

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP
CÂMPUS DE JABOTICABAL

**ASSOCIAÇÃO DE VARIEDADES DE GOIABA,
BIOINSETICIDAS E O PARASITÓIDE *Diachasmimorpha
longicaudata* NO CONTROLE DE *Anastrepha fraterculus***

Flávia Queiroz de Oliveira

Engenheira agrônoma

2014

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP
CÂMPUS DE JABOTICABAL

**ASSOCIAÇÃO DE VARIEDADES DE GOIABA,
BIOINSETICIDAS E O PARASITÓIDE *Diachasmimorpha
longicaudata* NO CONTROLE DE *Anastrepha fraterculus***

Flávia Queiroz de Oliveira

Orientador: Prof. Dr. Arlindo Leal Boiça Junior

Coorientador: Prof. Dr. Jacinto de Luna Batista

Tese apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp, Câmpus de Jaboticabal, como parte das exigências para a obtenção do título de Doutor em Agronomia (Produção Vegetal)

2014

Oliveira, Flávia Queiroz de
O48a Associação de variedades de goiaba, bioinseticidas e o parasitóide *Diachasmimorpha longicaudata* no controle de *Anastrepha fraterculus*. / Flávia Queiroz de Oliveira. -- Jaboticabal, 2014
iv, 147 p. ; 28 cm

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 2014
Orientador: Arlindo Leal Boiça Júnior
Banca examinadora: Antônio Baldo Geraldo Martins, Maria José Araújo Wanderley, Terezinha Monteiro dos Santos Cividanes, Juliana Altafin Galli
Bibliografia

1. Controle biológico. 2. Goiaba. 3. Moscas-das-frutas. 4. Produtos naturais. 5. Resistência de plantas a insetos I. Título. II. Jaboticabal-Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias.

CDU 632:93:634.42

Ficha catalográfica elaborada pela Seção Técnica de Aquisição e Tratamento da Informação – Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação - UNESP, Câmpus de Jaboticabal.



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

CAMPUS DE JABOTICABAL

FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS DE JABOTICABAL

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO: ASSOCIAÇÃO DE VARIEDADES DE GOIABA, BIOINSETICIDAS E O PARASITÓIDE
Diachasmimorpha longicaudata NO CONTROLE DE Anastrepha fraterculus

AUTORA: FLÁVIA QUEIROZ DE OLIVEIRA

ORIENTADOR: Prof. Dr. ARLINDO LEAL BOICA JUNIOR

CO-ORIENTADOR: Prof. Dr. JACINTO DE LUNA BATISTA

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de DOUTOR EM AGRONOMIA
(PRODUÇÃO VEGETAL) , pela Comissão Examinadora:

Prof. Dr. ARLINDO LEAL BOICA JUNIOR

Departamento de Fitossanidade / Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal

Prof. Dr. ANTONIO BALDO GERALDO MARTINS

Departamento de Produção Vegetal / Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal

Profa. Dra. MARIA JOSÉ ARAÚJO WANDERLEY

Pós-Doutoranda / Departamento de Fitossanidade / Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal

Profa. Dra. TEREZINHA MONTEIRO DOS SANTOS CIVIDANES

Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios / Ribeirão Preto/SP

Prof. Dr. JULIANA ALTAFIN GALLI

Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios / Pindorama/SP

Data da realização: 10 de março de 2014.

DADOS CURRICULARES DA AUTORA

FLÁVIA QUEIROZ DE OLIVEIRA – nasceu em Campina Grande – PB, no dia 08 de novembro de 1982, filha de George Barros de Oliveira e de Maria de Fátima Queiroz de Oliveira. Em dezembro de 2008 graduou-se em Agronomia pela Universidade Federal da Paraíba. Em março de 2009 ingressou no curso de Mestrado em Ciência e Tecnologia Ambiental pela Universidade Estadual da Paraíba, obtendo em fevereiro de 2011 o título de Mestre. Em março de 2011 ingressou no curso de Doutorado em Agronomia (Produção Vegetal) na Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinária – UNESP, campus de Jaboticabal.

DEDICO

À minha filha, **Alice Queiroz E. de Oliveira**, que esteve presente ao meu lado em todos os momentos que vivi para poder completar mais esta etapa de minha vida.

Mamãe te ama muito!

A meu noivo, **José Bruno Malaquias**, amigo, incentivador e companheiro de todos os momentos. Que mesmo longe geograficamente, conseguiu estar sempre presente em todos os momentos que precisei. Te amo!

Aos meus queridos pais *George Barros de Oliveira* e *Maria de Fátima Queiroz de Oliveira*, por sempre me terem dado forças e incentivo para ir mais além. Agradeço a Deus por ter me dado a oportunidade de tê-los como pais e tudo que tenho e sou hoje é fruto do que fizeram e do que ainda fazem por mim.

OFEREÇO, com amor e carinho.

AGRADECIMENTOS

A Deus, que me deu forças e coragem para seguir neste curso. Só Ele sabe o quanto foi difícil ficar longe de todos que tanto amo, para poder concluir mais esta etapa de minha vida.

A Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da Universidade Estadual Paulista pelo acolhimento, por ter me proporcionado esta formação profissional e por ter me concedido o espaço físico necessário para a execução da pesquisa.

A CAPES, pela concessão de bolsa de estudo durante o curso;

Ao Professor Arlindo Leal Boiça Júnior, pela orientação deste trabalho de tese, pela paciência, colaboração e valiosas sugestões para melhorar o trabalho. Muito obrigada!

Ao professor Jacinto de Luna Batista, pela co-orientação deste trabalho, por ter me acompanhado e me apoiado desde a graduação; pela paciência, compreensão e por seus conselhos, sempre muito valiosos. Muito obrigada por tudo professor!

A todos os professores da FCAV pelas informações e conhecimentos concedidos.

Centro de Energia Nuclear na Agricultura - CENA, nas pessoas do Professor Júlio Walder, da técnica do Laboratório Maria de Lourdes (Lia) e das estagiárias Kennya Costa, Keyla Faggioni e Patrícia Sanches pela imensa contribuição na multiplicação e fornecimento dos exemplares de insetos, praga e parasitoide;

A empresa Val Frutas pelo fornecimento dos frutos de goiaba;

Ao funcionário da FCAV Wilson Pazini, por sempre me acompanhar nas coletas dos frutos na Val;

Aos motoristas da FCAV, por me conduzir a Val Frutas e ao CENA;

Ao Laboratório de Tecnologia de Alimentos por possibilitar a realização das análises físico-químicas dos frutos de goiaba;

Ao Recanto dos Pequeninos, por acolhido de forma tão sublime e especial a minha. Alice Queiroz E. de Oliveira.

Aos examinadores da tese: Prof. Dr. Antônio Baldo Geraldo Martins, Profa. Dra. Maria José Araújo Wanderley, Profa. Dra. Terezinha Monteiro dos Santos Cividanes e Profa. Dra. Juliana Altafin Galli, muito obrigada pelas considerações, correções e sugestões para melhoria do trabalho.

Ao Laboratório de Resistência de Plantas a Insetos, nas pessoas de Antônio Zulene, Gislane Lopes, Marília Peixoto, Eduardo Costa, Daline Benites, Nara Elisa, Aniele Campos, Bruno Henrique, Renato Franco, Wellington Ivo, Anderson Silva pelos momentos de descontrações e de alegria proporcionados durante o curso.

As amigas que fiz no laboratório, Gislane Lopes e Marília Peixoto, por todo o tempo que estivemos juntas, no trabalho e no lazer, pela ajuda nos experimentos e pelas palavras amigas nos dias tristes e cansativos. Sentirei saudades de vocês!

As pessoas externas ao curso: Giovana Lima, Lorena Lima, Renata Tostes e Mirela Tostes, muito obrigada por tudo que fizeram por mim e por minha filha, por ter nos acolhido no seio de vossas famílias, nos fazendo sentir parte delas. Seremos sempre agradecidas!

As minhas amigas da Paraíba: Iris Silva, Dalva Almeida e Virgínia Cantalice. Muito obrigada pela amizade de vocês.

A minha avó materna Maria das Neves Ribeiro de Queiroz (*in memoriam*), por ter me dado a oportunidade de conviver ao seu lado.

Aos meus tios e tias e demais parentes pela ajuda, incentivo e colaboração durante toda minha vida.

Aos meus pais George Barros de Oliveira e Maria de Fátima Queiroz. Muito obrigada por estarem ao meu lado em todos os momentos, por me darem educação e por terem me ensinado a valorizar sempre as pessoas. Amo vocês!

Aos meus irmãos, Franklin Queiroz, Fabricia Queiroz e George Magno, que sempre me compreenderam e me auxiliaram nos momentos de ausência. Obrigada!

E a todos que de alguma maneira, contribuíram para a conclusão deste trabalho. Muito obrigada a todos.

SUMÁRIO

Conteúdo

LISTA DE TABELAS	iv
LISTA DE FIGURAS	v
RESUMO.....	viii
ABSTRACT	ix
CAPÍTULO 1 - Considerações Gerais.....	1
1 Introdução	1
2 Revisão Bibliográfica.....	3
2.1 Aspectos relacionados à goiabeira (<i>Psidium guajava</i> L.).....	3
2.2 Aspectos relacionados a mosca-das-frutas (<i>Anastrepha</i> spp.)	5
2.3 Produção Integrada de Frutas (PIF).....	6
2.4 Manejo Integrado de Pragas (MIP)	7
2.5 Métodos de controle de Tefritídeos.....	8
2.5.1 Utilização de bioinseticidas no controle de insetos-pragas.....	9
2.5.2 Controle biológico de moscas-das-frutas.....	10
2.5.3 Utilização de variedades resistentes no controle de insetos-pragas.....	11
3 Referências	13
CAPÍTULO 2 - Infestation of guava by <i>Anastrepha fraterculus</i> (Diptera: Tephritidae): preferred ripening stages and influence of fruit peel colouration	19
Abstract.....	19
1. Introduction.....	20
2. Material and Methods.....	21
2.1. Multiple-choice test	22
2.2. No-choice test	23
2.3. Peel colouration analysis	23
2.4. Data analysis.....	24
3. Results	24
3.1. Multiple-choice test:	24
3.2. No-choice test:	25
3.3. Peel colouration and relation with infestation level of <i>A. fraterculus</i> :.....	26
4. Discussion	27

6. References cited	31
CAPÍTULO 3 - Preference and infestation level of <i>Anastrepha fraterculus</i> (Wiedemann, 1830) (Diptera: Tephritidae) on fruits of some <i>Psidium guajava</i> L. cultivars and relation to their physicochemical parameters	43
Abstract	43
Introduction.....	44
Materials and Methods	45
I- Bioassays	45
II- Physicochemical fruit analyses	46
Data analysis.....	46
Results	47
I- Bioassays	47
a) Multiple choice test	47
b) Non-choice test.....	48
II- Physicochemical fruits analyses	50
Discussion	54
Acknowledgements	56
References	56
CAPÍTULO 4 – Resistência do tipo antibiose em variedades de goiaba a mosca-das-frutas <i>Anastrepha fraterculus</i> (Diptera: Tephritidae).....	60
Resumo	60
Abstract	61
1 Introdução	62
2 Material e Métodos	63
3 Resultados	65
4. Discussão.....	67
5 Conclusão	68
6 Referências	69
CAPÍTULO 5 - Efeito da aplicação de bioinseticidas em frutos de variedades de goiaba na oviposição de <i>Anastrepha fraterculus</i>	71
Resumo	71
Abstract.....	72

1 Introdução	73
2 Material e Métodos	74
2.1 Análise dos dados	76
3 Resultados	77
4 Discussão	91
5 Conclusões	94
6 Referências	95
CAPÍTULO 6 - Associação de variedades de goiaba e produtos naturais no parasitismo de <i>Diachasmimorpha longicaudata</i> (Ashmead) (Hymenoptera: Braconidae)	99
Resumo	99
Abstract	100
1 Introdução	101
2 Material e Métodos	103
2.1 Efeitos de larvas de <i>Anastrepha fraterculus</i> criadas em variedades de goiaba no desenvolvimento de <i>Diachasmimorpha longicaudata</i>	103
2.2 Associação do nim e de diferentes variedades de goiaba na atratividade e parasitismo de <i>Diachasmimorpha longicaudata</i>	104
2.3 Análise dos dados	106
3 Resultados	107
3.1 Efeitos de larvas de <i>Anastrepha fraterculus</i> criadas em variedades de goiaba no desenvolvimento de <i>Diachasmimorpha longicaudata</i>	107
3.2 Associação do nim e de diferentes variedades de goiaba na atratividade e parasitismo de <i>Diachasmimorpha longicaudata</i>	109
4 Discussão	120
4.1 Antibiose em <i>Diachasmimorpha longicaudata</i> por larvas de <i>Anastrepha fraterculus</i> criadas em variedades de goiaba	120
4.2 Associação do nim e de diferentes variedades de goiaba na atratividade e parasitismo de <i>Diachasmimorpha longicaudata</i>	121
5 Conclusões	124
6 Referências	125
CAPÍTULO 7 – Considerações Finais	129

LISTA DE TABELAS

Capítulo II

Table 1 - Peel colouration of three stages on fruit of cultivars: Paluma e Século XXI 41

Table 2 - Values of Pearson correlation coefficients and probabilities between infestation level of *Anastrepha fraterculus* and physicochemical fruits characteristics of guava cultivars 42

Capítulo III

Table 1 - Values of Pearson's correlation coefficients and probabilities between infestation and physicochemical fruit characteristics of guava cultivars 53

Capítulo IV

Tabela 1 - Média (\pm EP) de peso de pupas (mg), desenvolvimento (dias), sobrevivência (%), longevidade de fêmeas e machos (dias) e razão sexual de *Anastrepha fraterculus* em diferentes variedades de goiaba 66

Capítulo V

Tabela 1 - Análises de covariância para infestação de *Anastrepha fraterculus* (larvas/fêmea/fruto) em diferentes variedades de goiaba, e cinco concentrações de três bioinseticidas, em duas condições, sem e com chance de escolha 77

Tabela 2 - Número médio (\pm EP) de larvas por fêmea por fruto de *Anastrepha fraterculus*, obtidos em frutos de duas variedades de goiaba quando tratados com cinco concentrações de três bioinseticidas, em teste sem chance de escolha 79

Tabela 3 - Número médio (\pm EP) de larvas por fêmea por fruto de *Anastrepha fraterculus*, obtidos em frutos das variedades Paluma e Século XXI, em teste sem chance de escolha 79

Tabela 4 - Número médio (\pm EP) de larvas por fêmea por fruto de *Anastrepha fraterculus*, obtidos em frutos de goiaba das variedades Paluma e Século XXI em cinco concentrações de três óleos essenciais em teste com chance de escolha ... 82

Capítulo VI

Tabela 1 - Médias (\pm EP) da duração (dias) da fase de ovo + larva, fase de pupa e fase larvasl do peso de pupas (mg), longevidade de adultos (dias) e porcentagem de parasitismo de *Diachasmimorpha longicaudata*, tendo como hospedeiro larvas de *Anastrepha fraterculus* criadas em variedades de goiaba 108

Tabela 2 - Médias (\pm EP) da porcentagem de parasitismo de *Diachasmimorpha longicaudata*, da mortalidade de larvas e de parasitismo + mortalidade de larvas mediante diferentes concentrações do óleo de nim em duas cultivares de goiaba, em teste com chance de escolha 113

Tabela 3 - Médias (\pm EP) da porcentagem de parasitismo de *Diachasmimorpha longicaudata*, da mortalidade de larvas e de parasitismo + mortalidade de larvas mediante diferentes concentrações do óleo de nim em duas cultivares de goiaba, em teste sem chance de escolha 118

LISTA DE FIGURAS

Capítulo II

- Figure 1** - Multiple choice test: Mean (\pm SE) of the number of larvae of *Anastrepha fraterculus* by female by guava of cultivars: Paluma and Século XXI, at the stages green, green-ripe and ripe. Means followed by the same letters do not differ by SNK's test ($P = 0.05$) 35
- Figure 2** - Multiple choice test: Estimates of logistic regression parameters and confidence intervals (95% CI) of visit proportion of *Anastrepha fraterculus* female/fruit of Paluma cultivar. P_0 , P_1 , P_2 are the logistic regression parameters associated with the slope of the curve 35
- Figure 3** - Multiple choice test: Estimates of logistic regression parameters and confidence intervals (95% CI) of visit proportion of *Anastrepha fraterculus* female/fruit of Século XXI cultivar. P_0 , P_1 , P_2 are the logistic regression parameters associated with the slope of the curve 36
- Figure 4** - Multiple choice test: Logistic regression of visit proportion of *Anastrepha fraterculus* female / fruit of guava cultivars Paluma and Século XXI at the stages: green (—); green-ripe (.....) and ripe (---) 37
- Figure 5** - Non-choice test: Mean (\pm SE) of the number of larvae of *Anastrepha fraterculus* by female by guava of cultivars: Paluma and Século XXI, at the stages green, green-ripe and ripe. Means followed by the same capital letters (within same cultivar) and lower letters (within same stage) do not differ by SNK's test ($P = 0.05$) 38
- Figure 6** - Non-choice test: Estimates of logistic regression parameters and confidence intervals (95% CI) of visit proportion of *Anastrepha fraterculus* female/fruit of Paluma cultivar. P_0 , P_1 are the logistic regression parameters associated with the slope of the curve 38
- Figure 7** - Non-choice test: Estimates of logistic regression parameters and confidence intervals (95% CI) of visit proportion of *Anastrepha fraterculus* female/fruit of Século XXI cultivar. P_0 , P_1 are the logistic regression parameters associated with the slope of the curve 39
- Figure 8** - Non-choice test: Logistic regression of visit proportion of *Anastrepha fraterculus* female / fruit of guava cultivars Paluma and Século XXI at the stages: green (—); green-ripe (.....) and ripe (---) 40

