

A multiplicação “in vivo” foi realizada dentro de placas de Petri (9 cm de diâmetro) com 2 círculos de papel filtro no fundo, os quais receberam 2 ml de suspensão contendo 10.000 JI (JI = juvenis infectivos). Em cada placa foram adicionadas 05 larvas de *G. mellonella*. As placas foram vedadas com filme de PVC e acondicionadas a 25°C, no escuro.

Após 3 dias, as larvas mortas de *G. mellonella* foram retiradas das placas e colocadas em armadilha de “White” (figura 2), formada por placa de Petri (13 cm de diâmetro por 2 cm de altura) contendo papel filtro apoiado em tampa plástica (4 cm de diâmetro por 1 cm de altura). No fundo da placa foi adicionada água (lâmina de 0,5 cm de espessura), tendo em vista coletar os nematóides entomopatogênicos que abandonaram o cadáver do inseto.



Figura 2. Armadilha de “White”

Após sete dias, os nematóides suspensos na água foram filtrados em papel filtro, com auxílio de um funil de Buchner, “Kitasato” e bomba d’vácuo (Figura 3). O papel filtro foi então lavado e os nematóides armazenados em potes plásticos (21 cm de comprimento, 12 cm de largura e 6 cm de altura) à 15°C, no escuro, com lâmina de água de 1cm, por um período de 2 a 10 dias (antes de serem usados). Em cada teste os nematóides foram quantificados em câmara de Peters. Os nematóides foram preparados seguindo sempre a mesma metodologia, em todos os testes realizados.



Figura 3. Bomba de vácuo e funil de Buchner, “Kitasato”.

6.2 Obtenção dos insetos

As larvas e pupas de *C. capitata* foram fornecidas pelo laboratório de Entomologia Econômica do Instituto Biológico, tendo sido obtidas a partir de criação em dieta artificial. Exemplares do inseto *C. psidii*, na fase de pré-pupa, foram obtidos a partir de frutos de goiaba atacados, coletados em pomares de goiaba no Sítio Roncágua, situado no município de Valinhos, SP.

6.3 Experimento em laboratório.

O experimento teve por objetivo avaliar a virulência de sete isolados de nematóides entomopatogênicos contra insetos de *C. capitata* expostos na fase de pupa com um dia de desenvolvimento, usando a dosagem de 50 JI/inseto. Foram considerados 8 tratamentos representados por sete isolados de nematóide e pela testemunha conforme citados em seguida:

1. Testemunha (Água destilada)
2. *S. carpocapsae* IBCB n 2
3. *H. indica* IBCB n5
4. *Steinernema* sp. IBCB n6
5. *Heterorhabditis* sp. IBCB n10
6. *Steinernema* sp. IBCB n25
7. *Steinernema* sp. IBCB n31
8. *Steinernema* sp. IBCB n35

Os tratamentos foram constituídos por 10 repetições, sendo que cada uma delas era formada por 10 pupas agrupadas em um recipiente plástico (9 cm de diâmetro por 5 cm de altura), contendo 419g de solo arenoso previamente esterelizado com 10% de umidade (massa por massa) (Figura 4). As pupas foram enterradas dentro dos potes, a 1 cm de profundidade, e posteriormente foi aplicada a suspensão do nematóide sobre o solo.

As suspensões de nematóides contendo equivalente a 50 JI/inseto foi aplicada com auxílio de pipeta plástica na superfície do solo, usando-se um volume de

1 ml por pote. Os potes foram fechados com pano tipo filó para permitir aeração e evitar o escape dos adultos após a emergência, e acondicionados em câmara Fitotrom com temperatura e luminosidade controladas ($T^{\circ}=25 + 1^{\circ}\text{C}$ e fotofase de 12horas).

A avaliação foi feita 12 dias após a aplicação, contando-se o número de adultos de *C. capitata* emergidos dentro dos potes.



Figura 4. Recipiente plástico em laboratório

6.4 Testes em Casa de Vegetação

6.4.1 Teste 1

Os sete nematóides foram novamente avaliados quanto a virulência para *C. capitata*, pela exposição das pupas com um dia de idade às dosagens de 50 e 100 JI/inseto. Para isso, foram estabelecidos 15 tratamentos representados pelos 7 isolados dos nematóides, testados nas duas dosagens, e pela testemunha, conforme apresentados em seguida:

1. Testemunha (Água destilada);
2. *S. carpocapsae* IBCB n2 (50 JI/inseto)

3. *S. carpocapsae* IBCB n2 (100 JI/inseto)
4. *H. indica* IBCB n5 (50 JI/inseto)
5. *H. indica* IBCB n5 (100 JI/inseto)
6. *Steinernema* sp. IBCB n6 (50 JI/inseto)
7. *Steinernema* sp. IBCB n6 (100 JI/inseto)
8. *Heterorhabditis* sp. IBCB n10 (50 JI/pupa)
9. *Heterorhabditis* sp. IBCB n10 (100 JI/inseto)
10. *Steinernema* sp. IBCB n25 (50 JI/inseto)
11. *Steinernema* sp. IBCB n25 (100 JI/inseto)
12. *Steinernema* sp. IBCB n31 (50 JI/inseto)
13. *Steinernema* sp. IBCB n31 (100 JI/inseto)
14. *Steinernema* sp. IBCB n35 (50 JI/inseto)
15. *Steinernema* sp. IBCB n35 (100 JI/inseto)

Os tratamentos foram constituídos por 10 repetições, sendo cada parcela formada por 10 pupas dispostas no interior de um recipiente plástico (13 cm de diâmetro por 9 cm de altura), contendo 1882 g de solo semi-arenoso com 10% de umidade (massa por massa) como substrato (figura 5). As pupas foram enterradas a 1 cm de profundidade. A aplicação da suspensão do nematóide, na dosagem equivalente a 50 e 100 JI/pupa, foi feita na superfície do substrato, com o auxílio de pipeta plástica, usando-se 1 ml de suspensão por pote. Os potes foram fechados com pano tipo tuli para permitir aeração e evitar o escape dos adultos emergidos, e acondicionados na casa de vegetação, onde foram mantidos por 12 dias, sob temperaturas variando entre 22° a 27°C.

Após 12 dias da aplicação, foi feita a avaliação da mortalidade pupal, com base no número de adultos emergidos dentro dos potes.



Figura 5. Recipiente plástico com solo (A). Recipiente plástico com solo e filó (B).

6.4.2 Teste 2

Os quatro nematóides mais agressivos para *C. capitata* foram avaliados quanto à virulência para esse inseto, pela exposição das pupas com um dia de idade às dosagens de 100 e 200 JI/inseto.

Foram considerados 9 tratamentos, representados pelos 4 nematóides *H. indica* IBCB n5, *Steinernema* sp. IBCB n6, *Heterorhabditis* sp. IBCB n10 e *Steinernema* sp. IBCB n25, testados nas duas dosagens, e pela testemunha, conforme apresentados em seguida:

1. Testemunha (Água destilada)
2. *H. indica* IBCB n5 (100 JI/inseto)
3. *H. indica* IBCB n5 (200 JI/inseto)
4. *Steinernema* sp. IBCB n6 (100 JI/inseto)
5. *Steinernema* sp. IBCB n6 (200 JI/inseto)
6. *Heterorhabditis* sp. IBCB n10 (100 JI/inseto)
7. *Heterorhabditis* sp. IBCB n10 (200 JI/inseto)
8. *Steinernema* sp. IBCB n25 (100 JI/inseto)
9. *Steinernema* sp. IBCB n25 (200 JI/inseto)

O método utilizado foi o mesmo do teste anterior, sendo a temperatura dentro da casa de vegetação variado de 21° a 28°C.

6.4.3 Testes 3

Os quatro nematóides mais agressivos para *C. capitata* foram novamente avaliados quanto à virulência para esse inseto, pela exposição das formas de pré-pupa às dosagens de 50 e 100 JI/inseto.

Foram estabelecidos também 9 tratamentos, representados pelos 4 nematóides *H. indica* IBCB n5, *Steinernema* sp. IBCB n06, *Heterorhabditis* sp. IBCB n10 e *Steinernema* sp. IBCB-n 25, testados nas duas dosagens, e pela testemunha, conforme apresentados em seguida:

1. Testemunha (Água destilada);
2. *H. indica* IBCB n5 (50 JI/inseto)
3. *H. indica* IBCB n5 (100 JI/inseto)
4. *Steinernema* sp. IBCB n6 (50 JI/inseto)
5. *Steinernema* sp. IBCB n6 (100 JI/inseto)
6. *Heterorhabditis* sp. IBCB n10 (50 JI/inseto)
7. *Heterorhabditis* sp. IBCB n10 (100 JI/inseto)
8. *Steinernema* sp. IBCB n25 (50 JI/inseto)
9. *Steinernema* sp. IBCB n25 (100 JI/inseto)

O método utilizado foi o mesmo do primeiro teste em casa de vegetação, exceto que os insetos no estágio de pré-pupa foram liberados na superfície do solo e não enterrados como realizado para a fase de pupa. Além disso, a temperatura ao longo do experimento, dentro da casa de vegetação, variou de 22° a 28°C.

6.5 Teste de Campo

O experimento de campo foi realizado em um pomar comercial de goiaba orgânica, de variedade Kumagai no Sítio Roncágua pertencente aos Srs Dorival Roncágua, Adilson Roncágua e Adenilson Roncágua, no município de Valinhos, SP (22° 58' 14'' S, 46° 60' 45'' N), conduzido sobre poda total. A idade do pomar é de 25 anos de idade e está disposto num espaçamento de 6m x 6m. Ao todo são 350 plantas, distribuídas em 10 linhas, cada linha com pelo menos 22 plantas.

No teste de campo foi avaliado a eficiência do nematóide *H. indica* IBCB n5 contra a fase de pré-pupa de *Ceratitis capitata* e *Conotrachelus psidii* em pomar comercial de goiaba, variedade Kumagai, espaçamento de 6 x 6 m. Foram considerados 6 tratamentos, representados pelo nematóide testado contra os dois insetos nas dosagens de 1 e 10 JI/cm², e pelas respectivas tetemunhas dos insetos.

Para cada tratamento foram consideradas 6 repetições distribuídas ao acaso como sub-parcelas, sendo cada repetição representada por 6 insetos agrupados dentro de um envelope de 15 x 15 cm, preparado com tela de plástico (malha 20 mesh) e com as bordas laterais e basal fechadas com grampos, preenchido com solo do local até a metade do seu volume, parcialmente enterrado no solo embaixo da copa da planta de goiabeira, em uma área de 6 m² (2 x 3 m) (Figura 6A). Os tratamentos, representados por uma planta de goiabeira cada, foram distribuídos ao longo de uma linha da cultura, separados entre si por uma planta não tratada (neutra).



Figura 6. Envelopes parcialmente enterrados e abertos (A). Liberação dos insetos dentro dos envelopes (B). Envelopes fechados e irrigação das parcelas (C).

Previamente ao enterrio dos envelopes, as áreas delimitadas foram descobertas de plantas daninhas com o auxílio de enxada. Após o enterrio, os envelopes foram preenchidos parcialmente com o solo e, em seguida, infestados no seu interior com 6 insetos de *C. capitata* e *C. psidii*, ambos na fase de pré-pupa (Figura 6B).

Após a liberação dos insetos, as áreas foram pulverizadas com o nematóide nas duas dosagens e os envelopes, então, fechados com grampo. O nematóide

foi aplicado em suspensão aquosa com o auxílio de um pulverizador costal de 20L, usando-se 1 L por tratamento (planta).

O experimento foi conduzido ao longo de 12 dias, tendo sido irrigado diariamente com micro aspersores, por 30 minutos cada tempo de irrigação, duas vezes ao dia (Figura 6C). Após 12 dias, os envelopes foram desenterrados e levados ao Laboratório de Controle Biológico, do Instituto Biológico, onde foram abertos e avaliados quanto ao número de adultos emergidos da mosca-das-frutas nos seus interiores.

7. RESULTADOS E DISCUSSÃO

7.1 Teste de laboratório

Os 5 nematóides mais virulentos para pupas de *C. capitata* foram *Steinernema* sp. IBCB n35, *Steinernema* sp. IBCB n6, *Heterorhabditis* sp. IBCB n10, *Steinernema* sp. IBCB n25 e *H. indica* IBCB n5, os quais proporcionaram níveis de mortalidade do inseto de 33,8; 50; 50; 52,5 e 53,8%, respectivamente, na dosagem de 50 JI/pupa (Figura 7), havendo diferença significativa desses tratamentos com relação à testemunha ($F=17,8$; $P<0,001$). Já os nematóides *S. carpocapsae* IBCB n2 e *Steinernema* SP. IBCB n31 não apresentaram o mesmo desempenho dos demais, com mortalidade do inseto de 11 e 17%, respectivamente, sem diferir significativamente da testemunha ($F=17,8$; $P=0,088$).

Esse estudo demonstra que as pupas de *C. capitata* são suscetíveis a ação de nematóides dos gêneros *Heterorhabditis* e *Steinernema*, com a mortalidade do inseto variando de 50 a 53% para os 5 isolados mais eficientes (*H. indica* IBCB n5, *Steinernema* sp. IBCB n6, *Heterorhabditis* sp. IBCB n10 e *Steinernema* sp. IBCB n25).

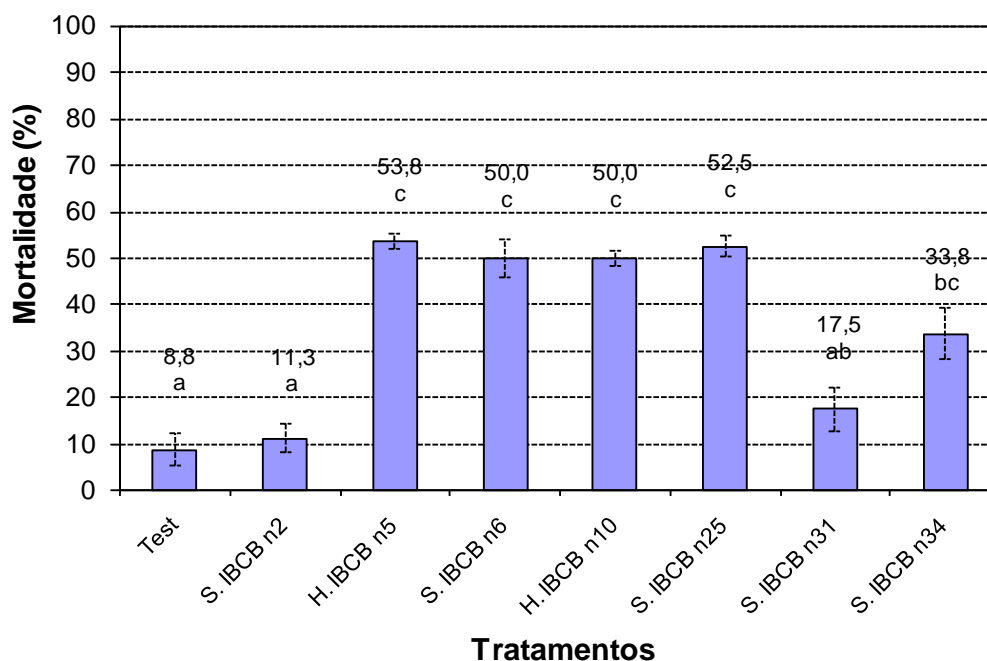


Figura 7. Mortalidade do inseto *C. capitata* exposto na fase de pupa à isolados de nematóides dos gêneros *Steinernema* (S) e *Heterorhabditis* (H) na dosagem de 50 JI/inseto. Barras = erro padrão. Médias seguidas por letras distintas diferem entre si ao nível de 5% de significância pelo teste de Tukey.

Em geral, são poucos os estudos avaliando nematóides entomopatogênicos contra a fase de pupa de mosca das frutas, tendo esses trabalhos apresentado resultados controversos com relação à sua suscetibilidade. Beavers e Calkins (1984) avaliaram a suscetibilidade de diversos estágios de *Anastrepha suspensa* (Loew) a diversos nematóides dos gêneros *Steinernema* e *Heterorhabditis*, obtendo mortalidade de larvas e adultos de até 90,7% e 91,7%, respectivamente. No entanto, a fase de pupa não foi suscetível, obtendo mortalidade máxima de 1,1%, diferentemente dos resultados obtidos no presente estudo. Ainda, Laborta et al. (2003) avaliaram a suscetibilidade de larvas e pupas de *C. capitata* ao produto Biorend C (mistura de *Steinernema* spp. e quitosano, idebio/ABF, Espanha), verificando mortalidade larval superior a 90%, sem efeito sobre a fase de pupa.

Por outro lado, avaliando a patogenicidade de *S. carpocapsae*, *S. riobrave* e *H. bacteriophora* sobre larvas no final do último instar e pupas de *Bactrocera*

zonata (Diptera: Tephritidae) (Saunders), Attalla *et al.* (2002) obteve níveis de mortalidade entre 28,72 e 91,49% para larvas e entre 16,67 e 93,70% para pupas. Koppler *et al.* (2003) avaliaram os nematóides *S. carpocapsae* e *S. feltiae* contra outro gênero de trefítideo, *Rhagoletis cerasi* Loew, obtendo mortalidade de larvas e pupas de 54 e 70%, respectivamente.