Capítulo III

- Figure 1** - Multiple choice test: mean (\pm SE) of the number of larvae of *Anastrepha fraterculus*/female/guava fruit of cultivars Pedro Sato, Paluma, Cascão and Século XXI. Means followed by the same letters do not differ by SNK's test ($P = 0.05$) 47
- Figure 2** - Multiple choice test: logistic regression of proportion of visit of *Anastrepha fraterculus* female/fruit on the guava cultivars Paluma (—), Século XXI (- - -), Cascão (.....) and Pedro Sato (---) 48
- Figure 3** - Multiple choice test: estimates of logistic regression parameters and confidence intervals (95% CI) of proportion of visit of *Anastrepha fraterculus* female per fruit of guava. P_0 , P_1 and P_2 are the logistic regression parameters associated with the slope of the curve 48
- Figure 4** - Non-choice test: means (\pm SE) of the number of larvae of *Anastrepha fraterculus*/female/fruit of guava cultivars: Pedro Sato, Paluma, Cascão and Século XXI. Means followed by the same letters do not differ by SNK's test ($P =$

0.05)	49
Figure 5 – Non-choice test: logistic regression of proportion of <i>Anastrepha fraterculus</i> female/fruit on the guava cultivars: Paluma (—), Século XXI (---), Cascão (.....) and Pedro Sato (-----)	49
Figure 6 - Non-choice test: estimates of logistic regression parameters of proportion and confidence intervals (95% CI) of visit of <i>Anastrepha fraterculus</i> female/fruit on the guava. P_0 , P_1 are the logistic regression parameters associated with the slope of the curve in the non-choice test	50
Figure 7 - Content of soluble solids, expressed in °Brix, in the guava fruits of the cultivars Pedro Sato, Paluma, Cascão and Século XXI. The vertical bars represent the standard deviation. Means followed by the same letter do not differ by SNK's test at 5% probability	51
Figure 8 - Staining peel (colour angle, luminosity and chromaticity) of the guava fruits from cultivars Pedro Sato, Paluma, Cascão and Século XXI. Vertical bars represent the standard error. Means followed by the same letter do not differ by SNK's test at 5% probability	52
Figure 9 - Values of pH in the juice of guava fruits of the cultivars Pedro Sato, Paluma, Cascão and Século XXI. The vertical bars represent the standard deviation. Means followed by the same letter do not differ by SNK's test at 5% probability	53

Capítulo V

Figura 1 - Infestação (larvas/fêmea/fruto) de <i>Anastrepha fraterculus</i> em função de concentrações dos bioinseticidas: Óleo de citronela (—●—); Óleo de erva-doce (—⊕—); Óleo de nim (—△—), em teste sem chance de escolha	78
Figura 2 - Infestação (larvas/fêmea/fruto) de <i>Anastrepha fraterculus</i> em função de concentrações dos bioinseticidas: Óleo de nim (—●—); Óleo de citronela (—⊕—) e Óleo de erva-doce (—△—), em teste com chance de escolha	81
Figura 3 - Proporção de indivíduos de <i>Anastrepha fraterculus</i> por fruto de goiaba quando tratados com óleo de nim, em condições de chance de escolha. 0 (—●—), 0,3 (—○—), 0,5 (—▼—), 1,00 (—△—) e 3,00 (—■—)	84
Figura 4 - Proporção de indivíduos de <i>Anastrepha fraterculus</i> por fruto de goiaba quando tratados com óleo de citronela, em condições de chance de escolha. 0 (—●—), 0,3 (—○—), 0,5 (—▼—), 1,00 (—△—) e 3,00 (—■—)	85
Figura 5 - Proporção de indivíduos de <i>Anastrepha fraterculus</i> por fruto de goiaba quando tratados com óleo de erva-doce, em condições de chance de escolha. 0 (—●—), 0,3 (—○—), 0,5 (—▼—), 1,00 (—△—) e 3,00 (—■—)	86
Figura 6 - Proporção de indivíduos de <i>Anastrepha fraterculus</i> por fruto de goiaba quando tratados com óleo de nim, em condições de sem chance de escolha. 0 (—●—), 0,3 (—○—), 0,5 (—▼—), 1,00 (—△—) e 3,00 (—■—)	88
Figura 7 - Proporção de indivíduos de <i>Anastrepha fraterculus</i> por fruto de goiaba quando tratados com óleo de erva-doce, em condições de sem chance de	

escolha. 0 (—●—), 0,3 (.....○.....), 0,5 (---▼---), 1,00 (---▲---) e 3,00 (—■—)

89

Figura 8 - Proporção de indivíduos de *Anastrepha fraterculus* por fruto de goiaba quando tratados com óleo de citronela, em condições de sem chance de escolha.

0 (—●—), 0,3 (.....○.....), 0,5 (---▼---), 1,00 (---▲---) e 3,00 (—■—)

90

Capítulo VI

Figura 1 - Razão sexual de *Diachasmimorpha longicaudata* tendo como hospedeiro larvas de *Anastrepha fraterculus* em diferentes variedades de goiaba. Dados não diferem entre si pelo teste de Kruskal-Wallis ($\alpha= 0,05$). $\chi^2= 2,9568$. gl= 3; $Pr > \chi^2=0,3983$

109

Figura 2 - Valores e intervalos de confiança (IC 95%) dos parâmetros: P_0 , P_1 , P_2 e P_3 da regressão logística da proporção de fêmeas de *Diachasmimorpha longicaudata* em frutos de goiaba da variedade Paluma em resposta ao tempo após a liberação, em teste com chance de escolha.....

110

Figura 3 - Valores e intervalos de confiança (IC 95%) dos parâmetros: P_0 e P_1 da regressão logística da proporção de fêmeas de *Diachasmimorpha longicaudata* em frutos de goiaba da variedade Século XXI em resposta ao tempo após a liberação, em teste com chance de escolha.....

110

Figura 4 - Proporção de indivíduos de *Diachasmimorpha longicaudata* por fruto de goiaba tratados com nim, em teste com chance de escolha: 0 ppm (— — —); 3600 ppm (-----); 5600 ppm (— — —); 10000 ppm (.....) e 36000 ppm (————)

111

Figura 5 - Parasitismo de *Anastrepha fraterculus* pelo parasitóide *Diachasmimorpha longicaudata* em resposta à diferentes concentrações de nim, nas cultivares de goiaba: Século XXI ($y_0= 55,26$; $a= 0,0003$; $b= -2,0938E-0,08$; $R^2= 0,6740$; $Pr > F < 0,05$) e Paluma ($y_0= 35,74$; $a= 0,0020$; $b= -7,4403E-0,08$; $R^2= 0,7732$; $Pr > F < 0,05$), em teste com chance de escolha

114

Figura 6 - Valores e intervalos de confiança (IC 95%) dos parâmetros: P_0 e P_1 da regressão logística da proporção de fêmeas de *Diachasmimorpha longicaudata* em frutos de goiaba da variedade Paluma em resposta ao tempo após a liberação, em teste sem chance de escolha

115

Figura 7 - Valores e intervalos de confiança (IC 95%) dos parâmetros: P_0 e P_1 da regressão logística da proporção de fêmeas de *Diachasmimorpha longicaudata* em frutos de goiaba da variedade Século XXI em resposta ao tempo após a liberação, em teste sem chance de escolha

115

Figura 8 - Proporção de indivíduos de *Diachasmimorpha longicaudata* por fruto de goiaba tratados com nim, em teste sem chance de escolha: 0 ppm (— — —); 3600 ppm (-----); 5600 ppm (— — —); 10000 ppm (.....) e 36000 ppm (————)

116

Figura 9 - Parasitismo de *Anastrepha fraterculus* pelo parasitóide em resposta à diferentes concentrações de nim, nas cultivares de goiaba: Século XXI (os modelos não foram significativos; $Pr > F > 0,05$) e Paluma ($y_0= 47,56$; $a= -0,0036$; $b= -9,1239E-0,08$; $R^2= 0,7335$; $Pr > F < 0,05$), em teste sem chance de escolha ...

119

**ASSOCIAÇÃO DE VARIEDADES DE GOIABA, BIOINSETICIDAS E O
PARASITÓIDE *Diachasmimorpha longicaudata* NO CONTROLE DE *Anastrepha
fraterculus***

RESUMO

A geração de informações sobre o potencial de táticas alternativas no controle de moscas-das-frutas tem despertado crescente interesse, tanto dos produtores quanto dos pesquisadores. Esta pesquisa teve como objetivo avaliar os efeitos de variedades de goiaba e de substâncias de origem vegetal sobre parâmetros biológicos de *Anastrepha fraterculus* (Wied., 1830) (Diptera: Tephritidae) e sobre o parasitóide *Diachasmimorpha longicaudata* (Ashmead) (Hymenoptera: Braconidae). A pesquisa foi realizada no Laboratório de Resistência de Plantas do Departamento de Fitossanidade da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinária - UNESP. Os frutos de goiaba foram adquiridos da Empresa Val frutas, localizada no município de Vista Alegre do Alto-SP. As moscas-das-frutas e os parasitóides foram oriundos de criação mantida em dieta artificial no Laboratório de Radioentomologia do CENA. Foram realizados 6 bioensaios: 1. Determinação do estágio de maturação dos frutos de goiaba preferidos para oviposição de *A. fraterculus*; 2. Não preferência para oviposição de *A. fraterculus* por frutos de variedades de goiaba; 3. Efeito de produtos naturais aplicados em frutos de goiaba na oviposição de *A. fraterculus*; 4. Associação dos efeitos dos frutos de variedades de goiaba e de produtos naturais no parasitismo de *D. longicaudata*; 5. Teste de antibiose em *A. fraterculus* criadas em frutos de variedades de goiaba e 6. Efeito da resistência extrínseca de frutos de variedades de goiaba sobre o parasitóide *D. longicaudata*. Os frutos foram tratados com os seguintes produtos: óleo de nim, óleo essencial de erva-doce, óleo essencial de citronela, e teste padrão com água. Foram realizados testes com e sem chance de escolha. Os resultados foram submetidos à análise de variância (ANOVA), as médias foram comparadas pelo teste de Tukey ($P = 0,05$). Fêmeas de *A. fraterculus* preferem os estádios “de vez” e maduro para ovipositar. A variedade século XXI é mais suscetível ao ataque de *A. fraterculus*. Os produtos que proporcionaram os menores índices de infestação foram óleos de nim e de citronela, a partir da concentração 1,0%. Os frutos, quando tratados com citronela na concentração 3,2% apresentaram fitotoxicidade. As variedades de goiaba estudadas não apresentam resistência do tipo antibiose a *A. fraterculus*. As larvas de *A. fraterculus* oriundas de variedades de goiaba não interferem nos parâmetros biológicos do parasitóide *D. longicaudata*. O óleo de nim não afeta a taxa de parasitismo de *D. longicaudata*.

Palavras-chave: Controle Biológico, Goiaba, Moscas-das-frutas, Produtos naturais, Resistência de Plantas a Insetos.

**ASSOCIATION OF GUAVA CULTIVARS, BIOINSECTICIDES AND THE
PARASITOID *Diachasmimorpha longicaudata* ON THE CONTROL OF *Anastrepha
fraterculus***

ABSTRACT

The generation of information about the potential of alternative tactics in the control of fruit flies has attracted a growing interest, both producing and researchers. This research aimed to evaluate the effects of guava cultivars and substances from plant metabolism on biological parameters of *Anastrepha fraterculus* (Wied., 1830) (Diptera: Tephritidae) and *Diachasmimorpha longicaudata* (Ashmead) (Hymenoptera: Braconidae). The study was conducted in the Laboratory of Plant Resistance, Department of Plant Protection, Faculty of Agricultural Sciences and Veterinary Medicine - UNESP. The guava fruits were obtained from Company Val fruits, located in "Vista Alegre do Alto" - SP. The fruit-flies and parasitoids were derived from rearing on artificial diet in the laboratory Radioentomologia - CENA. 6 bioassays were conducted: 1- Determining the maturity stage of guava fruits preferred for egg-laying of *A. fraterculus*, 2- No preference for egg-laying of *A. fraterculus* fruits of the guava cultivars, 3- Effect of natural products used in guava fruit on egg-laying of *A. fraterculus*, 4- Association of the effects of the fruits of guava cultivars and natural products on parasitism of *D. longicaudata*, 5- Antibiosis test of fruit varieties of guava and on *A. fraterculus* and 6- Effect of extrinsic resistance of cultivars of guava fruit on the parasitoid *D. longicaudata*. Fruits were treated with the following products: neem oil, essential oil from fennel and citronella, and controle. Tests with and without choice has been made. The results were subjected to analysis of variance (ANOVA), means were compared by Tukey test ($P = 0.05$). *A. fraterculus* female prefer stadiums "semi-ripe" and ripe for egg-laying. The Século XXI cultivar is more susceptible to attack by *A. fraterculus*. Products which showed the lowest infestation rates were oils of neem and citronella, from the 1.0% concentration. The fruits when treated with citronella concentration 3.2% showed phytotoxicity. The guava cultivars studied show no resistance type antibiosis to *A. fraterculus*. The *A. fraterculus* larvae maintained in all guava cultivars does not interfere with the biological parameters of the parasitoid *D. longicaudata*. The neem oil does not affect the parasitism rate of *D. longicaudata*.

Keywords: Biological control, Guava, fruit-flies, Natural products, Plant resistance to insects.

CAPÍTULO 1 - Considerações Gerais

1 Introdução

A fruticultura merece destaque dentre os diversos setores agrícolas brasileiros devido às características positivas que exerce no cenário rural. Presente em todos os estados brasileiros esta atividade agrícola envolve mais de 5 milhões de pessoas que trabalham de forma direta ou indireta, o que evidencia sua importância como atividade econômica, geradora de empregos e responsável pela permanência dos agricultores no meio rural (FACHINELLO et al., 2011).

No Brasil a área cultivada com frutas ultrapassa os 2 milhões de hectares, com produção aproximada de 43 milhões de toneladas/ano, colocando o país como terceiro maior produtor mundial (IBRAF, 2010). Quanto ao cultivo de frutas pode-se mencionar que existe certa especialização regional, a qual é regida principalmente pelo clima, de forma que as regiões mais próximas à linha do Equador são responsáveis pela produção de frutas de clima tropical, como goiaba *Psidium guajava* L. (Myrtaceae), banana *Musa* spp. (Musaceae), manga *Mangifera indica* L. (Anacardiaceae), melão *Cucumis* spp. (Cucurbitaceae) e cacau *Theobroma* spp. (Malvaceae). Já nas regiões ao sul destacam-se as frutíferas de clima temperado, como o pessegueiro *Prunus persica* L. (Rosaceae), a macieira *Malus domestica* Borkh (Rosaceae), e a videira *Vitis vinifera* L. (Vitaceae) (OLIVEIRA, 2008, FACHINELLO et al., 2011).

A goiabeira é uma das frutíferas mais produzidas no Brasil, destacando-se os Estados de São Paulo e Pernambuco, produzindo no ano de 2010 aproximadamente 200 mil toneladas (AGRIANUAL, 2013). Entretanto, as exportações dessa fruta não vem acompanhando o mesmo ritmo de crescimento, devido principalmente a presença de pragas nas áreas cultivadas (MOURA; MOURA, 2006).

No Brasil, dentre as principais pragas que dificultam a exportação de frutas estão as moscas-das-frutas (Diptera: Tephritidae). Este inseto-praga causa problemas devido as regulamentações quarentenárias impostas pelos países importadores (DUARTE; MALAVASI, 2000; KLASSEN; CURTIS, 2005). Também causam prejuízos que refletem no mercado interno, como: 1 - perda de frutos - causada tanto pelas larvas das moscas-das-frutas, que destroem a polpa ao se

alimentarem bem como pelas fêmeas adultas por ocasião da formação de orifício de oviposição que abre porta de entrada para fungos causadores de podridão. 2-amadurecimento precoce dos frutos e conseqüente queda abundante, diminuindo a oferta de frutos para o mercado, geralmente resultando em aumento de preços do produto (DUARTE; MALAVASI, 2000).

A mosca-das-frutas sul-americana, *Anastrepha fraterculus* (Wied., 1830) (Diptera: Tephritidae), é considerada uma das principais pragas da goiabeira, sendo um dos hospedeiros mais infestados por esta espécie (MALAVASI; MORGANTE, 1981). O desenvolvimento de técnicas de controle dessa praga é de fundamental importância, devido às consideráveis perdas econômicas causadas à fruticultura (CORSATO, 2004; MONTES; RAGA, 2006). O seu controle tem sido realizado principalmente pela utilização de iscas associadas a inseticidas, porém, a utilização indiscriminada de agrotóxicos no controle de moscas-das-frutas ocasiona grave desequilíbrio ecológico, desencadeia o surgimento de populações de outras pragas ao eliminar os inimigos naturais além de acarretar a contaminação humana e do meio ambiente (MENDES et al., 2007).

A possibilidade de cultivo sem agrotóxicos, associada às exigências por parte dos consumidores por produtos ausentes de resíduos químicos, tem aumentado o interesse de diversos produtores pela produção orgânica e de pesquisadores por métodos de controle alternativos. Diversos trabalhos têm discutido a aplicabilidade de produtos naturais, como óleos essenciais, no controle fitossanitário. A atividade inseticida de óleos essenciais pode ocorrer de diversas formas, causando mortalidade, deformações em diferentes estágios de desenvolvimento como também repelência e deterrência, sendo a atividade repelente o modo de ação mais comum dos óleos essenciais e de seus componentes majoritários (ISMAN, 2006).

Outros métodos de controle alternativo que podem ser empregados em sistemas de cultivos são: utilização de variedades resistentes e controle biológico. A resistência de plantas a insetos insere-se como uma tática do Manejo Integrado de Pragas (MIP), podendo ser uma alternativa ao controle químico, além da associação a outros métodos de controle (BOIÇA JUNIOR; CAMPOS, 2010). O controle biológico também pode ser inserido nestes sistemas, pois se constitui no

principal mecanismo de redução natural das populações de moscas-das- frutas, agindo nas fases larval e pupal (SOUZA FILHO et al., 2000).

Assim sendo, este trabalho teve como objetivos avaliar os efeitos de variedades de goiaba e de substâncias de origem vegetal sobre parâmetros biológicos de *A. fraterculus*, como também no seu parasitóide *Diachasmimorpha longicaudata* (Ashmead) (Hymenoptera: Braconidae).

2 Revisão Bibliográfica

2.1 Aspectos relacionados à goiabeira (*Psidium guajava* L.)

A goiabeira pertence a família Myrtaceae, que compreende mais de 70 gêneros e 2.800 espécies. A família Myrtaceae também inclui outras plantas agrícolas importantes que rendem produtos econômicos como temperos aromáticos (cravo-da-índia, canela, pimenta-da-jamaica), óleos aromáticos (eucalipto), plantas ornamentais (murta, Callistemon = bucha-de-garrafa) e varias frutas (jambo *Syzygium malaccense*, jabuticaba *Myrciaria cauliflora*, araçá *Psidium cattleianum*, pitanga *Eugenia uniflora* e muitas outras) (POMMER et al., 2009).

A goiabeira é originária da América Tropical, porém não conhece com certeza de que parte da América a goiaba seria nativa, pois houve grande distribuição natural antes da chegada dos europeus, através dos pássaros, animais e indígenas.

A espécie *P. guajava* encontra-se amplamente distribuída por todas as regiões tropicais e subtropicais do globo, em estado semi-silvestre ou espontâneo, graças à ação dos disseminadores naturais, inclusive o homem (MEDINA et al., 1991).

O fruto com grande valor alimentar, e a rusticidade da planta, com capacidade de produzir mesmo em condições adversas, faz com que seja uma importante cultura nas regiões com carência de fontes alimentares, como o Nordeste brasileiro, onde, segundo Gonzaga Neto e Soares (1994), é muito consumida como fruta fresca e processada nas formas de doces, sucos, geléias e compotas. No processo industrial, a goiabada se destaca como um dos principais doces produzidos a partir de frutos tropicais (MEDINA et al., 1991). Também, é

bastante conhecida como uma fruta rica em vitaminas C, além de possuir consideráveis teores de vitamina A e do grupo B, como a tiamina e a niacina, e importantes minerais, como o fósforo, o ferro e o cálcio (FIORAVANÇO et al., 1995), possuindo baixo teor calórico. Também considerada um alimento rico em licopeno, substância que combate os radicais livres inibindo o desenvolvimento de alguns tipos de câncer, a goiaba apresenta em torno de 53 ± 6 μg licopeno/g da fruta (130g de goiaba tem 6,89 mg de licopeno) (SHAMI; MOREIRA, 2004).

A goiaba é uma das frutas mais fáceis de ser processada por não apresentar problemas de natureza física com relação à textura e forma e, ainda, por não ocorrer degradação bioquímica durante o processo. A goiabada, ou doce em massa de goiaba, é o resultado do processamento das partes comestíveis de goiabas sadias, desintegradas, com açúcares, com ou sem adição de água, agentes geleificantes, ajustadores de pH e de outros ingredientes e aditivos permitidos, até consistência apropriada, sendo termicamente processada e acondicionada de modo a assegurar sua perfeita conservação, devendo ter cor normal característica do produto, variando de vermelho-amarelado a vermelho-amarronzado, odor e sabor normais lembrando a goiaba, aspecto gelatinoso e sólido, permitindo o corte (FIORAVANÇO et al., 1995).

O cultivo tem aumentado muito a produtividade dos pomares paulistas, devido aos atuais tratamentos culturais. Entre estes, destacam-se as técnicas de poda e a irrigação, entre a capina e a adubação orgânica e mineral. Com a poda contínua e a irrigação, tem-se produzido goiaba o ano todo, necessitando-se fazer a colheita duas vezes por semana (BAPTISTA, 2010).

A produção brasileira de goiaba conforme últimos dados apresentados pelo Agriannual (2013) alcançou no ano de 2010, 316.363 toneladas em uma área colhida de 15.375 hectares. A maior produção se concentra na região do sudeste (133.616 ton.) seguida das regiões nordeste (130.474 ton.), norte (20.692 ton.), centro-oeste (19.389 ton) e sul (12.192 ton.). O estado de São Paulo apresenta maior produção com 98.272 ton (AGRIANUAL, 2013).

Embora o Brasil se apresente como terceiro maior produtor de goiaba mundial, apenas 1% do total produzido destina-se a exportação, sendo 46% para indústria e 53% para o mercado interno de frutas frescas. A reduzida participação brasileira na exportação de produtos tropicais para o mercado de frutas frescas é

consequência do baixo padrão de qualidade para com as exigências internacionais, uso inadequado de agrotóxicos e deficiência quanto a tecnologia pós-colheita (ALMEIDA, 2002).

A grande exigência dos países importadores para com a ausência de pragas e resíduos químicos nos alimentos, aliada a uma conscientização ambiental por parte dos consumidores, tem feito com que muitos produtores mudem de comportamento e adotem técnicas quanto ao manejo de pragas na cultura da goiaba, através do monitoramento da flutuação populacional, ensacamento de frutos, utilização de parasitóides e liberação de machos estéreis (UCHOA-FERNANDES; ZUCCHI, 1999; GARCIA et al., 2003).

Embasado nestes ideais, o aumento da competitividade brasileira na exportação de goiaba para os mercados internacionais de frutas frescas ganhará enorme repercussão e possibilitará maior demanda por mão-de-obra em toda cadeia produtiva (ROZANE; COUTO, 2003).

2.2 Aspectos relacionados a mosca-das-frutas (*Anastrepha* spp.)

Na família Tephritidae encontram-se vários gêneros, infestando as mais diversas culturas em todo o mundo, caracterizando-se como praga-chave de muitas frutíferas (CHRISTENSON; FOOTE, 1960). Segundo Gallo et al. (2002), dentre as pragas chaves da cultura da goiabeira estão as moscas-das-frutas (Diptera:Tephritidae), destacando-se o gênero *Anastrepha* e a espécie *Ceratitis capitata*.

Os tefritídeos colocam seus ovos no mesocarpo, de onde eclodem de 2 a 6 dias, originando as larvas. Estas entram no endocarpo, ou polpa, fazendo galerias em direção ao centro, sendo que este estágio varia de 9 a 13 dias. Após esse período, essas larvas vão para o solo, onde se tornam pupas por um período de 10 a 12 dias, no verão, e até 20 dias no inverno. Findo este período, emergem os adultos. A fêmea inicia a postura após 12 dias de acasalamento. O ciclo evolutivo completo é de 31 dias. Ela pode viver até 10 meses, colocando, nesse período, cerca de 800 ovos (GALLO et al., 2002).

Também conhecidas por moscas sul-americanas, o gênero *Anastrepha* é nativo da região neotropical. As moscas-das-frutas do gênero *Anastrepha*

representam acima de 98% do total coletado em pomares de goiaba de Jaboticabal/SP (DA ROSA, 1993; GALLI, 2003).

O gênero *Anastrepha* possui larva vermiforme, apoda, corpo mais grosso na extremidade posterior, e quando completamente desenvolvida mede cerca de 12 mm de comprimento e 2 mm de largura máxima. A coloração predominante é amarelo-ocráceo. A asa é transparente, com 5,8 a 7,5 mm de envergadura, adornada de faixas amarelas-pardas. Quase todo o comprimento da asa é ocupado por uma figura amarela, na forma da letra "S", estendida até o ápice, mais uma figura na forma "V" invertido que está situada na borda superior da asa. A bainha do ovipositor mede de 1,6 a 1,9 mm de comprimento e o próprio ovipositor mede de 1,3 a 1,6 mm de comprimento (ORLANDO; SAMPAIO, 1973).

As espécies de *Anastrepha* que tem maior importância no Brasil são *A. fraterculus*, *A. sororcula* e *A. obliqua* (MALAVASI et al., 1980; MALAVASI; ZUCCHI, 2000).

A mosca-das-frutas, *A. fraterculus*, é considerada uma das principais pragas da goiabeira, sendo um dos hospedeiros mais infestados por esta espécie (MALAVASI; MORGANTE, 1981). Também tem sido observada uma relação direta entre a infestação da moscas-das-frutas sul-americana e a incidência de podridões de frutos em alguns cultivos, como a macieira (SANTOS et al., 2008). A comercialização dos frutos no mercado externo é drasticamente limitada pela ocorrência de moscas-das-frutas, fazendo com que os países importadores imponham severas barreiras fitossanitárias que dificultam ou impedem as exportações.

A incidência destas pragas nas áreas cultivadas é um fator de preocupação para os produtores, não só devido aos aumentos no custo de produção em razão das frequentes aplicações de inseticidas, mas também devido aos resíduos químicos presentes nos frutos e pelas perdas na produção (NORA et al., 2000).

2.3 Produção Integrada de Frutas (PIF)

Este modelo de produção pode ser definido como um sistema que produz alimentos e outros produtos com alta qualidade, através da utilização dos recursos naturais e regulação de diferentes mecanismos para substituição dos

insumos nocivos ou que prejudiquem o meio ambiente (ANDRIGUETO; KOSOSKI, 2002).

Os mercados internacionais importadores requerem, ultimamente, qualidade certificada de frutas, através de processos e leis específicas, por onde realizam o controle e fiscalização permanente da cadeia produtiva do país exportador cujo objetivo visa analisar problemas de resíduos nos alimentos, oriundos do uso de produtos químicos, biológicos e fitorreguladores, além de questões de âmbito ambiental e segurança alimentar (NAKA, 2012).

A produção integrada de frutas vem se tornando uma realidade graças à evolução do manejo de pragas agrícolas, através do monitoramento da flutuação populacional, com uso de armadilhas de captura; ensacamento de frutos; técnica do inseto estéril (TIE) e controle biológico, principalmente pela liberação de parasitóides (UCHOA-FERNANDES; ZUCCHI, 1999; GARCIA et al., 2003).

O selo de qualidade apresenta grande importância para com as relações comerciais internacionais de produtos agropecuários, pois transmite credibilidade aos produtores e confiança por parte dos consumidores. Este sistema é uma exigência de diversos mercados importadores, principalmente da Comunidade Européia, rigorosa nos quesitos de qualidade e sustentabilidade, quanto à segurança alimentar, condições de trabalho, saúde humana e viabilidade econômica (HATSCHBACH, 2000).

2.4 Manejo Integrado de Pragas (MIP)

O Manejo Integrado de Pragas (MIP) pode ser definido como um sistema de tomada de decisões para seleção e utilização de táticas de controle de pragas, usadas individualmente ou harmoniosamente coordenadas em estratégias de manejo, com base em análises de custo e benefício que levam em conta os interesses dos produtores e os impactos na sociedade e meio ambiente (KOGAN; SHENK, 2002).

Este modelo representa um grande avanço no controle racional de pragas em frutíferas, através da mínima adoção de agrotóxicos, no sentido de amenizar problemas de contaminação ambiental e diminuição das taxas de resíduos no produto final (SOUZA FILHO; COSTA, 2003).

O desenvolvimento de programas do Manejo Integrado de Pragas é muito dependente de estudos básicos sobre a dinâmica populacional e determinação da importância relativa das forças que regulam o crescimento populacional de insetos fitófagos. Entre os diferentes fatores que afetam a intensidade de ataque das pragas agrícolas estão os agentes de controle biológico e os elementos climáticos. O conhecimento da época e magnitude destes fatores se apresenta com extrema importância para com o estudo da dinâmica de populações e desenvolvimento dos sistemas de manejo (CALORE, 2011).

A variação dos componentes climáticos pode influenciar direta ou indiretamente o comportamento das pragas agrícolas. Estes elementos atuam diretamente na mortalidade e no desempenho das pragas através de alterações na oviposição, alimentação, crescimento e migração (HOPKINS; MEMMOT, 2003). Por outro lado, afetam indiretamente por influenciar a atividade dos inimigos naturais e alterar a qualidade dos recursos disponíveis, devido a mudanças fisiológicas e bioquímicas na planta hospedeira (VARLEY et al., 1973; HOPKINS; MEMMOT, 2003).

2.5 Métodos de controle de Tefritídeos

Para o país se tornar mais competitivo e aumentar as exportações é necessário um produto de qualidade, diferenciado e que cumpra as exigências fitossanitárias e comerciais dos países importadores. Exigências cada vez mais intensificadas e crescentes com respeito à qualidade do produto, especialmente em relação à presença de resíduos químicos, medidas quarentenárias e boas práticas agrícolas, como o Produção Integrada de Frutas (PIF) (KAMIYA, 2010).

Comumente, o controle de tefritídeos é realizado mediante a utilização de iscas associadas a inseticidas, no entanto, a utilização indiscriminada de agrotóxicos no controle de moscas-das-frutas ocasiona grave desequilíbrio ecológico, desencadeia o surgimento de populações de outras pragas ao eliminar os inimigos naturais além de acarretar a contaminação humana e do meio ambiente (MENDES et al., 2007).

2.5.1 Utilização de bioinseticidas no controle de insetos-pragas

A possibilidade de cultivo sem agrotóxicos, associada às exigências por parte dos consumidores por produtos ausentes de resíduos químicos, tem aumentado o interesse de diversos agricultores pela produção orgânica e de pesquisadores por métodos de controle alternativos. Diversos trabalhos têm discutido a aplicabilidade de produtos naturais, como óleos essenciais, no controle fitossanitário. A atividade inseticida de óleos essenciais pode ocorrer de diversas formas, causando mortalidade, deformações em diferentes estágios de desenvolvimento como também repelência e deterrência, sendo a atividade repelente o modo de ação mais comum dos óleos essenciais e de seus componentes majoritários (ISMAN, 2006).

O uso de plantas com propriedades inseticidas é uma prática antiga (ROEL et al., 2000; GALLO et al., 2002). Até a descoberta de inseticidas organossintéticos, na primeira metade do século passado, as substâncias extraídas de vegetais foram amplamente utilizadas no controle de insetos. As variações na eficiência do controle, devido às diferenças na concentração do ingrediente ativo entre plantas e, principalmente, os baixos efeitos residuais, que apontam à necessidade de várias aplicações em períodos curtos, fizeram com que os inseticidas vegetais fossem gradativamente substituídos pelos sintéticos.

É crescente a preocupação com o meio ambiente, dessa forma, observa-se o crescimento da agricultura orgânica visando evitar os efeitos prejudiciais dos produtos químicos ao agroecossistema e, assim, substituí-los por métodos alternativos de controle de pragas e doenças, preservação das propriedades do solo, manejo de plantas daninhas, cobertura morta, adubação verde e rotações de culturas, entre outras práticas (LUZ et al., 2007). Nesse contexto, segundo Vasconcelos et al. (2006), uma alternativa que vem sendo retomada para o controle de pragas é o uso de metabólitos secundários presentes em algumas plantas, as quais são chamadas de “plantas inseticidas”. Diversas substâncias oriundas dos produtos intermediários ou finais do metabolismo secundário dessas plantas, que podem ser encontradas nas raízes, folhas e sementes, entre eles, rotenóides, piretróides alcalóides e terpenóides, podem interferir severamente no metabolismo de outros organismos, causando impactos variáveis, como repelência, deterrência alimentar e de oviposição, esterilização, bloqueio do

metabolismo e interferência no desenvolvimento, sem necessariamente causar a morte (MEDEIROS, 1990; LANCHER, 2000). Nesse último caso, pode haver retardamento no desenvolvimento do inseto, causando efeito insetistático como frisaram Hernandez e Vendramim (1998).

Segundo Medeiros et al. (2005) e Torres et al. (2006) produtos naturais extraídos de plantas constituem-se em fonte de substâncias bioativas compatíveis com programas de manejo integrado de pragas (MIP). Dessa forma, pode ser um forte aliado a outros métodos de controle de insetos, mantendo o equilíbrio ambiental, sem deixar resíduos químicos, sem ação tóxica aos animais e ao homem, reduzindo os efeitos negativos ocasionados pela aplicação descontrolada de inseticidas organossintéticos.

Algumas plantas produzem compostos secundários, que podem ser utilizados para o desenvolvimento de novos defensivos naturais ou serem precursores de semi-síntese química, no desenvolvimento de produtos. Apesar de resultados positivos no controle das moscas-das-frutas com óleos essenciais, permanece a discussão sobre a possibilidade dos impactos destes produtos sobre outros insetos não-alvo, como os inimigos naturais (MORAIS, 2009).