O nematóide menos virulento contra pupas de *C. capitata* foi o *S. carpocapsae*, controlando apenas 11% da população do inseto. Em outros estudos, *S. carpocapsae* vem se apresentando bastante virulento para esse inseto, no entanto quando o hospedeiro é usado na fase do último estágio larval. Assim, Rodhe (2007) avaliaram *Steinernema carpocapsae* contra larvas de *C. capitata* e obtiveram 99,49% de mortalidade do inseto na concentração de 274 JI/larva. Da mesma forma, Grewal *et al.* (2001) avaliaram o nematóide *S. carpocapsae* (isolado Mexicano) contra larvas de *C. capitata* e obtiveram mortalidade de 87% na dosagem de até 500 JI/cm².

Ao expor larvas de terceiro instar de *C. capitata* ao nematóide *S. carpocapsae* (AII e Mexicana) em três diferentes dosagens, Lindegren (1990) obteve níveis de mortalidade variando de 46 a 87,2% para AII, e de 91,2 a 99,6% para Mexicana.

A baixa virulência do *S. carpocapsae* (IBCB n2) para pupas conforme observado no presente estudo pode estar relacionado a diversos motivos, sendo um deles decorrente ao comportamento do agente de permanecer na superfície do solo ou próximo dela, geralmente apoiados sobre a cauda, enquanto esperam para atacar insetos que locomovem frequentemente pelo local (comportamento de emboscada) (Alatorre-Rosas & Kaya, 1990; Gaugler *et al.*, 1988). Considerando que a pupa do inseto é imóvel, tendo sido enterrada nos potes a 1 cm de profundidade, estiveram menos expostas à área de ação do nematóide, que se restringe mais a superfície do solo. Por outro lado, a fase de pré-pupa do inseto é relativamente ativa e quando liberadas na superfície tratada do solo, antes de se aprofundarem no substrato, podem ficar mais expostas à ação do nematóide.

7.2 Seleção de isolados – Teste 1 Casa de vegetação

Os nematóides *H. indica* IBCB n5, *S. carpocapsae* IBCB n2, *Steinernema* SP. IBCB n6, *Heterorhabditis* SP. IBCB n10, *Steinernema* SP. IBCB n25, *Steinernema* SP. IBCB n31 e *Steinernema* SP. IBCB n34 testados nas dosagens de 50 e 100 JI/pupa diferiram significativamente da testemunha quanto a mortalidade do inseto (F=

35,549; $P < 0,001$) (Figura 8), tendo o primeiro nematóide (*H. indica*) apresentado os melhores resultados com mortalidade de 59 e 84% para as duas dosagens, respectivamente.

Com relação aos nematóides *Steinernema* SP. IBCB n31 e *S. carpocapsae* IBCB n2, novamente apresentaram os piores resultados, confirmando o teste realizado em laboratório como pouco virulentos à mosca-das-frutas.

Esse teste confirma os resultados obtidos em laboratório com pupa do inseto, sendo o nematóide *H. indica* apresentado como mais virulento. Nesse teste, a dose de 50 JI/inseto proporcionou níveis de mortalidade do inseto, para todos os isolados, semelhantes àqueles obtidos com a mesma dose no teste de laboratório. Isso deve-se a uma melhor padronização da metodologia nas instalações e condução dos ensaios, e ao grande número de repetições (10) utilizadas nos testes, o que resultou na repetibilidade dos dados.

Não houve diferença significativa entre as dosagens para cada nematóide, exceto para o *H. indica* (59% na menor dose e 84% na maior). Essa maior resposta com o aumento da dosagem para esse nematóide foi verificado também por Tavares (2006) quando comparou esse nematóide com o *Steinernema* sp. IBCB n6 contra adultos do bicudo da cana-de-açúcar, *Sphenophorus levis* (Coleoptera: Curculionidae).

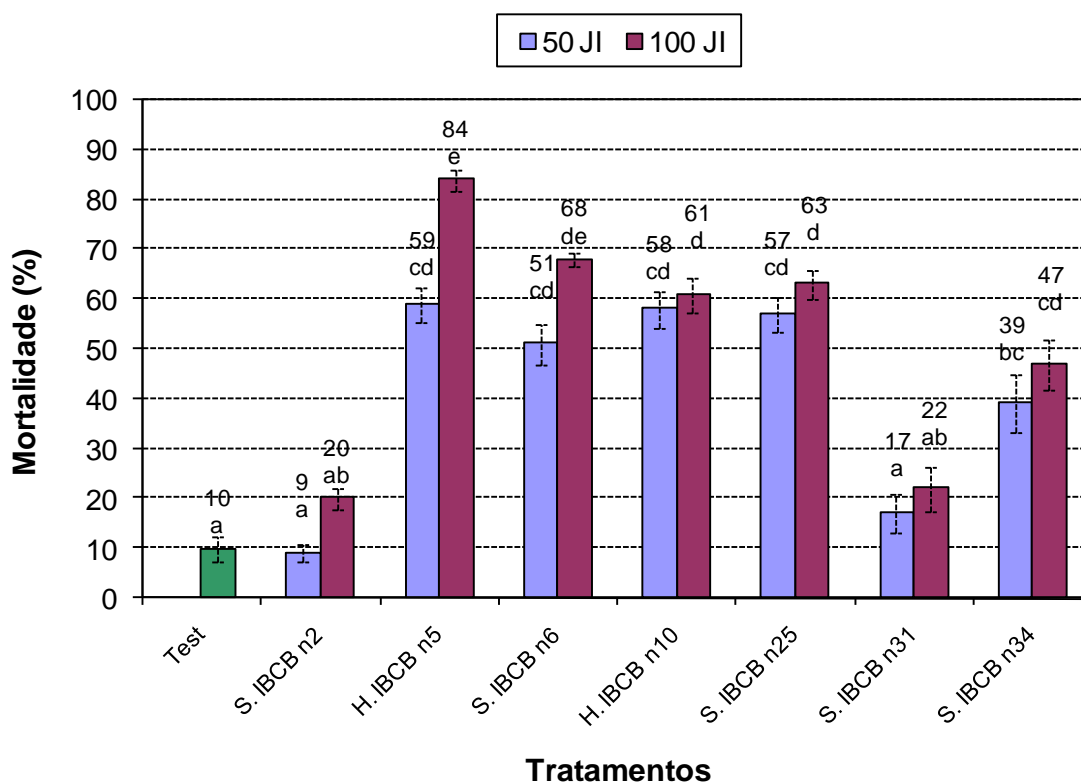


Figura 8. Mortalidade do inseto *C. capitata* exposto na fase de pupa à isolados de nematóides dos gêneros *Steinernema* (*S*) e *Heterorhabditis* (*H*) nas dosagens de 50 e 100 JI/inseto. Barras = erro padrão. Médias seguidas por letras distintas diferem entre si ao nível de 5% de significância pelo teste de Tukey.

7.3 Seleção de isolados -Teste 2 Casa de Vegetação

No teste 2 realizado em casa de vegetação, avaliando os quatro nematóides mais agressivos quanto a sua virulência para *C. capitata*, pela exposição de pupas às dosagens de 100 e 200 JI/inseto, *H. indica* apresentou-se novamente como o mais virulento, diferindo significativamente de todos os demais tratamentos nas duas dosagens testadas ($F= 55,506$; $P<0,001$), com mortalidade do inseto de 88 e 87%, respectivamente (Figura 9). Os demais nematóides, *Heterorhabditis* sp. IBCB n10, *Steinernema* sp. IBCB n25 e *Steinernema* sp. IBCB n6, proporcionaram níveis de mortalidade variando de 56 a 68%, diferindo significativamente também da testemunha ($F= 55,506$; $P<0,001$).

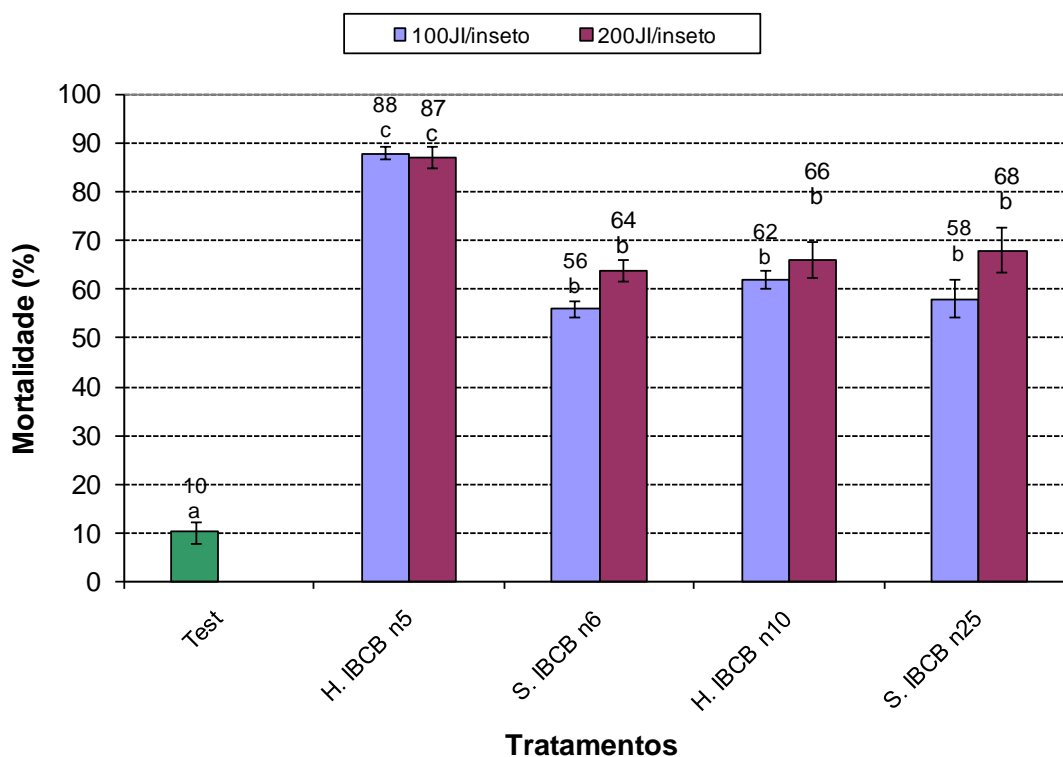


Figura 9. Mortalidade do inseto *C. capitata* exposto na fase de pupa à isolados de nematóides dos gêneros *Steinernema* (*S*) e *Heterorhabditis* (*H*) nas dosagens de 100 e 200 JI/inseto. Barras = erro padrão. Médias seguidas por letras distintas diferem entre si ao nível de 5% de significância pelo teste de Tukey.

Obteve-se a mesma tendência de virulência para os agentes, confirmando a alta repetibilidade dos resultados obtidos nos testes anteriores. Destaca-se o fato de que *H. indica*, testado na dose de 100 JI/inseto, proporcionou mortalidade do inseto no mesmo nível (88%) que no teste anterior (em casa de vegetação), nessa mesma dosagem, sendo que na dose de 200 JI/inseto não houve incremento da taxa de mortalidade (87%). Esse aumento máximo de mortalidade obtido na dose de 100 JI/inseto pode contribuir para a determinação de dosagens recomendadas desse nematóide.

7.4 Teste 3 em Casa de Vegetação

No teste 3 realizado em casa de vegetação, avaliando os quatro nematóides mais agressivos quanto a sua virulência para *C. capitata*, pela exposição das

formas de pré-pupa às dosagem de 50 e 100 JI/inseto, *H. indica* apresentou-se mais uma vez como o nematóide mais virulento, diferindo significativamente dos demais isolados na maior dosagem (Figura 10) ($F= 61,569$; $P<0,001$).

Portanto, confirmam-se, pela terceira vez as tendências de virulência para os diferentes isolados. Esse teste contra pré-pupas apresenta resultados muito semelhantes àqueles do primeiro teste com pupas, ambos utilizando as mesmas dosagens, o que demonstra a mesma suscetibilidade a nematóides para as fases de pré-pupa e pupas de 1 dia do inseto *C. capitata*.

De modo geral, as larvas de insetos como das moscas-das-frutas e do gorgulho-da-goiaba, que atacam a parte aérea da planta, tendem a ser bastante suscetíveis a nematóides entomopatogênicos em estudos de laboratório (Kaya *et al.*, 1993). Considerando que o ambiente preferido dos nematóides para atuação é o solo, as fases alvos potenciais das moscas-das-frutas e do gorgulho-da-goiaba se restringem as fases de pré-pupa e pupa, as quais ocorrem no solo.

Em nosso estudo, a suscetibilidade observada também para a fase de pupa com um dia de idade, além da fase de pré-pupa, pode contribuir para o controle da mosca-do-mediterrâneo a campo empregando-se nematóides entomopatogênicos, já que a limitação da suscetibilidade apenas à fase de pré-pupa, com 3–6 horas de duração, poderia deixar o inseto pouco exposto à ação de nematóides. Visando conhecer melhor a suscetibilidade da mosca-do-mediterrâneo a nematóides entomopatogênicos, enquanto o inseto permanece no solo, novos estudos devem ser realizados para avaliar a suscetibilidade de pupas com diferentes idades, por um período de 10 dias que é o tempo de duração dessa fase na temperatura de 25°C (Raga *et al.*, 1997).

Tratamentos

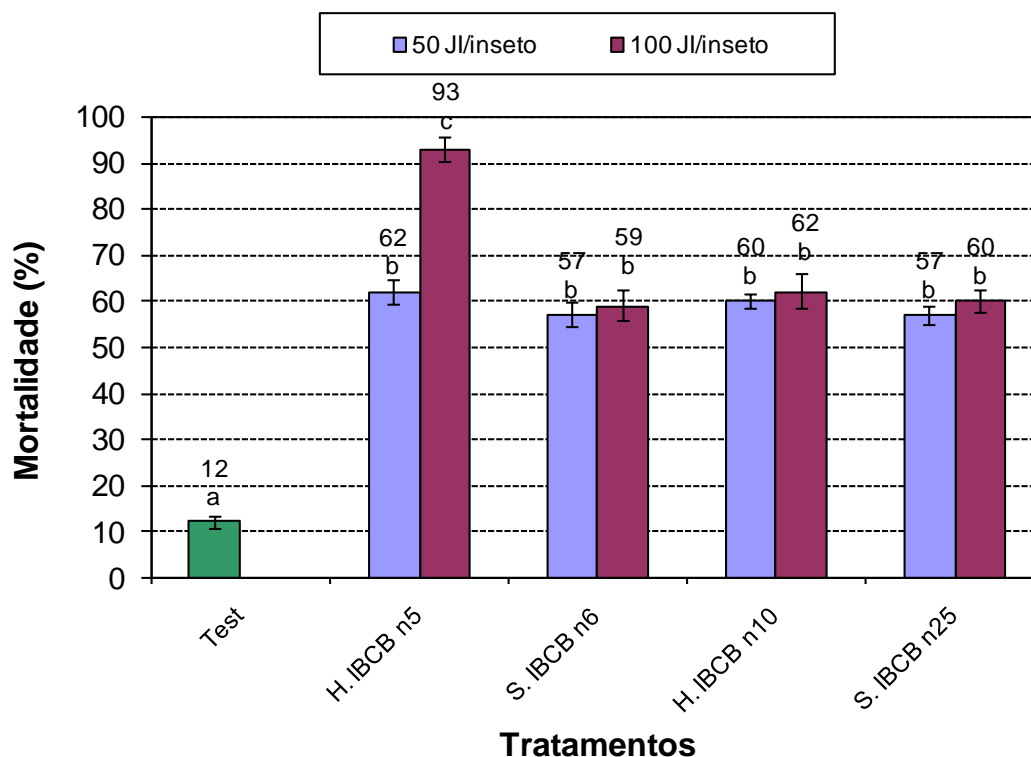


Figura 10. Mortalidade do inseto *C. capitata* exposto na fase de pré-pupa à isolados de nematóides dos gêneros *Steinernema* (*S*) e *Heterorhabditis* (*H*) nas dosagens de 50 e 100 JI/inseto. Barras = erro padrão. Médias seguidas por letras distintas diferem entre si ao nível de 5% de significância pelo teste de Tukey.

7.5 Teste de campo

No teste de campo, procurando avaliar o efeito de *H. indica* IBCB-n 05 na mortalidade da mosca-de-mediterrâneo e do gorgulho-da-goiaba, todos os tratamentos com nematóide diferiram significativamente da testemunha ($F=37,236$; $P<0,001$) (Figura 5). *Heterorhabditis indica* mostrou-se bem mais eficiente contra a mosca-das-frutas, com mortalidade do inseto de 66% e 93% nas dosagens de 1 e 10 JI/cm², respectivamente, do que contra o gorgulho-da-goiaba, com mortalidade de 33% e 50%, respectivamente.