2.5.2 Controle biológico de moscas-das-frutas

O controle biológico também pode ser inserido nestes sistemas, pois se constitui no principal mecanismo de redução natural das populações de moscas-das-frutas, agindo nas fases larval e pupal (SOUZA FILHO et al., 2000). Assim, o parasitóide exótico *D. longicaudata* vem sendo utilizado como uma alternativa eficiente de controle biológico em várias áreas produtoras de frutas do mundo (MONTROYA et al., 2000). Os parasitóides nativos deveriam ter prioridade, mas a efetiva utilização destes no controle das moscas-das-frutas no Brasil, ainda é incipiente, existindo apenas trabalhos de registro da ocorrência natural associada às moscas-das-frutas (SALLES, 1996; SOUZA FILHO et al., 1999).

Mediante estudos desenvolvidos nas Américas do Norte e Central, constatou-se que a eficiência de *D. longicaudata* depende de vários fatores, tais como: densidade do hospedeiro (ASHLEY; CHAMBERS 1979; VARGAS et al., 1993), tamanho (SIVINSKI, 1991), e espécie do fruto hospedeiro de moscas-das-frutas (MESSING; JANG, 1992), fenologia da cultura (MESSING; JANG, 1992;

MESSING et al., 1994), competição interespecífica (PURCELL, et al., 1994), entre outros.

A espécie de mosca hospedeira também é outro fator que interfere na eficiência do parasitóide. Segundo Jirón e Mexzon (1989), no Havaí, *D. longicaudata* foi encontrada parasitando em maior proporção espécies do gênero *Anastrepha*, talvez por serem as larvas de *Anastrepha* mais apropriadas nutricionalmente aos parasitóides, ou por serem mais abundantes. *Diachasmimorpha longicaudata* parasita preferencialmente larvas encontradas em frutos caídos no chão (PURCELL et al., 1994).

O odor de frutos infestados com larvas é importante na localização do hospedeiro, sendo que frutos de goiaba apresentam forte atratividade para as fêmeas de *D. longicaudata* (MESSING; JANG, 1992). Além disso, *D. longicaudata* teve melhor adaptação em pomares comerciais de goiaba em relação aos habitats naturais (VARGAS et al., 1993, ALVARENGA et al., 2005). Constata-se, portanto, pelas pesquisas realizadas em diversos locais do mundo, que *Diachasmimorpha longicaudata* é um agente promissor no controle biológico de moscas-das-frutas em goiaba.

2.5.3 Utilização de variedades resistentes no controle de insetos-pragas

Outro método que pode ser empregado em sistemas de cultivos orgânicos é a utilização de variedades resistentes. A resistência de plantas a insetos insere-se como uma tática do MIP, podendo ser uma alternativa ao controle químico, além da associação a outros métodos de controle (BOIÇA JUNIOR; CAMPOS, 2010). Estudos conduzidos por Paranhos et al. (2007), demonstram que a porcentagem de parasitismo de larvas de *C. capitata* por *D. longicaudata* foi influenciada pela variedade de goiaba, obtendo-se um parasitismo significativo maior na variedade Pedro Sato em relação a Kumagai.

De acordo com Lara (1991), resistência de plantas a insetos é determinada por genes e manifestada por fatores químicos, físicos e morfológicos, podendo atuar de forma isolada ou em conjunto, que pode conferir a resistência da planta a uma determinada praga, através da presença de toxinas, redutores de digestibilidade, tricomas, dureza da epiderme foliar e impropriedades nutricionais

presentes em genótipos ou variedades, o que proporciona a resistência em seus diferentes graus.

Trabalhos voltados para a viabilização de estratégias de manejo de insetos-praga que atendam as normas de produção orgânica são necessários. Conforme Gonçalves et al. (2005) a geração de informações sobre o potencial destas táticas alternativas no controle de moscas-das-frutas tem despertado o interesse de diversos pesquisadores. Dentre as táticas alternativas que atendam a produção orgânica da fruticultura destacam-se: a utilização de inimigos naturais, especialmente o braconídeo *D. longicaudata*, sendo a espécie mais utilizada em todo mundo, devido sua facilidade de criação em laboratório, pela rápida adaptação aos ambientes onde é liberada e pela condição de especialista no parasitismo de tefritídeos (CARVALHO; NASCIMENTO, 2002); o uso de extratos de plantas, preparados homeopáticos e repelentes. No entanto, pouco se sabe sobre a atividade repelente de óleos de origem vegetal sobre a oviposição de moscas-das-frutas, e como esta tática de controle interage com a qualidade de frutos, como também com o controle biológico, já que inimigos naturais são orientados por substâncias voláteis.

3 Referências

AGRIANUAL: **anúário da agricultura brasileira**. São Paulo: FNP Consultoria & Comércio, 2013.

ALMEIDA, J. G. F. Barreira às exportações de frutas tropicais. **Fitopatologia Brasileira**, v.27, suplemento, n. S7-S10, 2002.

ALVARENGA, C. D.; BRITO, E. S.; LOPES, E. N.; SILVA, M. A.; ALVES, D. A.; MATRANGOLO, C. A. R.; ZUCCHI, R. A. Introdução e recuperação do parasitóide exótico *Diachasmimorpha longicaudata* (Asmead) (Hymenoptera: Braconidae) em pomares comerciais de goiaba no norte de Minas Gerais. **Neotropical Entomology**, v. 34, p. 133-135. 2005.

ANDRIGUETO, J. R.; KOSOSKI, A. R. **Marco legal da produção integrada de frutas do Brasil**. Brasília: MAPA/SARC, 2002. 60 p.

ASHLEY, T. R.; CHAMBERS, D. L. Effects of parasite density and host availability on progeny production by *Biosteres (Opus) longicaudatus*, (Hym.: Braconidae), a parasite of *Anastrepha suspensa* (Dip.: Tephritidae). **Entomophaga**, v. 24, p. 363-369, 1979.

BAPTISTA, A. P. M. **Entomofauna associada em pomar de goiaba, *Psidium guajava* L., nas regiões de Jaboticabal e Pindorama no estado de São Paulo**. 2010. 81 f. Tese (Doutorado em Entomologia Agrícola) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal. 2010.

BOIÇA JUNIOR, A. L.; CAMPOS, A. P. Resistência de plantas a insetos: ensino, pesquisa e extensão. In: BUSOLI, A. C. et al. (Ed.) **Tópicos em entomologia agrícola III**. Jaboticabal: Multipress. 2010.

CALORE, R. A. **Entomofauna associada à goiabeira *Psidium guajava* L. em pomares experimentais comerciais em Vista Alegre do Alto – SP e semi-orgânicos em 72 Pindorama – SP**. 2011. 115 f. Dissertação (Mestrado em Entomologia Agrícola) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal. 2011.

CARVALHO, R. S.; NASCIMENTO A. S. Criação e utilização de *Diachasmimorpha longicaudata* para controle biológico de moscas-das-frutas (Tephritidae). In: PARRA, et al. (Eds.) **Controle biológico no Brasil: parasitóides e predadores**. São Paulo: Manole, p. 165-179. 2002.

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

CORSATO, C. D. A. **Moscas-das-frutas (Diptera: Tephritidae) em pomares de goiaba no norte de Minas Gerais: Biodiversidade, Parasitóides e Controle Biológico**. 2004. 95f. Tese (Doutorado) - Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2004.

DA ROSA, M. F. **Efeito de quatro atrativos alimentares na coleta de moscas-das-frutas (Diptera – Tephritidae) e de crisopídeos (Neuroptera – Chrysopidae) em pomar de goiaba *Psidium guajava* L.** 1993. 64 f. Monografia (Trabalho de Graduação em Agronomia) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal. 1993.

DUARTE A. L.; MALAVASI A. **Moscas-das-frutas de importância econômica no Brasil: Conhecimento básico e aplicado**, Fapesp-Holos, Ribeirão Preto, Brasil, 2000.

FACHINELLO, J. C.; PASA, M. S.; SCHMITZ, J. D.; BETEMPS, D. L. Situação e perspectivas da fruticultura de clima temperado no Brasil. **Revista Brasileira de Fruticultura**, volume especial, p. 109-120, 2011.

FIORAVANÇO, J. C.; PAIVA, M. C.; MANICA, I. Goiaba: aspectos qualitativos. **Caderno de Horticultura**, v. 3, n. 3, p. 1-12, 1995.

GALLI, J. C. Psilídeo da goiabeira exige atenção constante. **Informe Agropecuário CooperCitrus**, v. 18, n. 199, p. 24, 2003.

GALLO, D.; NAKANO, O.; SILVEIRA NETO, S.; CARVALHO, R. P. L. BAPTISTA, G. C.; BERTI FILHO, E.; PARRA, J. P. R.; ZUCCHI, R. A.; ALVES, S. B.; VENDRAMIM, J. D.; MARCHINI, L. C.; LOPES, V. R. E.; OMOTO, C. **Entomologia agrícola**. 3. ed. Piracicaba: FEALQ, 2002. 920 p.

GARCIA, F. R. M.; CAMPOS, J. V.; CORSEUIL, E. Flutuação populacional de *Anastrepha fraterculus* (Wiedmann, 1830) (Diptera, Tephritidae) na Região Oeste de Santa Catarina, Brasil. **Revista Brasileira de Entomologia**, v. 47, n. 3, p. 415-420, 2003.

GONCALVES, P. A. S.; DEBARBA, J. F.; KESKE, C. Incidência da mosca-das-frutas, *Anastrepha fraterculus* (Diptera: Tephritidae), em cultivares de ameixa conduzidas sob sistema orgânico. **Revista de Ciências Agroveterinárias**, v.4, n.2, p. 1001-108. 2005.

GONZAGA NETO, L.; SOARES, J. M. **Goiaba pra exportação: aspectos técnicos da produção**. Brasília: FrupeX, 1994. 49p.

HATSCHBACH, L. C. Selo de qualidade. **Revista CREA-PR**, n. 9, p. 5, 2000.

HERNANDEZ, C. R.; VENDRAMIM, J. D. Uso de índices nutricionales para el efecto insectistático de extratos de Meliáceas sobre *Spodoptera frugiperda*. **Manejo Integrado de Plagas**, n.48, p.79-88, 1998.

HOPKINS, G. W.; MEMMOT, J. Seasonality of a tropical leaf-mining moth: leaf availability versus enemy-free space. **Ecological Entomology**, v. 28, n. 6, p. 687-693, 2003.

IBRAF. Instituto Brasileiro de Frutas. **Estrutura da produção brasileira 2010**. Disponível em: <<http://www.ibraf.org.br>>. Acesso em: 17 jun. 2013.

ISMAN, M. B. Botanical insecticides, deterrents, and repellents in modern agriculture and an increasingly regulated world. **Annual Review of Entomology**, v. 51, p. 45-66, 2006.

JIRÓN, L. F.; MEXZON, R. G. Parasitoid hymenopterans of Costa Rica: Geographical distribution of the species associated with fruit flies (Diptera: Tephritidae). **Entomophaga**, v. 34, p. 53-60, 1989.

KAMIYA, A. C. **Criação massal em dieta líquida e radioesterilização da mosca-sul-americana *Anastrepha sp.1* aff. *fraterculus* (Wied., 1830) (Diptera: Tephritidae)**. Dissertação. (Mestrado em Ciências), CENA/USP, Piracicaba-SP. 2010.

KLASSEN, W.; CURTIS, C. V. **History of the sterile insect technique**. Sterile insect technique: principles and practice in area-wide integrated pest management, Springer, Dordrecht, Holanda, 2005.

KOGAN, M.; SHENK, M. Conceptualización del manejo integrado de plagas en escalas espaciales y niveles de integración más amplios. **Manejo Integrado de Plagas y Agroecología**, v. 65, p. 34-42, 2002.

LANCHER, W. **Ecofisiologia vegetal**. São Carlos: Rima, p. 519. 2000.

LARA, F. M.; **Princípios de resistência de plantas a insetos**. São Paulo: Ícone, 1991. 336p.

LUZ, J. M. Q.; SHINZATO, A. V.; SILVA, M. A. D. Comparação dos sistemas de produção de tomate convencional e orgânico em cultivo protegido. **Biociência Journal**, v.23, n.2, p.7-15,2007.

MALAVASI, A.; MORGANTE, J. S.; ZUCCHI, R. A. Biologia de “moscas-das-frutas” (Diptera: Tephritidae). In: lista de hospedeiro e ocorrência. **Revista Brasileira de Biologia**, v. 40, n. 1, p. 9-16, 1980.

MALAVASI, A.; MORGANTE, J. S. Adult and larval population fluctuation of *Anastrepha fraterculus* and its relationship to host availability. **Environmental Entomology**, v. 10, p. 275-278, 1981.

MALAVASI, A.; ZUCCHI, R. A. **Moscas-das-frutas de importância econômica no Brasil**: conceito básico e aplicado. Ribeirão Preto: Holos, 2000. 327p.

MEDEIROS, A. R. M. Alelopatia: importância e suas aplicações. **Hortisul**, v. 1, n. 3, p. 27-32, 1990.

MEDEIROS, C. A. M.; BOIÇA JUNIOR, A. L.; TORRES, A. L. Efeito de extratos aquosos de plantas na oviposição da traça-das-crucíferas, em couve. **Bragantia**, v. 64, n. 2, p. 227-232, 2005.

MEDINA, J. C.; CASTRO, J. V.; SIGRIST, J. M. M.; MARTIN, Z. J.; KATO, K.; MAIA, M. L.; GARCIA, A. E. B.; LEITE, R. S. S. F. **Goiaba**: cultura, matéria-prima, processamento e aspectos econômicos. 2. ed. Campinas: ITAL, 1991. p. 97-98. (Frutas Tropicais, 6).

MENDES, P. C. D. et al., Avaliação populacional de moscas-das-frutas (Diptera: Tephritidae) e de seus parasitóides larvais (Hymenoptera: Braconidae). Resumos do II Congresso Brasileiro de Agroecologia. **Revista Brasileira de Agroecologia**, v. 2, n. 1, 2007.

MESSING, R. H.; JANG, E. B. Response of the fruit fly parasitoid *Diachasmimorpha longicaudata* (Hymenoptera: Braconidae) to host-fruit stimuli. **Environmental Entomology**, v. 21, p. 1189-1195, 1992.

MESSING, R. H.; KLUNGNESS, L. M.; PURCELL, M. F. Short-range dispersal of mass-reared *Diachasmimorpha longicaudata* and *D. tryoni* (Hymenoptera: Braconidae), parasitoids of Tephritid fruit flies. **Journal Economic Entomology**, v. 87, p. 975-985, 1994.

MONTES, S. M. N. M.; RAGA, A. Eficácia de atrativos para monitoramento de *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae) em pomar de citrus. **Arquivo do Instituto Biológico**, v. 73, n. 3, p. 317-323, 2006.

MONTOYA, P. et al. Biological control of *Anastrepha* sp. (Diptera: Tephritidae) in mango orchards through augmentative releases of *Diachasmimorpha longicaudata* (Ashmead) (Hymenoptera: Braconidae). **Biological Control**, v. 18, n. 3, p. 216-224, 2000.

MORAIS, L. A. S. Óleos essenciais no controle fitossanitário. In: BETTIOL, W.; MORANDI, M. A. B. **Biocontrole de doenças de plantas**: uso e perspectiva. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, p. 139-152. 2009.

MOURA, A. P.; MOURA, D. C. M. Espécies de moscas-das-frutas (Diptera: Tephritidae) associadas à cultura da goiabeira (*Psidium guajava* Linnaeus) em Fortaleza, Ceará. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 73, n. 1, p. 65-71, 2006.

NAKA, J. Produção integrada da fruticultura. In: **Agroverde Informa** – CLAES. Disponível em: <<http://www.ambiental.net/agroverde/produ20integraca20frutas.htm>>. Acesso em 15 jul. 2012.

NORA, I. HICKEL, E. R.; PRANDO, H. O. Ocorrência de moscas-das-frutas em Santa Catarina. In: MALAVASI, A.; ZUCCHI, R. A. (Ed.). **Moscas-das-frutas de importância econômica no Brasil**: Conhecimento básico e aplicado. Ribeirão Preto: Holos. 2000.

OLIVEIRA C. 2008. **Fruticultura Brasileira em Análise**. Disponível em: <http://www.portaldoagronegocio.com.br/conteudo.php?id=24830>, Acesso em: 11 jun. 2013.

ORLANDO, A.; SAMPAIO, A. S. Moscas-das-frutas: nota sobre reconhecimento e combate. **O Biológico**, v. 39, n. 1, p. 143-150, 1973.

PARANHOS, B. A. J.; WALDER, J. M. M.; ALVARENGA, C. D. Parasitismo de larvas da mosca-do-mediterrâneo por *Diachasmimorpha longicaudata* (Ashmead) (Hymenoptera: Braconidae) em diferentes cultivares de goiaba. **Neotropical Entomology**, v. 36, n. 2, p. 243-246, 2007.

POMMER, C. V.; MURAKAMI, K. N. R.; WATLINGTON, F. Goiaba no mundo. **O Agrônomo**, v. 58, p. 22-26, 2009.

PURCELL, M. F.; JACKSON, C. G.; LONG, J. P.; BATCHELOR, M. A. Influence of guava ripening on parasitism on the oriental fruit fly, *Bactrocera dorsalis* (Hendel) (Diptera: Tephritidae), by *Diachasmimorpha longicaudata* (Ashmead) (Hymenoptera: Braconidae) and other parasitoids. **Biological Control**, v. 4, p. 396-404, 1994.