Os níveis de mortalidade observados de *C. capitata*, obtidos com a dosagem de 1 JI/cm² a campo, foram ligeiramente superiores comparados com aqueles obtidos em laboratório e casa de vegetação, quando o nematóide foi avaliado na dosagem de 50 JI/inseto (mortalidades do inseto variando de 53,8 a 59%), independentemente se

testado em pré-pupa ou pupa do inseto. Esse fato, sugere que a dose de 1 JI/cm^2 , aplicada em uma área de 6 m^2 ($2 \times 3 \text{ m}$) contendo 36 insetos na fase de pré-pupa, agrupados em seis pontos da área, equivale à dosagem de pelo menos 50 JI/inseto testada em laboratório. Dessa forma, considerando que cada inseto pode ter sido atacado por 50 juvenis infectivos, seis insetos agrupados em cada envelope poderiam ter sido atacados por 300 nematóides, ou seja, pelos nematóides presentes em uma área com pelo menos 10 cm de raio. Segundo Leite & Ferraz (No prelo), algumas espécies de nematóides entomopatogênicos, entre eles *H. indica*, atuam na forma de procura ou perseguição (“cruiser nematodes”), chegando a deslocar-se a 25 cm de profundidade no solo na busca de insetos sedentários, de pouca mobilidade. No geral, nematóides entomopatogênicos localizam o inseto hospedeiro pela detecção de produtos de excreção liberados por este no ambiente e pela percepção de gradientes de temperatura e de níveis de CO_2 ocorrentes à medida que os dois organismos se aproximam.

Toledo *et al.* (2005) avaliaram a virulência de *H. bacteriophora* sobre larvas de *Anastrepha ludens* (Loew), obtendo CL50 de 115 JI/cm^2 em laboratório. Em condições de campo foi obtido mortalidade do inseto de 47 e 76% nas concentrações de 115 e 345 JI/cm^2 , respectivamente. Essa mortalidade foi obtida com uma dosagem muito superior à aquelas utilizadas no presente teste de campo, de 1 e 10 JI/cm^2 , as quais proporcionaram níveis de mortalidade superiores (de 67 e 93%, respectivamente).

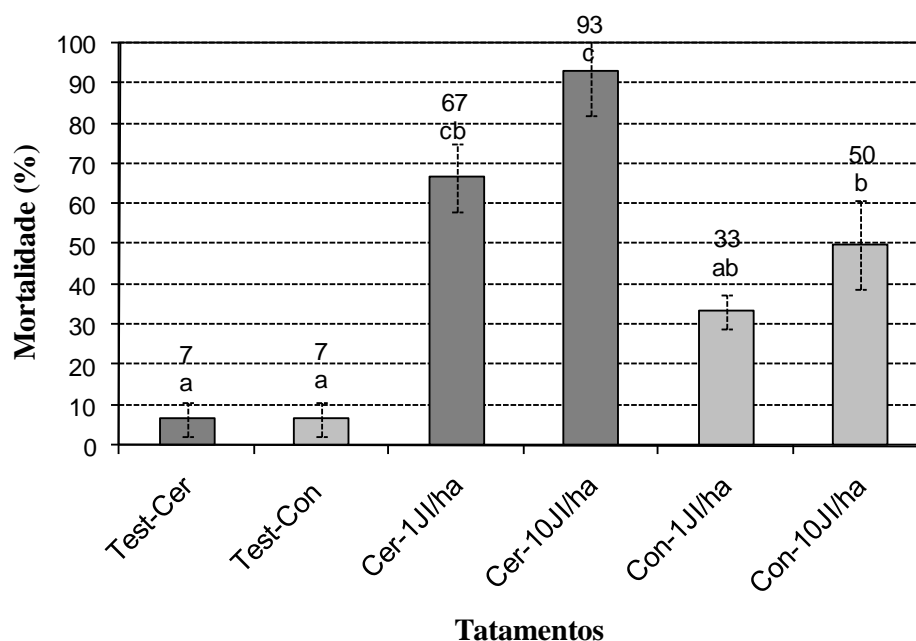


Figura 11. Mortalidade dos insetos de *Ceratitidis capitata* e *Conotrachellus psidii* expostos na fase de pré-pupa ao nematóide *Heterorhabditis indica* IBCB n5 nas dosagens de 1 e 10 JI/cm². Test-Cer = testemunha *Ceratitidis*, test-Com = testemunha *Conotrachellus*, Cer = *C. capitata* e Con = *C. psidii*. Barras = erro padrão. Médias seguidas por letras distintas diferem entre si ao nível de 5% de significância pelo teste de Tukey.

A eficiência de *H. indica* contra o gorgulho-da-goiaba foi relativamente muito baixa, com mortalidade observada entre 33 e 50% para as dosagens de 1 e 10 JI/cm², respectivamente. Diversos estudos foram realizados com nematóides entomopatogênicos visando o controle do gorgulho da goiaba, tendo sido verificado por Dolinski *et al.* (2006), em teste de laboratório, que o nematóide *H. indica* Hom 1 é um dos isolados mais virulentos para larvas de último instar do inseto, juntamente com o *H. baujardi*. Nesse mesmo estudo o nematóide *H. baujardi* foi avaliado em casa de vegetação contra larvas de *C. psidii* nas dosagens equivalentes a 100 e 200 JI/inseto, tendo proporcionado mortalidades que variaram de 30 a 58%, semelhantes aquelas obtidas no presente ensaio a campo.

Resultados semelhantes ao do presente ensaio também foram obtidos por Del Valle *et al.* (2008) quando avaliaram o efeito de *H. baujardii* na mortalidade de *C. psidii*, mediante o enterrio de larvas de *G. mellonella* infectadas com o

nematóide em potes contendo quatro larvas do gorgulho-da-goiaba, mantidos em casa de vegetação. Os autores obtiveram níveis de mortalidade de até 51%, na dosagem de 6 larvas infectadas por pote. Nesse mesmo estudo, avaliando as mesmas dosagens em teste de campo, esses autores obtiveram diferenças significativas na mortalidade do *C. psidii* em relação à testemunha, somente quando o nematóide foi aplicado em dosagem muito elevada, ou seja, seis larvas infectadas por parcela de 0,25 m² contendo 50 larvas do gorgulho, o que representa 24.000 larvas infectadas de *G. mellonella*/ha.

É evidente a necessidade de se utilizar dosagens relativamente elevadas de *H. indica* e *H. baujardii* para se obter níveis de mortalidade satisfatórios de *C. psidii*. Essa suscetibilidade relativamente baixa da fase de pré-pupa do *C. psidii* a nematóides entomopatogênicos deve-se a um engrossamento no tegumento do inseto quando alcança essa fase conforme descrito por Del Valle *et al.* (2008). Segundo esses autores, essa fase é morfológicamente semelhante à fase larval de último instar, porém de menor tamanho, havendo uma perda de umidade a partir do tegumento do inseto no processo de transição para a fase de pré-pupa.

No presente teste de campo, foi observada a formação de um envoltório ao redor do corpo do gorgulho-da-goiaba, construído provavelmente pela aglomeração de argila com a umidade exaurida pelo tegumento do inseto. Esse envoltório não foi observado dentro de potes plásticos (300mL) contendo areia, sugerindo que algum material presente no solo da região, como húmus por exemplo, além da umidade exaurida pelo tegumento, pode ter contribuído para a formação do envoltório. Esse envoltório, além do tegumento mais espesso do inseto na fase de pré-pupa, pode elevar a proteção ao gorgulho contra nematóides entomopatogênicos ao longo dos 6 meses que permanece enterrado no solo na fase de pré-pupa.

A metodologia utilizada nesse ensaio de campo parece bastante adequada, já que ocorreu baixa mortalidade de *C. capitata* e de *C. psidii* na testemunha, de 6,6% após 12 dias da aplicação. Diferentemente, em teste de campo realizado por Del Valle *et al.* (2008), a mortalidade do gorgulho-da-goiaba no tratamento testemunha foi de 80%.



Figura 12. Envoltório ao redor do inseto

8. CONCLUSÕES

A mosca-das-frutas *C. capitata* é suscetível aos nematóides entomopatogênicos avaliados neste trabalho quando exposta aos agentes no estágio de pré-pupa e fase de pupa com 1 dia de desenvolvimento;

O nematóide *H. indica* IBCB n5 mostrou-se como o mais virulento para o inseto *C. capitata* exposto ao agente no estágio de pré-pupa e fase de pupa com 1 dia de desenvolvimento;

O nematóide *H. indica* IBCB n5 é mais virulento para *C. capitata* do que para *C. psidii* em teste de campo.

Trabalhos de seleção de isolados, dosagem, viabilidade econômica e permanência dos nematóides entomopatógenos no campo, são de extrema importância e devem ser incentivados.