ROEL, A. R.; VENDRAMIM, J. D.; FRIGHETTO, R. T. S.; FRIGHETTO, N. Atividade tóxica de extratos orgânicos de *Trichilia pallida* Swartz (Meliaceae) sobre *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith). **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v. 29, p. 799-808, 2000.

ROZANE, D. E.; COUTO, F. A. A. **Cultura da goiabeira: tecnologia e mercado**. Viçosa: UFV, 2003. 402 p.

SALLES, L. A. B. Parasitismo de *Anastrepha fraterculus* (Wied.) (Diptera: Tephritidae) por Hymenoptera na região de Pelotas, RS. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 31, n. 11, p. 769-774, 1996.

SANTOS, J. P.; CORRENT, A. R.; BERTON, O.; SCHWARZ, L. L.; DENARDI, F. Incidência de podridão-branca em frutos de macieira com e sem fermentos. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 30, p. 118–121, 2008).

SHAMI, N. J. I. E.; MOREIRA, E. A. M. Licopeno como agente antioxidante. **Revista de Nutrição**, v. 17, n. 2, p. 227-236, 2004.

SIVINSKI, J. The influence of host fruit morphology on parasitization rates in the caribbean fruit fly, *Anastrepha suspense*. **Entomophaga**, v. 36, p. 447-454, 1991.

SOUZA FILHO, M. F.; RAGA, A.; CANAL, N. A.; ZUCCHI, R. A. *Anastrepha amita* Zucchi (Dip., Tephritidae): primeiro registro hospedeiro, nível de infestação e parasitóides associados. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 66, n. 2, p. 77-84, 1999.

SOUZA FILHO, M. F.; RAGA, A.; ZUCCHI, R. A. Incidência de *Anastrepha obliqua* (Macquart) y *Ceratitis capitata* (Wiedemann) (Diptera: Tephritidae) em carambola (*Averrhoa carambola* L.) en ocho localidades del estado de São Paulo, Brasil. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v. 29, n. 2, p. 367-371, 2000.

SOUZA FILHO, M. F.; COSTA, V. A. Manejo Integrado de Pragas da goiaba. In: ROZANE, D. E.; COUTO, F. A. **Cultura da goiaba**. Viçosa: Empresa Júnior de Agropecuária, 2003. p. 191-195.

TORRES, A.; BOIÇA JÚNIOR, A. L. B.; MEDEIROS, C. A. M.; BARROS, R. Efeito de extratos aquosos de *Azadirachta indica*, *Melia azedarach* e *Aspidosperma pyrifolium* no desenvolvimento e oviposição de *Plutella xylostella*. **Bragantia**, v. 65, n. 3, p. 447-457, 2006.

UCHOA-FERNANDES, M. A.; ZUCCHI, R. A. Metodología de colecta de tephritidae y lonchaeidae frugívoros (Diptera: Tephritoidea) y sus parasitoides (Hymenoptera). **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v. 28, n. 4, p. 601-610, 1999.

VARGAS, R. I.; STARK, J. D.; UCHIDA, G. K.; PURCELL, M. Opiine parasitoid (Hymenoptera: Braconidae) of oriental fruit fly (Diptera: Tephritidae) on Kauai Island, Hawaii: Island wide relative abundance and parasitism rates in wild and orchard guava habitats. **Environmental Entomology**, v. 22, p. 246-53, 1993.

VARLEY, G. C.; GRANDWELL, G. R.; HASSEL, M. P. **Insect population ecology**. Oxford: Blackwell Scientific Publications, 1973. 212 p.

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

CAPÍTULO 2 - Infestation of guava by *Anastrepha fraterculus* (Diptera: Tephritidae): preferred ripening stages and influence of fruit peel colouration¹

Flávia QUEIROZ DE OLIVEIRA^{1*}; Arlindo LEAL BOIÇA JÚNIOR¹; Maria de Lourdes ZAMBONI COSTA²; Jacinto DE LUNA BATISTA³; Karen ZAMBONI COSTA²; and Júlio Marcos MELGES WALDER².

¹ São Paulo State University, Faculty of Agriculture and Veterinary Science, Jaboticabal–SP, Brazil

² University of São Paulo. Center for Nuclear Energy in Agriculture. (CENA), Piracicaba-SP, Brazil.

³ Federal University of Paraíba – UFPB, Areia-PB, Brazil.

*Corresponding Author: fgoliveira@r7.com; (83) 9634 7702

Abstract

This study aimed to verify the ripening stage of guava fruits preferred for egg-laying by *Anastrepha fraterculus* (Diptera: Tephritidae) and to determine the influence of peel colouration of the fruits of two cultivars on infestation. The cultivars used were Paluma and Século XXI. The infestation level was evaluated in cages, considering two conditions: multiple and non-choice test. The infestation level of *A. fraterculus* differed between the stages green and green-ripe in the multiple choice test. In Paluma fruits, with the non-choice test, the infestation was highest at the ripe stage, while there were no differences in infestation level of *A. fraterculus* between green and green-ripe stages in Século XXI. In general, the more preferred stages for egg-laying by *A. fraterculus* are green-ripe and ripe. In Paluma fruits, there were significant correlations between the variables infestation level of *A. fraterculus* with Luminosity (*L*) and Chromaticity (*C*) in the non-choice assay. In Século XXI fruits, there was a significant correlation between the variables infestation level of *A. fraterculus* with colour angle (*h*) in the non-choice assay. No correlation was found between these parameters in the multiple-choice tests.

Key-words: Fruit flies; Myrtaceae; Preference-performance.

¹ Artigo nas normas e submetido ao periódico Turkish Journal of Agriculture And Forestry

1. Introduction

In Brazil, the area planted with fruit exceeds 2,000 million hectares, with a production of about 43 million tons/year, highlighting the existence of some regional specialisation, which is mainly influenced by weather. The regions closer to the equator are responsible for the production of tropical fruits such as guava *Psidium guajava* (Myrtaceae), banana *Musa* spp. (Musaceae), mango *Mangifera indica* (Anacardiaceae), melon *Cucumis* spp. (Cucurbitaceae) and cocoa *Theobroma* spp. (Malvaceae). In the southern regions, there are temperate fruit trees such as peach *Prunus persica* (Rosaceae), apple *Malus domestica* (Rosaceae), and grape *Vitis vinifera* (Vitaceae) (Ibraf, 2010; Fachinello et al., 2011).

Fruit flies are major pests that decrease the production of fruits in Brazil and reduce export due to quarantine regulations imposed by importing countries (Duarte and Malavasi, 2000; Klassen and Curtis, 2005, Oliveira *et al.* 2014). The damage caused by these flies are reflected in the domestic market with the loss of fruit caused by larval feeding and by adults, specifically females, who make holes in the peel of fruits for egg-laying which in turn allows the entry of fungi causing rotteness. According to the FAO (United Nations Food and Agriculture), fruit-flies cause damage to the amount of \$ 1.7 billion worldwide, and 10% of this value is found in Brazil (Ibraf, 2010).

Anastrepha fraterculus (Wiedemann, 1830) (Diptera: Tephritidae) is considered a major pest of guava (Malavasi and Morgante, 1981), but has also recorded on wide number of other hosts including commercial crops (White et al. 1994). A direct relationship between the infestation of fruit flies and fruit rotteness incidence in some crops, such as apple, can be frequently seen (Santos et al,

2008). The different behaviour preference or non-preference of *A. fraterculus* for egg-laying in cultivars may be related to the nutritional quality of fruits as well as the chemical characteristics and the visual appearance (Zucoloto, 1993). These aspects are directly related to the behaviour of fruit flies, considering that during site selection for oviposition, several aspects can be evaluated by the tephritid females, such as plant size, colour, odour, taste, ripening stage and the presence of other eggs (Slansky, 1982). Besides the colour, the size and shape of the host are other visual factors used in resource localization, with chemical stimuli, nutrients, volatile substances, and inhibitors for feeds and feeding stimulation also having effects (McCinnis, 1989). The determination of ripening stage preferred for egg-laying is of great importance for the cultural management of fruit flies. Nevertheless, this preference can be dependent on the cultivar. Therefore, this study aimed to determine the ripening stage of guava fruits preferred for egg-laying of *A. fraterculus* and the relation to physiochemical parameters of fruit cultivars Paluma and Século XXI.

2. Material and Methods

The research was conducted in the Laboratory of Plant Resistance to Insects, Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture and Veterinary Sciences (FCAV) - UNESP – Jaboticabal, São Paulo, Brazil. The test of the maturity stages of guava fruits preferred for egg-laying of *A. fraterculus* was realised with fruits of the cultivars Paluma and Século XXI. The fruits were obtained from the VAL Fruit Company, located in Vista Alegre do Alto, 35 km from Jaboticabal - SP. These cultivars were chosen based on their frequent cultivation in Brazil (El-Buluk, 1995, Anuário Brasileiro da Fruticultura, 2009). Moreover, there is a difference in the susceptibility between these cultivars; in this context, in

according to Oliveira *et al.* (2014) Século XXI is more susceptible than Paluma to infestation by *A. fraterculus*, but these data are related only to green-yellow fruits of guava ().

Guava fruits were assayed at three stages of physiological maturity: green, green-yellow ripe and fully ripe. The stage of maturity were assayed according to Cavalini *et al.* 2006. Fruits were cleaned with sodium hypochlorite (1%), water-rinsed and dried at room temperature on a paper towel, before being placed in the test cages. Tested specimens of *A. fraterculus* were taken from mass rearing on an artificial diet (Salles, 1992) held at the Laboratory of Radioentomologia in the Centre for Nuclear Energy in Agriculture - CENA/USP, located in Piracicaba - SP. Attractiveness and infestation level were determined in bioassays for each cultivar separately, considering two situations: 1) multiple-choice test and 2) non-choice test. Both bioassays were conducted in a room at an average temperature of $25 \pm 1^\circ \text{C}$, relative humidity of $60 \pm 10\%$ and photophase of 12 h.

Attractiveness and infestation level were determined in both tests for each cultivar and expressed as number of visits (female/fruit) and number of offspring (larvae / female / fruit), respectively. The number of females attracted by the different treatment was counted at 1', 3', 5', 10', 20', 30', 60", 120", 180", 360" and 1440", was realized an instantaneous count at each time increment, every insects found on each fruit was considered as a visit. After 10 days, the fruits were dissected and the number of larvae of *A. fraterculus* counted in each fruit was observed, according to the procedure adopted by Oliveira *et al.* (2012).

2.1. Multiple-choice test

Three fruits, one fruit from each stage of each cultivar, were placed equidistant among them inside a plastic cage (30 - cm long, 30 - cm wide and 40 –

cm high), each cultivar was evaluated separately. Ten cages were arranged; each cage was a replicate and corresponded to a block, allowing a randomised block design to be used. Fertile females (ten days after emergence) of *A. fraterculus* were used, with three being released per cage.

2.2. No-choice test

Only one fruit was placed on a cylindrical plastic cage (15 - cm in diameter and 10 - cm high). One fertile female (ten days after emergence) of *A. fraterculus* was released per cage. Ten cages for each stage/cultivar were arranged; each cage was a replicate and a fully randomised design was set. For the evaluations, the procedures utilised were the same as for the multiple choice test.

2.3. Peel colouration analysis

Fruits of two cultivars were harvested at the mature stages: green, green-yellow and fully ripe stages; these were analysed at the Laboratory of Technology of Agricultural Products, Department of Technology, Faculty of Agricultural Sciences and Veterinary (FCAV) - UNESP - Jaboticabal. Were used four fruits for stage/cultivar, with each fruit considered a replicate.

The peel colouration of the fruits was inspected by a Minolta colorimeter, model CR - 300 (configuration: *LC h* colour system). Two readings were taken per fruit on opposite sides of its equatorial region (Mcguire, 1992). The parameter *h* (colour angle) can range from 0 ° to 360 °, where 0 ° corresponds to the colour red, 90 ° to yellow, and 180 ° and 270 ° to green and blue, respectively. *C* is chromaticity, which sets the colour intensity, assuming values close to zero for neutral colours (grey) and around 60 for vivid colours (Mcguire, 1992). *L* is luminosity of the peel; this parameter represents the brightness of the surface and follows a scale ranging from 0 (dark colours and opaque) to 100 (white colour or

maximum brightness).

2.4. Data analysis

The data regarding the presence of females for each treatment as a function of time were subjected to logistic regression analysis, fitting the data to binomial distribution, using the procedure GENMOD (Sas, 2006). The probability (p) of individuals occurring in the fruit was estimated using the model:

$$p = \exp (P_0 + P_1x + P_2x^2 + P_3x^3) / 1 + (\exp (P_0 + P_1x + P_2x^2 + P_3x^3))$$

Where, \exp is the exponential function, x is time and P_0 , P_1 , P_2 and P_3 are the logistic regression parameters associated with the slope of curve. The infestations were compared using SNK test ($P < 0.05$). We tested the normality (Shapiro-Wilk and Kolmogorov D) and homogeneity of variances (Bartlett's test). For physicochemical analyses, the data were subjected to ANOVA and the means were compared by SNK test. All figures were plotted by Sigma Plot software (version 11.0). Pearson's correlation analyses were used to study relationships between infestation level and physicochemical parameters of fruits using the procedure CORR (SAS Institute 2002).

3. Results

3.1. Multiple-choice test:

In this assay, the results showed that the interaction between ripening stage versus cultivar was not significant ($F_{2,5} = 1.15$, $P > 0.05$). Therefore, the data of infestation were summed and analysed together. Fruit ripening stages significantly affected the infestation rate of *A. fraterculus*. At the ripening stage, green-yellow was found to have the highest level of infestation (5.44 larvae / female / fruit), followed by the fully ripe stage (4.25 larvae / female / fruit) and green (1.77 larvae / female/fruit) (Figure 1).

The curves of visit proportion as a function of time were generated using the model: $\exp(P_0 + P_1x + P_2x^2) / 1 + (\exp(P_0 + P_1x + P_2x^2))$ (Figures 2 and 3). The quadratic coefficient of regression (P_2) was positive for ripening stage green, in both cultivars. At the green and green-ripe stages, this coefficient was negative in Paluma and Século XXI cultivars (Figure 2). In the Século XXI fruits, the visit proportions were significantly higher at the green stage than the green-ripe and ripe stages (Figure 3). However, in the Paluma fruits, the visit proportions were significantly higher at the green-ripe stage than at the green and ripe stages. The proportion of individuals per fruit increased (green stage) and/or decreased significantly at other stages (green-ripe and ripe) 120 minutes after the release of *A. fraterculus* (Figure 4).

3.2. No-choice test:

In the no-choice test, the interaction between stage of ripening and cultivar was significant ($F_{2,5} = 3.21$, $P < 0.0001$). In fact, the *A. fraterculus* infestation in the fruits of the Paluma differed between ripening stages, but in the Século XXI fruits there were no significant difference in the infestation level among ripening stages. In the Paluma fruits, the fully ripe stage had the highest level of infestation (8.75 larvae / female / fruit), followed by the green stage (3.16 larvae / female / fruit) and green-yellow (2.62 larvae / female / fruit), respectively. For the Século XXI cultivar, it was observed that the ripening stage with the highest rate of infestation was the green-yellow (7.10 larvae / female / fruit); however, this was not significantly different from the green (6.10 larvae / female / fruit) and ripe stages (3.10 larvae / female / fruit).

Regarding the comparison of infestation level of *A. fraterculus* between cultivars Paluma and Século XXI within the same stage, it was observed that only

the infestation at the green stage did not differ significantly between these varieties, with infestations of 3.16 and 6.10 larvae/female/fruit, respectively. In contrast, significant differences were found between the stages green-ripe and ripe with infestations of 2.62 and 6.10 larvae/female/fruit and 8.75 and 3.10 larvae / female / fruit in the cultivars Paluma and Século XXI, respectively (Figure 5).

The curves of visit proportion as a function of time were generated using the model: $\exp (P_0 + P_1 x) / 1 + (\exp (P_0 + P_1 x))$. In the non-choice test, the linear regression coefficients (P_1) were positive for the conditions Paluma cultivar (Figure 6), green-ripe and ripe, and Século XXI (Figure 7), green stage; they were negative for the other conditions: Paluma cultivar, green and Século XXI cultivar, green-ripe and ripe (Figures 6 and 7). In the Paluma fruits, for the majority of the time, the visit proportions were significantly higher at the green stage than green-ripe and ripe stages (Figure 8). The visit proportion increased significantly in fruits at the green-ripe stage of Paluma after 720 minutes. However, in the Século XXI cultivar, a higher female visit proportion was found in fruits with green-ripe than other stages of Secúlo XXI cultivar between 1 and 720 minutes. The visit proportion of *A. fraterculus* was practically constant until 30 minutes after the release of females at green fruits of Século XXI cultivar; after 120 minutes, a significant increase in this proportion was found. A decrease in the occurrence at green-ripe and ripe stages was observed 120 minutes after the release of insects (Figure 8).

3.3. Peel colouration and relation with infestation level of *A. fraterculus*:

There was a significant difference between the stages ripe and green in the colour parameters luminosity (L) and colour angle (h) in fruits of cultivar Paluma. With regards to parameter chromaticity (C) in the Paluma fruits, the stage that

provided the highest value was green-ripe (48.43), followed by green (45.97) and ripe (40.45), respectively. Moreover, there was no difference among the stages green, green-ripe and ripe in the colour parameters luminosity and chromaticity. A significant difference was found in the colour angle (h) in Século XXI fruits, with the lower h parameter being observed at the green-ripe stage; there was no difference between green and ripe values of h (Table 1).