9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGRIANUAL FNP CONSULTORA E COMÉRCIO. **Anuário estatístico da agricultura brasileira**. São Paulo, p. 360-365. 2000.

ALATORRE-ROSAS, R. & KAIA, H, K. Interspecific competition between entomopathogenic nematodes in the genera *Heterorhabditis* and *Steinernema* for an insect host in sand. **Journal of Invertebrate Pathology**, v.55, p. 179-188. 1990.

AMARO, A. O mercado interno de frutas in natura. In: **Congresso Brasileiro de Fruticultura**, Pelotas, Brasil, 1979. p.1172-1186.

ANUÁRIO BRASILEIRO DA FRUTICULTURA. Santa Cruz do Sul: Ed. Gazeta Santa Cruz, 2003, 136 p.

ARTHUR, V.; WIENDL F.M.; WIENDL, J.A. Controle de *Ceratitis capitata* (Wied., 1824) (Diptera, Tephritidae) em pêssegos (*Prunus persica*) infestados artificialmente, através das radiações gama do Cobalto-60. **Revista de Agricultura**, Piracicaba, 1993. (No prelo).

ASSIS, J. S. Cultivo da mangueira: colheita e pós-colheita. Petrolina, PE: (Embrapa Semi-árido. Sistema de Produção, 2). Versão Eletrônica. 2004.

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

- BAILEZ, O.E., VIANA-BAILEZ, A.M.M Comportamento reprodutivo do gorgulho-da-goiaba *Conotrachelus psidii* Marshall (Coleoptera: Curculionidae). In: **XIX Congresso Brasileiro de Etologia**, Juiz de Fora, Brasil. 2001. BAILEZ, O.E., VIANA-BAILEZ, A.M.M., LIMA, J.O.G. DE., MOREIRA, D.D.O. Life-History of The Guava Weevil, *Conotrachelus psidii* Marshall (Coleoptera: Curculionidae), Under Laboratory Conditions. **Neotropical Entomology** v.32, n.2, p.203-207. 2003.
- BARROS, MD. Estudo da estratégia de ovoposição entre três espécies de tefritídeos (Diptera) no Estado de São Paulo. São Paulo— Instituto de Biociências, USP, 1988, 134p. Dissertação de Mestrado.
- BEAVERS, J.B. AND CALKINS, C.O. Susceptibility of *Anastrepha suspensa* (Diptera; Tephritidae) to steinernematid and heterorhabditid nematodes in laboratory studies. **Environmental Entomology** v.13, p.137-139. 1984.
- BODENHEIMER, F.S. *Citrus entomology in the Middle East*. Junk Ed., The Hague. 1951.
- BOLLEN, A. F.; RUE, B. T. D. Hydrodynamic heat transfer a technique for disinfestations **Posth. Biol. Technol.**, v.17, n. 2, p. 137-141, 1999.
- BONDAR, G. *Bicho das goiabas Conotrachelus psidii* Marshall. **Boletim Laboratório Patologia Vegetal** (Brasil), v.1, p.17. 1924.
- BOSCÁN DE MARTÍNEZ, N., CÁSALES, R. El gorgojo de la guayaba *Conotrachelus psidii* Marshall (Coleoptera: Curculionidae). I. Evaluación de daños. **Agron. Tropical**. v.30, p.77-83. 1980.
- BOSCÁN DE MARTÍNEZ, N., CÁSALES, R. Distribución en el tiempo de las fases del gorgojo de la guayaba *Conotrachelus psidii* Marshall (Coleoptera: Curculionidae) en el campo. **Agron. Tropical**. v.31, p.123-130. 1983.
- CAMPUS, L. **Análise faunística e fl utuação das moscadas-frutas (Diptera: Tephritidae) infl uenciadas por fatores ecológicos no Distrito de Mazomba, Itaguaí, RJ**. Dissertação de mestrado, UFRRJ, Seropédica, 78p. 1995.
- CAREY, IR., DOWELL, R. Exotic fruit fly pest and california agriculture. **California Agriculture**. p. 38-40, 1989.
- CARRARO, A., CUNHA, M. **Manual de exportação de frutas**. Brasília, MAARASdr-Frupex, IICA. 254 p. 1997.
- CARVALHO, R.S., HAJI, F.N.P, MIRANDA, I. da G. et ai. Levantamento de moscas-das-frutas na região do submédio São Francisco. In: **CONGRESSO BRASILEIRO DE ENTOMOLOGIA XII**, Recife Resumo, 1991. 615 p.
- CERDA, H., FERNANDEZ, G., LOPEZ, A., VARGA, J. Olfactory Attraction of the Sugar Cane Weevil (Coleoptera: Curculionidae) to Host Plant Odors, end Its Aggregation Pheromone. **Fla. Entomol.** v.82, n.1, p.103-112. 1999.
- CHOUDHURY, M.M. **Goiaba: Pós-colheita**. Petrolina: Embrapa Semi -árido, 45p. 2001.

- DEL VALLE, ELEODORO E., DOLINSKI, CLAUDIA, BARRETO, EDUARDO L. S., SOUZA, RICARDO M. AND SAMUELS, RICHARD I. (2008) 'Efficacy of **Heterorhabditis baujardi** LPP7 (Nematoda: Rhabditida) applied in **Galleria mellonella** (Lepidoptera: Pyralidae) insect cadavers to **Conotrachelus psidii**, (Coleoptera: Curculionidae) larvae', *Biocontrol Science and Technology*, 18:1, 33 -41
- DOLINSKI, C. DEL VALLE, E., STUART, R. J. Virulence of entomopathogenic nematodes to larvae of the guava weevil, *Conotrachelus psidii* (Coleoptera: Curculionidae), in laboratory and greenhouse experiments *Biological Control* 38 (2006) 422-427
- EHLERS, R.U. Mass production of entomopathogenic nematodes for plant protection. **Appl. Microbiol. Biotechnol.**, v. 56, p. 623-633. 2001.
- EMBRAPA 2007, www.embrapa.gov.br/noticias/2007/janeiro/foldernoticia
- ELLER, F., BARTELT, R., SHASHA, B., SCHUSTER, D., RILEY, D., STANSLY, P., MUELLER, SHULER, K., JHONSON, B., DAVIS, J., SUTHERLAND, K. Aggregation pheromone for the pepper weevil, *Anthonomus eugenii* Cano: Identification and field activity. **J. chem. Ecol.** v.20, p.1537-1555. 1994.
- FERRAZ, L.C.C.B. Nematóides entomopatogênicos. In: **Controle Microbiano de Insetos**, ALVES, S.B. (ed.). FEALQ, Piracicaba, 1998, p. 541-569.
- FLEICHER, RS. **Life history strategies of tephritid fruit flies**. In: Robison, A.S. Hooper, G. ed. *Fruit flies their biology, natural enemies and control.*. Amsterdam, Elsevier, 1989.
- FONSECA, J.P., AUTUORI, M. Os bichos dos fruto. **O Biológico**, p. 351-359, 1936
- GALLO, D., NAKANO, O., SILVEIRA NETO, S., CARVALHO, R.P.L. DE, BATISTA, G.C., BERTI FILHO, E., PARRA, J.R.P., ZUCHI, R.A., ALVES, S.B. **Manual de Entomologia Agrícola**. São Paulo, Ed. Agronômica Ceres, 2002. 531p.
- GAUGLER, R. Ecological considerations in the biological control of soil-inhabiting insects with entomopathogenic nematodes. **Agricult., Ecosyst. and Environ.** v.24, p.351 360. 1988.
- GAZIT, Y.; WONG, T.T.; Mcinnis, D.O. Response of Mediterranean fruit flt (Diptera: Tephritidae) to the entomogenous nematode *Steinernema feltiae* in field test in Hawaii. *Environ. Entomol.*, v.19, p.383-386,1990.
- GEORGIS, R.; HOM, A. Introduction of entomopathogenic nematode products into Latin America and the Caribbean. **Nematropica**, v. 22, n. 1, p. 81-98. 1992.
- GILBLIN-DAVIS, R.M., OEHLISCHLAGER, A.C., PEREZ, A., GRIES, G., GRIES, R., WEISSLING, T.J., CHINCHILLA, C.M., PEÑA, J.E., HALLETT, R.H., PIERCE, H.D., GONZALEZ, L.M. Chemical and Behavioral Ecology of Palm Weevils (Curculionidae: Rhynchophorinae). **Fla. Entomol.** v.79, n.2, p.153-167. 1996.