Correlations between infestation levels of *A. fraterculus* with Luminosity (L) and Chromaticity (C) of Paluma fruits in the non-choice assay. There was a significant correlation between the variables infestation level of *A. fraterculus* with: colour angle (h) of Século XXI fruits in the no-choice assay. No correlation was found between these parameters in the multiple-choice tests (Table 2).

4. Discussion

Our results of the present study showed that differences exist in the infestation level of *A. fraterculus* between the stages studied. Also, the difference in cultivar depends on the bioassay (multiple or no-choice test). In the multiple-choice test, the lower infestation was found in the green stage in comparison to the green-ripe stage. On the other hand, in the no-choice test, statistical differences were detected between the cultivars and between stages of ripening. In the no-choice test, the susceptibility of guava cultivars depended on the maturity stage. In fact, in Paluma fruits, the highest infestation level was observed for the ripe fruits. However, in the ripe fruits of Século XXI cultivar, a lower infestation was observed in comparison to other stages of this cultivar and in relation to Paluma ripe fruits (Figure 2). In respect to infestation level in guava fruits, similar results were found in this same species in others studies (Uchôa-Fernandes *et al.* 2002). Therefore the maturity stage of the hosts can be a decisive factor for the

attractiveness and level of infestation of *A. fraterculus*, considering that this factor is directly related to the peel colour of the hosts and the levels of nutrients. The fruit flies of tropical and subtropical regions are transient and settling in areas where fruits undergo a ripening process (Selivon, 2000). Senescent fruits are more susceptible to attack by fruit flies than fruit early in the season (Greany, 1989). The most susceptibility is the great importance to design management strategies as development and assessment of plant-based synthetic odor baits (Nyasembe *et al.* 2014). In according to Oliveira *et al.* (2014) in both tests (multiple and no choice), the rate of fruit infestation by *A. fraterculus* did not differ among cvs. Pedro Sato, Paluma and Cascão, whereas the fruits of cv. Século XXI were more infested, but were evaluated only green-ripe fruits. In *B. dorsalis*, a greater preference was found in green-ripe or ripe mangoes due to the softness of the pericarp, since the chemical differences of fruits in different ripening stages are seen as responsible for the attack of fruit flies (Reissig, 1979, Bower, 1997). *Anastrepha obliqua* (Diptera: Tephritidae) were more attracted to lime-green, orange, and yellow spheres than to red, black, or white spheres (Lopéz-Guillén *et al.* 2009).

Flies were more attracted to lime-green spheres baited with mombin fruit odor, *Spondias mombin* L., than to spheres offering either visual or cues alone (Lopéz-Guillén *et al.* 2009). In this study, it was observed that the data of infestation level of *A. fraterculus* did not followed the pattern of infestation, because the visit proportions in the Século XXI fruits were significantly higher in the green stage than in green-ripe and ripe stages (Figure 3). However, in the Paluma fruits, the visit proportions were significantly higher in the green-ripe stage than in the green and ripe stages. Fruit flies from fruit larger with better nutritional

composition are expected to show better performance, especially regarding reproductive success, as this is directly related to the intake during the larval stage, two primary nutrients, proteins and carbohydrates. In the immature stage, the quantity and quality of nutrient intake affect weight, development time, the chemical composition of the body, adult size and egg production, as the reproductive success of fruit flies depends on the ability of the female to find a host that provides all the nutrients for the immature (Zucoloto, 2000). Colouration of fruits and the odours released by the fruit ripening stages are also related to the attractiveness of the location for host fruit flies (Vargas, 1991, Messing and Jang, 1992, Bautista and Harris, 1996). In some cases, the preference of a fruit fly host is due to the richness of sugars. However, other factors such as colour, texture and volatiles emitted by plants also influence the choice of the fruit fly for egg-laying (Cruz, 2000). The indexes of pH did not interfere with the infestation of *A. fraterculus*, whereas a high rate of soluble solids and low color angle appear to be crucial for discriminating the fruits of the most susceptible cultivars. Infestation rate of Século XXI fruits displayed significant correlations with: °Brix and color angle (h) of guava fruits under the multiple choice conditions (Oliveira *et al.* 2014). The results of the present study showed the highest value of parameter chromaticity (C) in the green-ripe stage of Paluma fruits. According to the hue angle (h), the stages of cultivars studied showed a yellow colour with values of around 100, assuming that 90° corresponds to yellow (Table 1). In Século XXI fruits, the lower value of h parameter was observed in the green-yellow stage. Also, the relation between peel and infestation level depends on the specific parameter within each cultivar. In Paluma fruits, there were significant correlations between the variables infestation level of *A. fraterculus* with Luminosity (L) and Chromaticity (C) in the

non-choice assay. In Século XXI fruits, there was a significant correlation between the variables infestation level of *A. fraterculus* with colour angle (h) in the non-choice assay.

A high flexibility of behaviours displayed by a species makes it more likely to adapt to new conditions, as stated in Sugayama and Malavasi (2000). Thus, a polyphagous insect with high behavioural flexibility may, for example, maintain a large number of hosts, which can be related to the present study, where all stages of ripening of the varieties studied were, to some degree, infested and attractive to *A. fraterculus*. In the multiple-choice test, the stage preferred by *A. fraterculus* infestation was green-yellow; in the non-choice test, *A. fraterculus* preferred to lay eggs in ripe fruits in the Paluma cultivar; in Paluma fruits, there were significant correlations between the variables infestation level of *A. fraterculus* with Luminosity (L) and Chromaticity (C) in the non-choice condition. In Século XXI fruits, there was a significant correlation between the variables infestation level of *A. fraterculus* with colour angle (h) in the non-choice condition. These results are of great importance to cultural control of *A. fraterculus*, as adoption of criterion on plants baits and development of baits with basis on synthetic odor depending on the ripening stages cultivar. In particular to tephritid studies about genotypes or ripening stages in terms of low susceptibility to fruit flies may contribute to the IPM programs for these pests, especially on insect management of resistance, because is possible to use cultivar most susceptible cultivar as refuge on areas with insect resistance genotypes, however the results of laboratory tests with picked fruit need to be interpreted with caution because fruit condition and chemical profiles in the fruit can change radically after it is removed from the tree

(Turgeon *et al.* 1998); thereby affecting the adult preference and the immature performance of a fruit by species (Lloyd *et al.* 2013).

6. References cited

Anuário Brasileiro da Fruticultura (2009). Cenário. Caindo de maduro. Santa Cruz do Sul, RS, Brasil: Gazeta Santa Cruz Ltda.

Bautista RC, Harris EJ (1996). Effect of fruit substrates on parasitization of tephritid fruit flies (Diptera) by the parasitoid *Biosteres arisanus* (Hymenoptera: Braconidae). *Environ Entomol* 25: 470-475.

Bower CC (1977). Inhibition of larval growth of the Queensland fruit fly *Dacus tryoni* (Diptera, Tephritidae) in apples. *Ann Entomol Soc Am* 70: 97-100.

Cruz IBM, Nascimento JC, Taufer M, Oliveira AK (2000). Morfologia do aparelho reprodutor e biologia do desenvolvimento. In: Malavasi A, Zucchi RA, editores. Moscas-das-frutas de importância econômica no Brasil: Conhecimento básico e aplicado. 1ª ed. Ribeirão Preto, SP, Brasil: Holos, pp. 55-66.

Duarte AL, Malavasi A (2000). Moscas-das-frutas de importância econômica no Brasil: Conhecimento básico e aplicado. 1ª ed. Ribeirão Preto, SP, Brasil: Holos.

El-Buluk RE, Babiker EE, El Tinay AH (1995). Biochemical and physical changes in fruits of four guava cultivars during growth and development. *Food Chem* 54: 279-282.

Fachinello JC, Pasa MS, Schmitz JD, Betemps DL (2011). Situação e perspectivas da fruticultura de clima temperado no Brasil. *Rev Bras Frutic* volume especial: 109-120.

Greany PD (1989). Host plant resistance to tephritids: An under exploited control strategy. In: Robinson AS, Hooper G, editors. Fruit flies: Their biology, natural enemies and control. New York, USA: Elsevier, pp. 353-362.

Ibraf (2010). Instituto Brasileiro de Frutas. Estrutura da produção brasileira. Disponível em: <<http://www.ibraf.org.br>>. Acesso em: 17 jun. 2013.

Klassen W, Curtis CV (2005). History of the sterile insect technique. Sterile insect technique: Principles and practice in area-wide integrated pest management. Dordrecht, Holanda: Springer.

Lloyd AC, Hamacek, EL, Smith, D, Kopittke, RA, Gu, H. (2013) Host susceptibility of *Citrus* cultivars to queensland fruit fly (Diptera: Tephritidae). J Econ Entomol: 106: 883-890.

López-Guillén G, Valle-Mora J, Cazares CL, Rojas JC (2009). Response of *Anastrepha obliqua* (Diptera: Tephritidae) to visual and chemical cues under seminatural conditions. J Econ Entomol 102: 954-959.

Malavasi A, Morgante JS (1981). Adult and larval population fluctuation of *Anastrepha fraterculus* and its relationship to host availability. Environ Entomol 10: 275-278.

Mcguire RG (1992) Reporting of objective color measurements. Hortsci 27: 1254-1255.

McCinnis DO (1989). Artificial oviposition sphere for Mediterranean fruit flies (Diptera: Tephritidae) in field cages. J Econ Entomol 82: 1382-1385.

Messing RB, Jang EB (1992). Response of the fruit fly parasitoid *Diachasmimorpha longicaudata* (Hymenoptera: Braconidae) to host fruit stimuli. Environ Entomol 21: 1189-1195.

Oliveira C (2008). Fruticultura Brasileira em Análise. Disponível em: <http://www.portaldoagronegocio.com.br/conteudo.php?id=24830>, Acesso em: 11 jun. 2013.

Oliveira FQ, Malaquias JB, Figueiredo WRS, Batista JL, Beserra EB (2012). Inhibition of fruit infestation by Mediterranean fruit fly using natural products. *Afr J Biotechnol* 11: 13922–13927.

Oliveira, FQ, Boiça Júnior, A.L, Costa, MLZ, Sanches, PA, Walder, JMM, Batista, JL. (2014) Preference and infestation level of *Anastrepha fraterculus* (Wiedemann, 1830) on fruits of some *Psidium guajava* L. cultivars and relation to their physicochemical parameters. *Phytoparasitica*, doi 10.1007/s12600-014-0384-7

Oliveira, FQ, Malaquias, JB, Figueiredo, WRS, Batista, JL, Beserra, EB, Oliveira, R. (2014) Insecticidal activity of bioproducts on *Ceratitis capitata* Wiedemann (Diptera: Tephritidae). *Afr J Biotechnol* 13: 1430-1438.

Reissig W (1979). Survival of apple maggot larvae, *Rhagoletis pomonella* (Diptera, Tephritidae), in picked and unpicked apples. *Can Entomol* 111: 181-187.

Santos JP, Corrent AR, Berton O, Schwarz LL, Denardi F (2008). Incidência de podridão-branca em frutos de macieira com e sem fermentos. *Rev Bras Frutic* 30: 118-121.

Salles LAB (1992). Metodologia de criação de *Anastrepha fraterculus* (Wied., 1830) (Diptera: Tephritidae) em dieta artificial em laboratório. *Na Soc Entomol Bras* 21: 479-486.

Sas Institute (2006). SAS/Stat Users Guide. NC: Cary.

Slansky FJR (1982). Insect nutrition: an adaptationist's perspective. *Fla Entomol* 65: 45-71.

Selivon, D (2000). Relações com plantas hospedeiras. In: Malavasi A, Zucchi RA, editores. Moscas-das-frutas de importância econômica no Brasil: Conhecimento básico e aplicado. 1ª ed. São Paulo, SP, Brasil: Holos, pp. 41-54.

Sugayama RL, Malavasi A (2000). Ecologia Comportamental. In: Malavasi A, Zucchi RA, editores. Moscas-das-frutas de importância econômica no Brasil: Conhecimento básico e aplicado. 1ªed. Ribeirão Preto, SP, Brasil: Holos, pp. 103-108.

Turgeon, JJ, Brockerhoff, EG, Lombardo, DA, MacDonald, L, Grant, GG. (1998). Differences in composition and release rate of volatile emitted by black spruce seed cones sampled in situ vs ex situ. Can. J. For. Res. 28: 311-316.

Uchôa-Fernandes MA, Oliveira I, Molina RMS, Zucchi RA (2002). Species diversity of frugivorous flies (Diptera: Tephritoidea) from hosts in the Cerrado of the state of Mato Grosso do Sul, Brazil. Neotrop Entomol 31: 515-524.

Vargas RI, Stark JD, Prokopy RJ, Green TA (1991). Response of oriental fruit fly (Diptera:Tephritidae) and associated parasitoids (Hymenoptera: Braconidae) to different-color spheres. J Econ Entomol 84: 1503-1507.

Zucoloto FS (1993). Acceptability of different Brazilian fruits to *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae) and fly performance o each species. Braz J Med Biol Res 26: 291-298.

Zucoloto FS (2000). Alimentação e nutrição de mosca-das-frutas. In: Malavasi A, Zucchi RA, editores. Moscas-das-frutas de importância econômica no Brasil: Conhecimento básico e aplicado. 1ª ed. Ribeirão Preto, SP, Brasil: Holos, pp. 67-80.

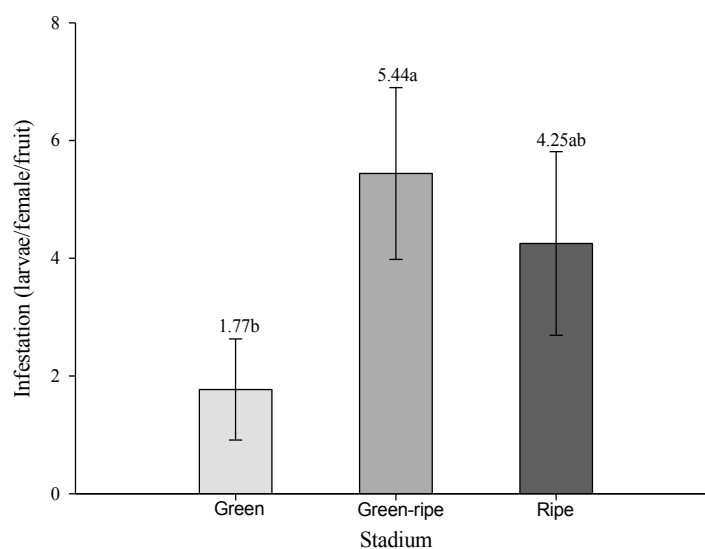


Figure 1. Multiple choice test. Mean (\pm SE) of the number of larvae of *Anastrepha fraterculus* by female by guava of cultivars: Paluma and Sécuro XXI, at the stages green, green-ripe and ripe. Means followed by the same letters do not differ by SNK's test ($P = 0.05$).

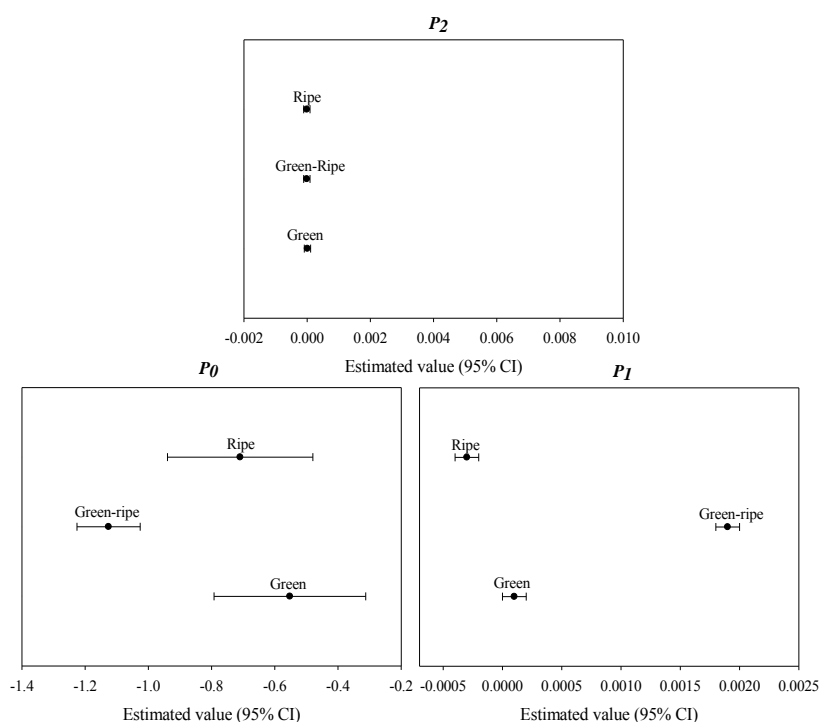


Figure 2. Multiple choice test. Estimates of logistic regression parameters and confidence intervals (95% CI) of visit proportion of *Anastrepha fraterculus* female/fruit of Paluma cultivar. P_0 , P_1 , P_2 are the logistic regression parameters associated with the slope of the curve.