- GLAZER, I. Survival Biology. In: GAUGLER, R. (Ed). **Entomopathogenic Nematology**. New Jersey: Rutgers University, p. 169-187, 2002.
- GOULART, R. M.; TAVARES, F. M.; LEITE, L. G.; MACHADO, L. A.; BATISTA FILHO, A.; ALMEIDA, J. E. M. Formação de um banco de nematóides entomopatogênicos no Instituto Biológico, SP. In: **SIMPÓSIO DE CONTROLE BIOLÓGICO, 8.**, 2003, São Pedro, **Livro de Resumos...** São Pedro: 2003. p. 83.
- GREWAL, P. S. Anhydrobiotic potencial and long-term storage of entomopathogenic nematodes (Rhabditida: Steinernematidae). **International Journal for Parasitology**. V. 30, p. 995-1000, 2000.
- HERNANDEZ-ORTIZ, V. & M. ALUJA. 1993. Listado do gênero neotropical *Anastrepha* (Diptera: Tephritidae) com notas sobre su distribución y plantas hospederas. **Folia Entomol. Mexicana**. v.88, p.89-105. 1993.
- HOFFMANN, E.J., COOMBS, A.B., WHALON, M.E. Reproductive Development of Northern and southern strains of plum curculio (Coleoptera: Curculionidae). *J. Econ. Entomol.*v. 97, v.1, p.27-32. 2004.
- HOMINICK, W. M. Biogeography. In: GAUGLER, R. (Ed). **Entomopathogenic Nematology**. Rutgers University: New Jersey, p. 115-143, 2002.
- HUNT, D.W.A., RAFFA. K.F. Attraction of the pine root collar weevil, *Hylobius radialis*, and the pitch-eating weevil, *Pachylobius picivorus* (Coleoptera:Curculionidae), to ethanol and turpentine in pitfall traps. **Environ. Entomol.**v.18, p.351-355. 1989.
- IBGE *Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística*. Produção Agrícola. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br> . Acesso em: 26 de dezembro de 2007. 2007.
- IHERING, H. von. Laranjas bichadas. **Revista Agricultura**, v. 6, 179 p. 1901.
- INNOCENZI, P.J., HALL, D.R., CROSS, J.V. Components of male aggregation pheromone of strawberry blossom weevil, *Anthonomus rubi* Herbst (Coleoptera: Curculionidae). **J. Chem. Ecol.** v.27, v.6, p.1203-1212. 2001
- JACKLIN, S.W., YONCE, C.E. Emergence, longevity and Fecundity of Adult Plum Curculio reared from two sizes of larvae at two temperatures in soil with a range of moisture. **J. Econ. Entomol.** v.63, p.673-674. 1970.
- JAFFÉ, K., SANCHEZ, P., CERDA, H., URDANETA, N.; HERNANDEZ, J.V., JAFFÉ, R., MARTINEZ, R., MIRAS, B. Chemical ecology of the palm weevil *Rhynchophorus palmarum* L. (Coleoptera: Curculionidae): Attraction to host plants and to male produce aggregation pheromone. **J. chem. Ecol.** v.19, n.8, p.1703-1720. 1993.
- JANSSON, R., MASON, L., HEATH, R., SORENSEN, K., HAMMOND, A., ROBINSON, J. Pheromone trap monitoring system for sweet potato weevil in the southern United States: Effects of trap type and pheromone dose . **J. Econ. Entomol.** v.85, p.416-423. 1992.

- KAYA, H.K.; BEDDING, R.A.; AKHURST, R.J. An overview of insect-parasitic and entomopathogenic nematodes. In: **Nematodes and the Biological Control of Insect Pests**, BEDDING, R.A.; AKHURST, R.J.; KAYA, H.K. (eds). CSIRO, Australia, 1993, p. 1-10.
- KOOPLER, K.; PETERS, A.; VOGT, H. First results of the use of entomopathogenic nematodes against the cherry fruit fly *Rhagoletis cerasi* L. **DgaaE-Nachrichten**. V.17, n. 1. p. 14-15, 2003
- LABORDA, R., L. BARGUES, C. NAVARRO, O. BARAJAS, M. ARROYO, E.M., GARCIA, E. MONTORO, E. LLOPIS, A. MARTINEZ & J.M. SAYAGUES. Susceptibility of the Mediterranean fruit fly (*Ceratitidis capitata*) to entomopathogenic nematode *Steinernema* spp. ("Biorend C"). **Bull. OILB/SROP** v.26, p. 95-97. 2003.
- LAURENCE, C.D. Seasonal Abundance and impact of the sunflower stem weevil parasitoid, *Nealiolus curculionis* (Hymenoptera: Braconidae), in the Northern Great Plains, *Biol. Cont.* v.4, p.26-31. 1994.
- LEITE, L.G.; FERRAZ, L.C.C.B. Nematóides entomopatogênicos. In: Soares, I.; Azevedo, J.L. (Eds.) **Controle Biológico**, 4, Embrapa/CNPMA, Jaguariuna. No prelo.
- LESKEY, T.C., PROKOPY, R.J. Sources of apple odor attractive to adult plum curculios. **J. Chem. Ecol.** v.26, n.3, p.639-653. 2000.
- LINDEGREN, J.E., T.T. WONG & D.O. MCINNIS. Response of Mediterranean fruit fly (Diptera: Tephritidae) to the entomogenous nematode *Steinernema feltiae* in field tests in Hawaii. **Environ. Entomol.** v.19, p.383-386. 1990.
- LIQUIDO, N.J.; S HINODA, L.A.; C UNNINGHAM, R.T. Host plants of the Mediterranean fruit fly (Diptera: Tephritidae): an annotated world review. **Miscellaneous Publications of the Entomological Society of America**, n.77, p.1-52, 1991
- LOYA, L. J.; HOWER JR, A. A. Infectivity and reproductive potencial of the Oswego strain of *Heterorhabditis bacteriophora* associated with life stages of the clover root curculio, *Sitona hispidulus*. **Journal of Invertebrate Pathology**, San Diego, v. 83, p. 63-72, 2003.
- MACHADO, L.A. 1988. Criação de insetos em laboratório para utilização em pesquisas de controle biológico. In: CRUZ, B.B. (ed). **Pragas das Culturas e Controle Biológico**. Fundação Cargill, Campinas, p. 8-35.
- MALAVASI, A. *et al.* Mosca-das-frutas no MIP-Citros, In: **SEMINÁRIO INTERNACIONAL DE CITROS-MIP**, 3., 1994, Campinas, *Anais...* Campinas, 1994. p.310.
- MALAVASI, A., MORGANTE, J.S., ZUCCHI R.A. Biologia das moscas-das-frutas (Diptera Tephritidae). I. Lista de hospedeiros e ocorrência. **Revista Brasileira de Biologia**. v. 40, p. 9-16, 1980.
- MARTINS, J.C. **Aspectos biológicos de Anastrepha fraterculus (Wied. 1830) em dieta artificial sob diferentes condições ambientais**. Piracicaba, ESALQ, USP, 1986, 79 p. Dissertação de Mestrado.