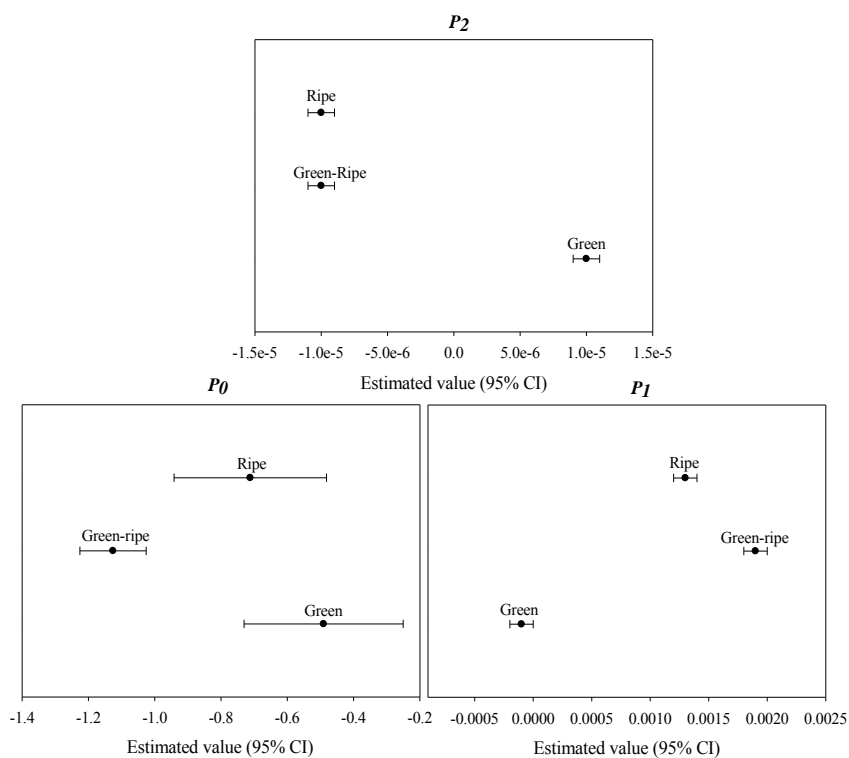


Figure 3. Multiple choice test: Estimates of logistic regression parameters and confidence intervals (95% CI) of visit proportion of *Anastrepha fraterculus* female/fruit of Sécuro XXI cultivar. P_0 , P_1 , P_2 are the logistic regression parameters associated with the slope of the curve.

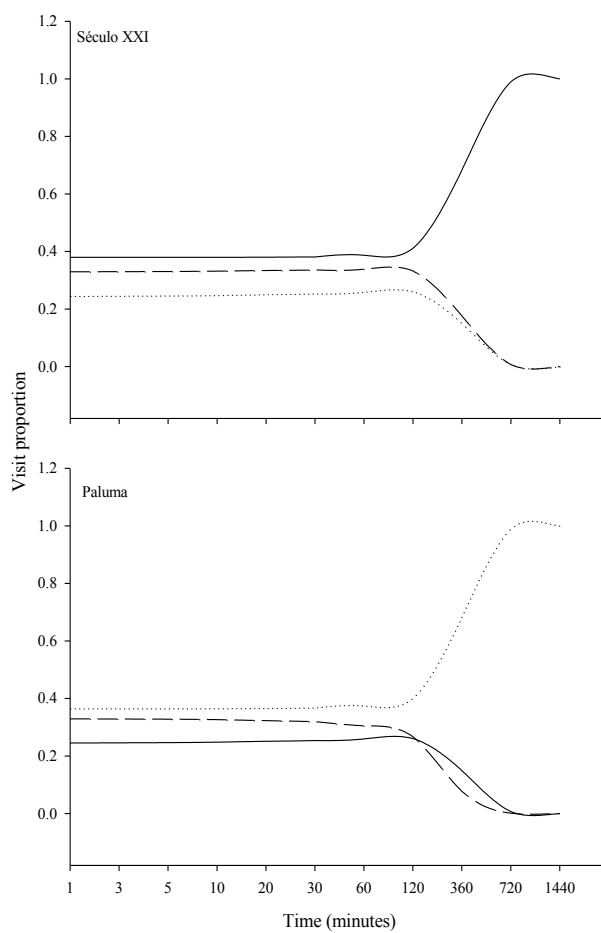


Figure 4. *Multiple choice test:* Logistic regression of visit proportion of *Anastrepha fraterculus* female / fruit of guava cultivars Paluma and Sécuro XXI at the stages: green (—); green-ripe (.....) and ripe (---).

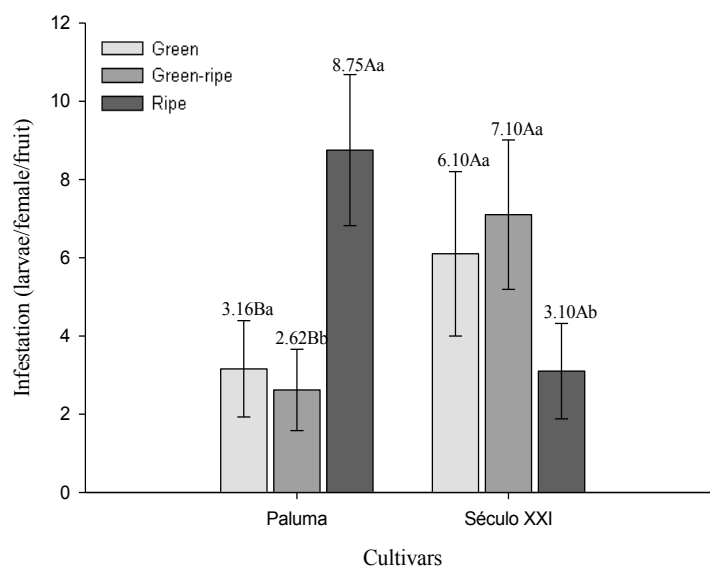


Figure 5. Non-choice test. Mean (\pm SE) of the number of larvae of *Anastrepha fraterculus* by female by guava of cultivars: Paluma and Século XXI, at the stages green, green-ripe and ripe. Means followed by the same capital letters (within same cultivar) and lower letters (within same stage) do not differ by SNK's test ($P = 0.05$).

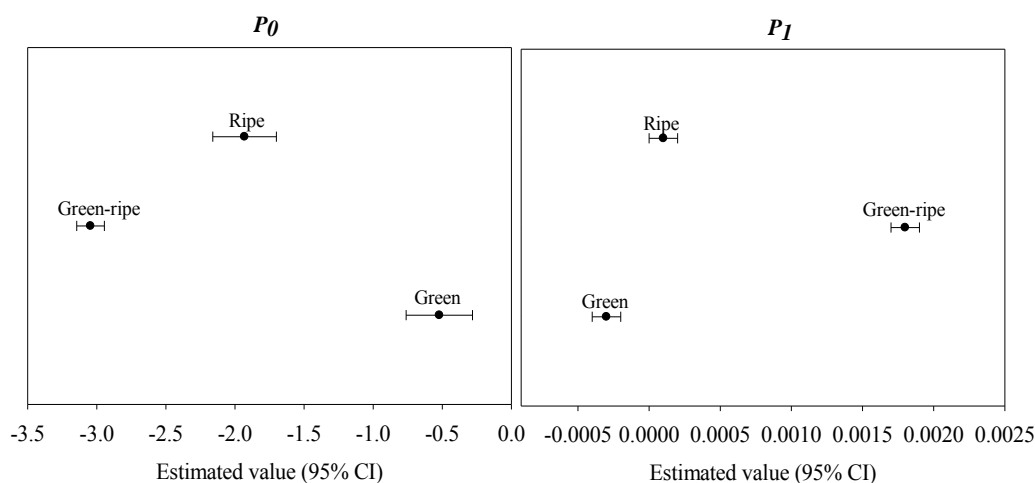


Figure 6. Non-choice test. Estimates of logistic regression parameters and confidence intervals (95% CI) of visit proportion of *Anastrepha fraterculus* female/fruit of Paluma cultivar. P_0 , P_1 are the logistic regression parameters associated with the slope of the curve.

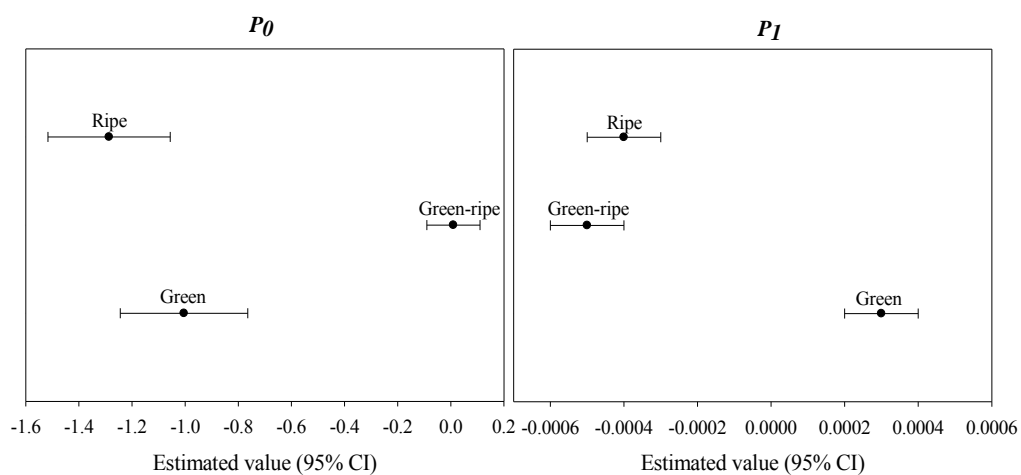


Figure 7. Non-choice test: Estimates of logistic regression parameters and confidence intervals (95% CI) of visit proportion of *Anastrepha fraterculus* female/fruit of Sécuro XXI cultivar. P_0 , P_1 are the logistic regression parameters associated with the slope of the curve.

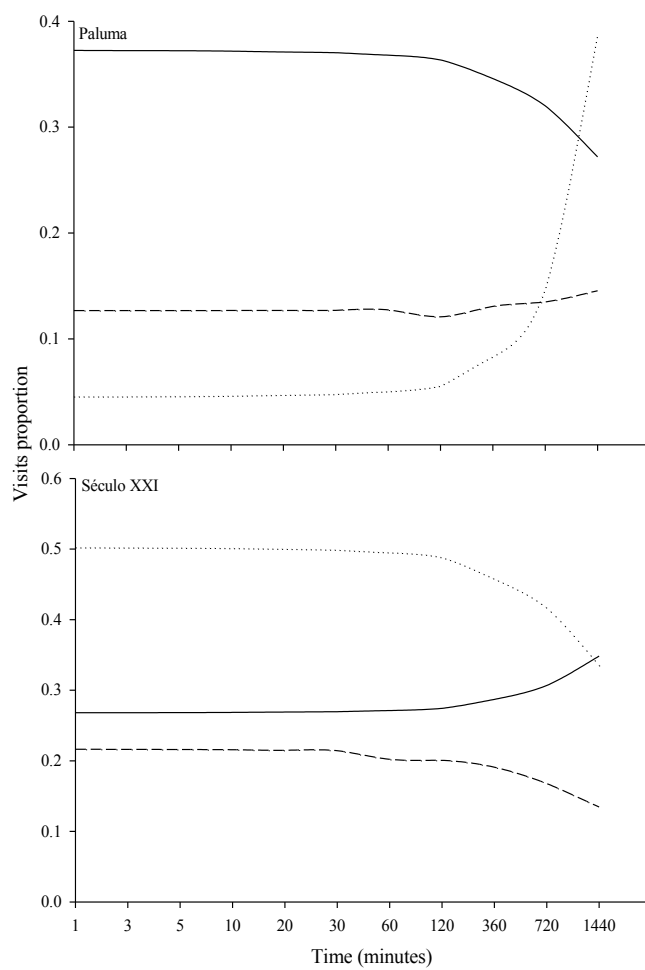


Figure 8. *Non-choice test:* Logistic regression of visit proportion of *Anastrepha fraterculus* female / fruit of guava cultivars Paluma and Século XXI at the stages: green (—); green-ripe (.....) and ripe (---).

Table 1. Peel colouration of three stages on fruit of cultivars: Paluma e Século XXI

Stage	Cultivars					
	Paluma			Século XXI		
	<i>L</i>	<i>C</i>	<i>H</i>	<i>L</i>	<i>C</i>	<i>h</i>
Green	63.90 ± 1.23 b	45.97 ± 0.89 b	106.87 ± 5.06 a	64.12 ± 3.08 a	48.73 ± 2.03 a	108.40 ± 2.54 a
Green-ripe	74.18 ± 2.09 ab	48.43 ± 1.08 a	99.95 ± 2.34 ab	69.74 ± 4.55 a	51.78 ± 4.57 a	97.47 ± 1.06 b
Ripe	80.15 ± 1.25 a	40.45 ± 0.97 c	86.59 ± 1.08 b	64.57 ± 1.36 a	49.44 ± 1.29 a	104.60 ± 2.67 a

L = luminosity; C = chromaticity; h = colour angle. Means followed by the same letter do not differ by SNK's test at 5% probability.

Table 2. Values of Pearson correlation coefficients¹ and probabilities² between infestation level of *Anastrepha fraterculus* and physicochemical fruits characteristics of guava cultivars

Cultivar/Stage	Parameter		
	L	C	h
Paluma			
Multiple choice	$r = 0.5145; P = 0.2667$	$r = 0.1710; P = 0.8906$	$r = -0.7300; P = 0.4667$
Non-choice	$r = -0.7281; P = 0.0480$	$r = 0.9100; P < 0.0001$	$r = -0.5010; P = 0.6670$
Século XXI			
Multiple choice	$r = 0.6396; P = 0.5582$	$r = 0.5100; P = 0.6700$	$r = -0.4047; P = 0.7347$
Non-choice	$r = 0.6299; P = 0.5672$	$r = 0.5157; P = 0.6550$	$r = -0.9799; P < 0.0001$

L = luminosity; C = chromaticity; h = colour angle. ¹r = Pearson's correlation coefficients. ²P = Probability > r.

CAPÍTULO 3 - Preference and infestation level of *Anastrepha fraterculus* (Wiedemann, 1830) (Diptera: Tephritidae) on fruits of some *Psidium guajava* L. cultivars and relation to their physicochemical parameters²

Flávia Q. de Oliveira^{1*}; Arlindo L. Boiça Junior¹; Maria de Lourdes Z. Costa²; Patricia A. Sanches²; Julio M. M. Walder²; Jacinto de L. Batista³

¹Universidade Estadual Paulista – UNESP/FCAV, Departamento de Fitossanidade, CEP 14884900, fqoliveira@r7.com; aboicajr@fcav.unesp.br;

²Centro de Energia Nuclear na Agricultura – CENA/USP, CEP 13416-000, julio.walder@gmail.com; lia@cena.usp.br;

³Universidade Federal da Paraíba – UFPB/CCA, Departamento de Fitotecnia e Ciências Ambientais, CEP 68397-000, jacinto@cca.ufpb.br.

*Corresponding Author: fqoliveira@r7.com; (83)9634 7702

Abstract

This study aimed to verify the preference and infestation level of *Anastrepha fraterculus* (Diptera: Tephritidae) in fruits of guava cultivars and to correlate them to variables such as peel colouration, soluble solids and pH of fruit cultivars. We used the following cultivars: Pedro Sato, Paluma, Cascão(or Sasaoka) and Século XXI. The infestation was evaluated in cages, considering two scenarios: non-choice and multiple choice test. In both tests, evaluations of the fruit attraction of insects were conducted for a period of 1', 3', 5', 10', 20', 30', 1 h, 2 h, 6 h, 12 h and 24 h. The visit of *A. fraterculus* on the assayed cultivars in relation to the time was studied by logistic regression. After 10 days, the number of larvae in each fruit was recorded. In multiple choice test, the visit proportions were significantly higher in the fruits of Século XXI and Pedro Sato cultivars than in those of Paluma and Cascão cultivars. In the non-choice test, the visit proportions were significantly lower in the Paluma fruits. In both tests, the rate of fruit infestation by *A. fraterculus* did not differ among Pedro Sato, Paluma and Cascão cultivars while the fruits of Século XXI cultivar were more infested. The indexes of pH did not interfere with the infestation of *A. fraterculus* while a high rate of soluble solids and low colour angle appeared to be crucial for discriminating the fruits of the most susceptible cultivar. In fact, infestation rate of Seculo XXI fruits displayed significant correlations with °Brix ($r= 0.7078$) and Colour angle (h) ($r= -0.9499$) in the multiple choice conditions.

Keywords: fruit fly, reproductive behaviour, Tephritidae, guava, plant resistance to insects.

² Artigo aceito para publicação no periódico Phytoparasitica.(DOI: 10.5897/ABJ2013.13381)

Introduction

Brazil is one of the largest producers of guava (*Psidium guajava* Linnaeus) in the world and 60% of the total volume is produced in the northeast region. The most commonly planted cultivars include Kumagai, Pedro Sato, Cascão (or Sasaoca), Paluma, Rica, Século XXI and IAC-4 (El-Buluk et al. 1995; Anuário Brasileiro da Fruticultura 2009). However, exports of this fruit have not increased, mainly due to the presence of pests in the crop (Oliveira et al. 2010; 2012). The South American fruit-fly, *Anastrepha fraterculus* (Wiedemann, 1830) (Diptera: Tephritidae), can be considered a major pest of guava, which is one of the most infested hosts by this species (Gould & Raga 2002). In addition, a direct relationship has been observed between this pest and the decay incidence in some fruit crops, such as apples (Santos et al. 2008). The development of novel strategies for controlling this pest is of paramount importance due to the considerable economic losses caused to the fruit (Montes & Raga 2006; Oliveira et al. 2010).