- MCCOY, C. W.; SHAPIRO-ILAN, D. I.; DUNCAN, L.W.; NGUYE, K. Entomopathogenic nematodes and other natural enemies as mortality factors for larvae of *Diaprepes abbreviatus* (Coleoptera: Curculionidae). **Biological Control**, Orlando, v. 19, p. 182-190, 2000.
- MEDINA, J.C. Cultura, p.1-121. In J.C. MEDINA, J.V., CASTRO, J.M.M., SIGRIST, Z.J., MARTIN, K., KATO, M.L., MAIA, A.E.B., GARCIA, R.S. E LEITE, S.F. (eds), **Goiaba**. ITAL Campinas, ICEA Gráfica e Editora Ltda., 1991. 224p.
- MENDES, A.C.B., GARCIA, J.J.S., RIBEIRO, N.C.A., TREVISAN, O. Danos de *Conotrachelus humeropictus* Fiedler, 1940 (Coleoptera: Curculionidae): Nova Praga do Cacaueiro (*Theobroma cacao* L.) na Amazônia Brasileira. **An. Soc Entomol. Brasil**, 17(supl.). 1988.
- NACAGAWA, S.; FARIAS, G. J.; STEINER, L. F. Response of female mediterranean fruit flies to male lures in the relative absence of males. **Journal Economic Entomology**, Lanham, v.63, n.1, p.227-229, 1970.
- NASCIMENTO, A.S., ZUCCHI, R.A., MORGANTE, J.S. et al. Bioecologia das moscas-das-frutas *Anastrepha* spp (Diptera: Tephritidae) e do parasito *Doryctobracon areolatus* (Hymenoptera: Braconidae). EMBRAPA, Boletim Técnico, v. 1, p. 1-3, 1981.
- NORRBOM, A.L., KIM, K.C. A list of the report host plants of the species of *Anastrepha* (Diptera: Tephritidae). Washington, D.C., USDA, 1988. p. 114 (APHIS 81-52).
- O'BRIEN, C.W., COUTURIER, G. Two New Agricultural Pest Species of *Conotrachelus* (Coleoptera: Curculionidae: Molytinae) In South America. **Ann. Soc. Entomol. Fr. (N.S.)**, v.31, n.3, p.227-235. 1995.
- ORLANDO, A., SAMPAIO, A.S., CARVALHO, A., SACARANARI, H.J., ARRUDA, H.V. Notas sobre o Gorgulho das Goiabas *Conotrachelus psidii*, Marshall, 1922 (Coleoptera: Curculionidae), e experimentos de combate. **O Biológico**, (Brasil), São Paulo, v.40, n.1, p.251-269. 1974.
- PARRA, J.R.P, P.S.M. BOTELHO, B.S. CORRÊA-FRERREIRA & J.M.S. BENTO. Controle biológico: Uma visão inter e multidisciplinar, p.125-137. In J.R.P. PARRA (ed.), **Controle biológico no Brasil**. São Paulo, Manole, 2002. 609p.
- PATEL, M. N.; WRIGHT, D. J. Fatty acid composition of neutral lipid energy reserves from infective juveniles of entomopathogenic nematodes. **Comparative Biochemistry and Physiology**, v. 118B, p. 341-348, 1997.
- PEREIRA, F.M., MARTINEZ JR., M. **Goiabas para a industrialização**. Jaboticabal: UNESP, p.13-22. 1986.
- PHILLIPS, J.K., WAGENBACH, C.A. KLEIN, J.A., BURKHOLDER, W.E., SCHMUFF, N.R., PHILLIPS, T., JIANG, X., BURKHOLDER, W., PHILIPS, J., TRAN, H. Behavioral responses to food volatiles by two species of stored-product Coleoptera, *Sitophilus oryzae* and *Tribolium castaneum*. **J. Chem. Ecol.** v.19, p.723-734. 1993.

- RACETTE, G., CHOUINARD, G., HILL, S., VINCENT, C. Activity of Plum Curculio (Coleoptera: Curculionidae) on apple trees in spring. **J. Econ. Entomol.** v.84, p.1827-1832. 1991.
- RAGA, A., M.F. SOUZA FILHO, V. ARTHUR, M.E. SATO, L.A. MACHADO AND A. BATISTA FILHO Observações sobre a incidência de moscas-das-frutas em frutos de laranja (*Citrus sinensis*). **Arq. Inst. Biol.**, v. 64, n.2, p.125-129. 1997.
- RAGA, A.; PRESTES, D.A.O.; SOUZA FILHO, M.F.; SATO, M.E.; SILOTO, R.C.; GUIMARÃES, J.A.; ZUCCHI, R.A. Fruit fly (Diptera: Tephritoidea) infestation in citrus in the State of São Paulo, Brazil. **Neotropical Entomology**, v.33, n.1, p.85-89, 2004.
- RAGA, A.; SOUZA FILHO, M.F.; ARTHUR, V.; MARTINS, A.L.M. Avaliação da infestação de moscas-das-frutas em variedades de café (*Coffea* spp.). **Arq. Inst. Biol.**, São Paulo, v.63, n.2, p. 59-63, 1996 A.
- RAGA, A.; SOUZA FILHO, M.F.; SATO, M.E.; CERÁVOLO, L.C. Dinâmica populacional de adultos de moscas-das-frutas (Diptera: Tephritidae) em pomar de citros de Presidente Prudente, SP. **Arquivos Instituto Biológico**, São Paulo, v.63, n.2, p.23-28, 1996 B.
- ROCHAT, D., MALOSSE, C., LETTERE, M., DUCROT, P.H., ZAGATTI, P., RENOU, M., DESCOINS, M. (1991). Male-produced Aggregation Pheromone of the American Palm Weevil, *Rhynchophorus palmarum* (L.) (Coleoptera: Curculionidae). Collection, Identification, Electrophysiological Activity, and Laboratory Bioassay. **J. Chem. Ecol.** 17:2127-2141.
- RODHE, C. **Avaliação de ematóides entomopatogênicos (Rhabditida) para o controle da mosca-das-frutas *Ceratitis capitata* (Wiedemann) (Díptera: Tephritidae).** Dissertação (Mestrado em Agronomia/Entomologia) – Lavras – Minas Gerais. Universidade Federal de Lavras, 74p. 2007.
- SAMPAIO, A. O gorgulho-da-goiaba tem agora um moderno controle. **Correio agrícola**, v.2, p.20-21. 1975.
- SAMPAIO, A. Gorgulho apodrece goiabas. **Agricultura e Pecuária** v.619, p.40-41. 1977. SEBRAE-RJ, *Informe do Pólo de Fruticultura do Norte/Noroeste do Estado do Rio de Janeiro*. Publicação Mensal, ano 3, nº 7, setembro. 2003.
- SELA, S.; NESTEL, D.; PINTO, R.; NEMNY-LAVY, E.; BAR-JOSEPH, M. Mediterranean fruit fly as a potential vector of bacterial pathogens. **Applied and Environmental Microbiology**, v.71, n.7, p.4052-4056, 2005.
- SOBRINHO, R.B.; CARDOSO, J.E., FREIRE, F.C.O. **Pragas de fruteiras tropicais de importância agroindustrial.** Serviço de produção de informações -Embrapa-SPI, Brasília-DF; Fortaleza: Embrapa-CNPAT, 1998. 209p.
- SOUZA FILHO, M.F. & RAGA, A. Moscas-da-frutas. Mudanças nas condições climáticas favorecem o aumento desses insetos. **Citricultura Atual**, Cordeirópolis, v.1, n.4, p.12, 1998.

SOUZA FILHO, M.F. **Biodiversidade de moscas-das-frutas (Diptera: Tephritidae) e seus parasitóides (Hymenoptera) em plantas hospedeiras no estado de São Paulo.** Dissertação de Mestrado, ESALQ/USP, Piracicaba, 1999. 173p.

SOUZA FILHO, M.F.; RAGA A.; ZUCCHI, R.A. Moscas-das-frutas no estado de São Paulo: ocorrência e danos. **Laranja**, v.24, n.1, p.45-69, 2003.

SOUZA, H.M.L., CYTRYNOWICZ, M., MORGANTE, J.S. et al. Occurrence of *Anastrepha fraterculus* (Wiel.), *Ceratitidis capitata* and *Silba* spp eggs in oviposition punctures on three host fruits. **Revista Brasileira de Entomologia**, v. 27, p. 191-195, 1983.

STARK, J.E.P E LACEY, L.A. Susceptibility of western cherry fruit fly (Diptera: Tephritidae) to five species of entomopathogenic nematodes in laboratory studies. *J. Invertbr. Phatol.*, v.74, p.206-208, 1999.

TAVARES, F. M, **AVALIAÇÃO DE NEMATÓIDES ENTOMOPATOGÊNICOS CONTRA O BICUDO DA CANA-DE-AÇUCAR *Sphenophorus levis* VAURIE, 1978, E EFEITO DA ASSOCIAÇÃO DESSES AGENTES COM INSETICIDAS QUÍMICOS**-Botucatu, (s.n). Dissertação (Mestrado) –Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrônômicas. 2006. 61p.

TIGLIA, E.A., VILELA, F., MOURA, J.I.L., LIMA, E.R. Captura de *Rhynchophorus palmarum* (L.) (Coleoptera Curculionidae) com Substâncias Atrativas e Feromônio. *In: XV Congresso Brasileiro de Entomologia*, Caxambu, MG. 1995.

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

WHITE, I.M. & M.M. ELSON-HARRIS. **Fruit flies of economic significance: Their identifications and bionomics.** Wallingford, CAB International, 1992. 601p.

ZAMBÃO, J.C., BELLINTANI NETO, A.M. A Cultura da Goiaba. Campinas: CATI, 23p. 1998. (Bol. Téc.,n° 236).

ZUCCHI, R.A. Espécies de *Anastrepha*, sinónímias, plantas hospedeiras e parasitóides, p. 41-48. *In: A. MALAVASI & R.A. ZUCCHI (eds.), Moscas-das-frutas de importância econômica no Brasil.* Conhecimento básico e aplicado. FAPESP -Holos Editora, Ribeirão Preto, 2000. 327p.

ZUCCHI, R.A. Mosca-do-mediterrâneo, *Ceratitidis capitata* (Diptera: Tephritidae). *In: VILELA, E.F.; ZUCCHI, R.A.; CANTOR, F. (Eds.). Pragas introduzidas no Brasil.* Ribeirão Preto: Holos Editora, 2001. p.15-22.