Plant resistance to insects is a tool of Integrated Pest Management (IPM), which is intended to be used in conjunction with other direct control tactics (Boiça Junior & Campos 2010). Insect plant resistance is a result of heritable plant qualities that cause relatively less damage than in plants without these qualities. In general, the resistance can be manifested by chemical, physical and morphological mechanisms operating either independently or together. This can provide plant resistance to a particular pest through the presence of toxins, reduced digestibility, trichomes, toughness of the leaf epidermis and nutritional inadequacies present in genotypes or cultivars, which provides resistance to different degrees (Lara 1991). The insect-resistant plants alter the relationship between the insects and the plants, but this relationship depends on the kind of resistance (e.g. antibiosis, antixenosis and tolerance). In particular, antixenosis affects the behaviour of an insect pest and it is usually expressed as a non-preference of the insect for a resistant plant compared with a susceptible one (Boiça Junior & Campos 2010).

The preference or non-preference of *A. fraterculus* for egg-laying in the fruits of some cultivars may be related to the nutritional quality of these fruits as well as to their chemical characteristics and visual appearance (Slansky 1982; Zucoloto 1993). Females of *Anastrepha* spp. have default behaviour before deciding to hold their egg-laying. They fly around the fruit, evaluate it and insert their ovipositor, which includes a review and superficial puncture. However, the action of inserting the ovipositor depends on factors such as type of host (primary or secondary) and physicochemical fruit aspects, and takes into account the degree of fruit maturation, the presence of marking pheromones and previously laid eggs (Aluja et al. 2000). Then, the presence of

allelochemicals that act as kairomones (egg-laying stimulants) or allomones (deterrents) may stimulate or inhibit the oviposition. In addition, glucose, fructose, sodium chloride and calcium chloride can stimulate (high concentration) or inhibit (low concentration) egg-laying in other fruits (Díaz-Fleischer et al. 2000). Knowledge of behaviour i.e. the preference or non-preference of *A. fraterculus* in fruits of guava cultivars is scarce. Therefore, this study is aimed at verifying the infestation of *A. fraterculus* on fruits of a few selected guava cultivars and evaluating the importance of some fruit variables, such as peel colouration, soluble solids and pH, on female preferences.

Materials and Methods

The research was conducted in the Laboratory of Plant Resistance to Insects, Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture and Veterinary Sciences (FCAV) - UNESP – Jaboticabal, São Paulo. Tested specimens of *A. fraterculus* were taken from mass rearing on an artificial diet (adapted from Salles 1992) held at the Laboratory of Radioentomologia the Centre for Nuclear Energy in Agriculture - CENA/USP, located in Piracicaba - SP. Fruits of cultivars Pedro Sato, Paluma, Cascão and Século XXI were assayed. They were chosen based on their frequent cultivation in the country (El-Buluk et al. 1995; Anuário Brasileiro da Fruticultura 2009). These fruits were obtained from the VAL Fruit Company, located in Vista Alegre do Alto, 35 Km from Jaboticabal - SP. Fruits were assayed at the maturity stage known as mature-green (i.e., stage 3 according to Cavalini et al. 2006).

I- Bioassays

Bioassays were conducted in a room at an average temperature of $25 \pm 1^\circ\text{C}$, a relative humidity of $60 \pm 10\%$ and a photophase of 12 h. Guava fruits were cleaned with sodium hypochlorite (1%), water rinsed and dried at room temperature on a paper towel, before being placed in the test cages. The insect-fruit interaction was evaluated by multiple and non-choice tests. Attractiveness and infestation level were determined in both tests for each cultivar and expressed as number of visits (females/fruit) and number of offspring (larvae/female/fruit), respectively. The number of females attracted by the different cultivars was counted at 1', 3', 5', 10', 20', 30', 1 h, 2 h, 6 h, 12 h and 24 h. After 10 days, the fruits were dissected and the number of larvae of *A. fraterculus* counted in each fruit was observed, according to the procedure adopted by Oliveira et al. (2012).

a) **Multiple choice test.** One fruit from each cultivar (Pedro Sato, Paluma, Cascão and Século XXI) was placed equidistant inside a plastic cage (47-cm long, 32-cm wide, 17-cm high). Ten cages were arranged; each cage was a replicate and corresponded to a block, allowing a randomised block design to be used.

Fertile females (ten days after emergence) of *A. fraterculus* were used and four of them were released per cage.

b) **Non-choice test.** Only one fruit was placed on a cylindrical plastic cage (15-cm in diameter, 10-cm high). One fertile female (ten days after emergence) of *A. fraterculus* was released per cage. Ten cages for each cultivar were arranged; each cage was a replicate and a fully randomised design was set.

II- Physicochemical fruit analyses

Fruits of all cultivars were harvested at the mature green stage (stage 3 according to Cavalini et al. 2006) and analysed at the Laboratory of Technology of Agricultural Products, Department of Technology, Faculty of Agricultural Sciences and Veterinary (FCAV) - UNESP - Jaboticabal. Four fruits per cultivar were used and each fruit was considered a replicate; a fully randomised design was set.

The peel colouration of the fruits was inspected by a Minolta colorimeter, model CR-300 (configuration: LC h colour system). Two readings were taken per fruit on opposite sides of its equatorial region (McGuire 1992). The parameter h (colour angle) ranges from 0° to 360°, where 0° corresponds to the colour red, 90° to yellow, 180° to green and 270° to blue. The parameter C (chromaticity) sets the colour intensity, assuming values close to zero for neutral colours (grey) and around 60 for vivid colours (McGuire 1992). The parameter L is the luminosity of the peel; this parameter represents the brightness of the surface and follows a scale ranging from 0 (dark colours and opaque) to 100 (white colour or maximum brightness).

Then, the fruits were washed by water and were ground to obtain the juice for chemical determinations of soluble solids and pH. For the determination of soluble solids, we used the crushed material drops obtained in gauze and filtrates which were measured by an Atago digital refractometer PR-101; the results were expressed as °Brix (Met. 932.12 AOAC, 1997). The pH of the samples was determined following the analytical methodology AOAC (1995), using a potentiometer calibrated with standard buffer solutions at pH 4.0 and pH 7.0.

Data analysis

The data regarding the presence of the females for each treatment as a function of the time were subjected to the logistic regression analysis, fitting the data to the binomial distribution, using the procedure LOGISTIC (SAS Institute 2002). The probability (p) of individuals occurring in the fruit was estimated using the model:

$$p = \exp (P_0 + P_1x + P_2x^2 + P_3x^3) / 1 + \exp (P_0 + P_1x + P_2x^2 + P_3x^3)$$

where, exp is the exponential function, x is the time and P_0 , P_1 , P_2 and P_3 are the logistic regression parameters associated with the slope of curve. The infestations were compared using SNK's test ($P < 0.05$). We tested the

normality (Shapiro-Wilk and Kolmogorov D) and the homogeneity of the variances (Bartlett's test). For physicochemical analyses, the data were subjected to ANOVA and the means were compared by SNK's test. All figures were plotted by Sigma Plot software (version 11.0). Pearson's correlation analyses were used to study relationships between infestation level and physicochemical parameters of fruits (colour angle, chromaticity, luminosity, Brix° and pH) using the procedure CORR (SAS Institute 2002).

Results

I- Bioassays

a) Multiple choice test

Infestation of *A. fraterculus*. The level of infestation by *A. fraterculus* did not differ when comparing fruits of cultivars Pedro Sato (3.44 larvae/female/fruit), Paluma (4.00 larvae/female/fruit) and Cascão (4.70 larvae/female/fruit), but it was significantly higher in the fruits of Século XXI (10.30 larvae/female/fruit) compared to the other cultivars (Figure 1) ($P < 0.05$).

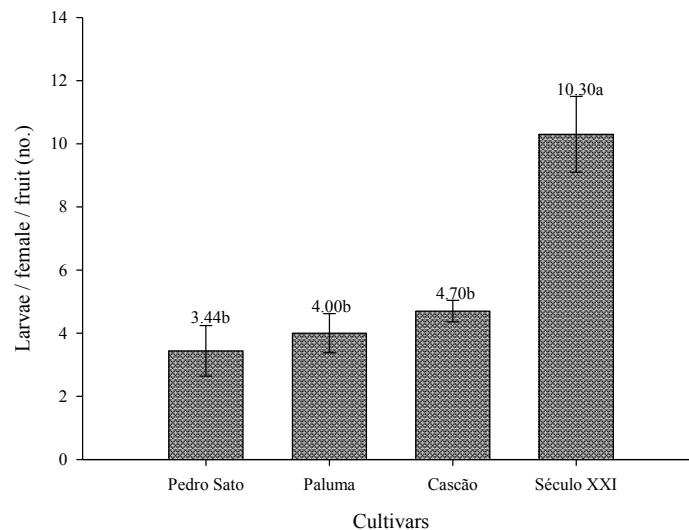


Figure 1 - Multiple choice test: mean (\pm SE) of the number of larvae of *Anastrepha fraterculus*/female/guava fruit of cultivars Pedro Sato, Paluma, Cascão and Século XXI. Means followed by the same letters do not differ by SNK's test ($P = 0.05$).

Cultivar attractiveness to *A. fraterculus* females. The curves of visit proportion as a function of time were generated by using the model: $\exp(P_0 + P_1x + P_2x^2) / 1 + \exp(P_0 + P_1x + P_2x^2)$. The curves showed differences in attractiveness patterns among cultivars (Figure 2). In general, the visit proportions were significantly higher on fruits of Século XXI and Pedro Sato than on those of Paluma and Cascão. However, the quadratic coefficients (P_2) of regression were positive for Paluma (0.00001) and Cascão (0.00001), and negative for Século XXI (-

0.00001) and Pedro Sato (-0.00001) (Figure 3). In fact, the proportion of individuals per fruit increased (Paluma and Cascão) and/or decreased (Século XXI and Pedro Sato) after 720 minutes of the release of *A. fraterculus* (Figure 2).

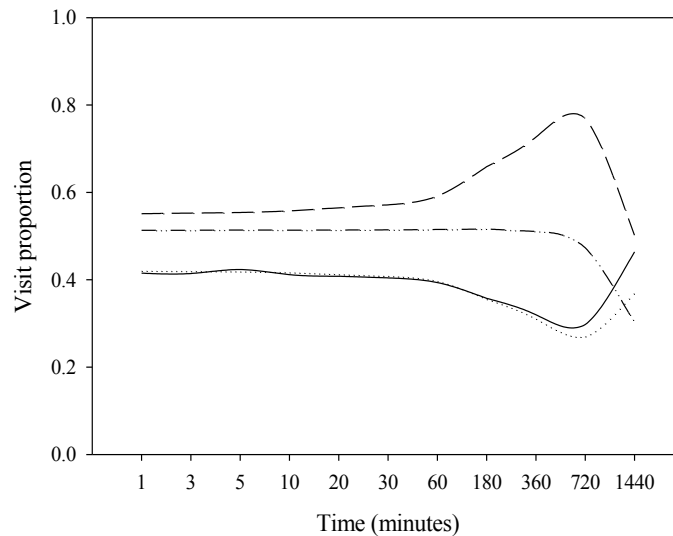


Figure 2 - Multiple choice test: logistic regression of proportion of visit of *Anastrepha fraterculus* female/fruit on the guava cultivars Paluma (—), Século XXI (- - -), Cascão (.....) and Pedro Sato (- · - ·).

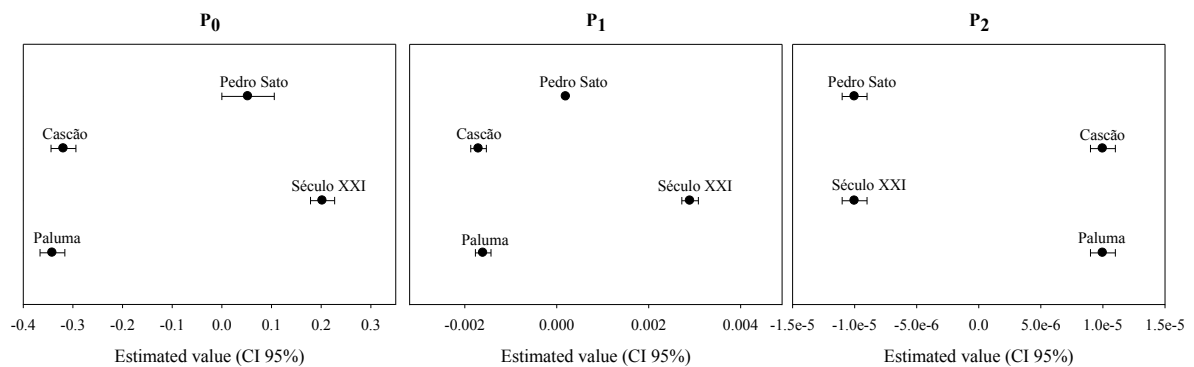


Figure 3 - Multiple choice test: estimates of logistic regression parameters and confidence intervals (95% CI) of proportion of visit of *Anastrepha fraterculus* female per fruit of guava. P_0 , P_1 and P_2 are the logistic regression parameters associated with the slope of the curve.

b) Non-choice test

Infestation of *A. fraterculus*. No significant differences in infestation of *A. fraterculus* were found among fruits of Pedro Sato (0.55 larvae/female/fruit), Paluma (1.67 larvae/female/fruit) and Cascão (2.00 larvae/female/fruit). Also in this test, the highest susceptibility was recorded for the fruits of Século XXI along with 9.78 larvae/female/fruit (Figure 4) ($P < 0.05$) (Figure 4).

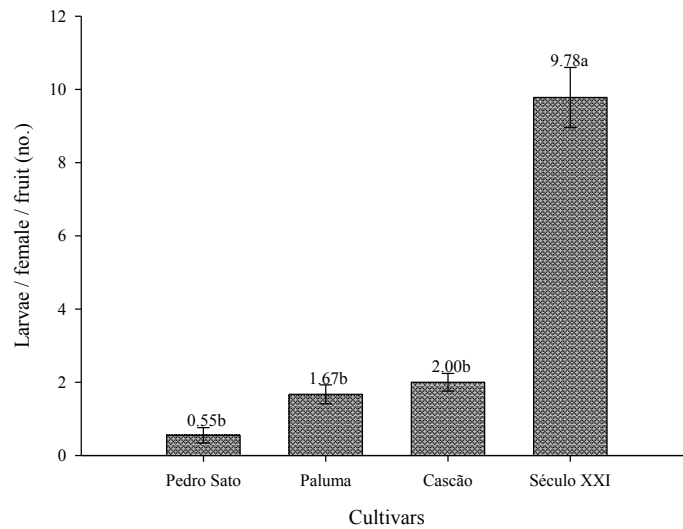


Figure 4 - Non-choice test: means (\pm SE) of the number of larvae of *Anastrepha fraterculus*/female/fruit of guava cultivars: Pedro Sato, Paluma, Cascão and Século XXI. Means followed by the same letters do not differ by SNK's test ($P = 0.05$).

Cultivar attractiveness to *A. fraterculus* females. There were differences in attractiveness patterns among cultivars (Figure 5). In general, the regression lines showed that the visit proportions were significantly lower in the Paluma fruits compared to other cultivars studied. The curves of visit proportions as a function of time were generated by using the model: $\exp(P_0 + P_1x) / 1 + \exp(P_0 + P_1x)$. The coefficient of linear regression was negative for cultivars Paluma and Cascão, presenting the values -0.0005 and -0.00001, respectively (Figure 6).

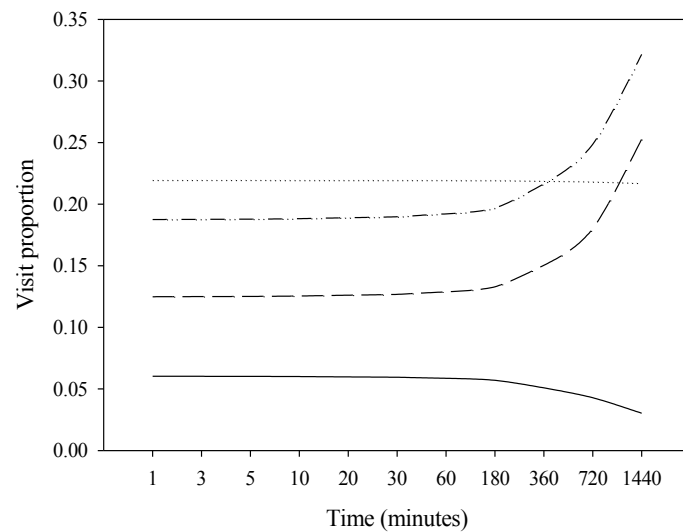


Figure 5 – Non-choice test: logistic regression of proportion of *Anastrepha fraterculus* female/fruit on the guava cultivars: Paluma (—), Século XXI (- - -), Cascão (.....) and Pedro Sato (- · - · -).

The proportion of the visits of individuals per fruit in Paluma decreased after 180 minutes, whereas in Cascão the proportion of visits was constant over time (Figure 5). In fruits of Pedro Sato (0.0005) and Século XXI (0.0006) (Figure 6), a positive coefficient of linear regression was observed; the proportion of coefficients increased from the aforementioned time (180 minutes) (Figure 5).

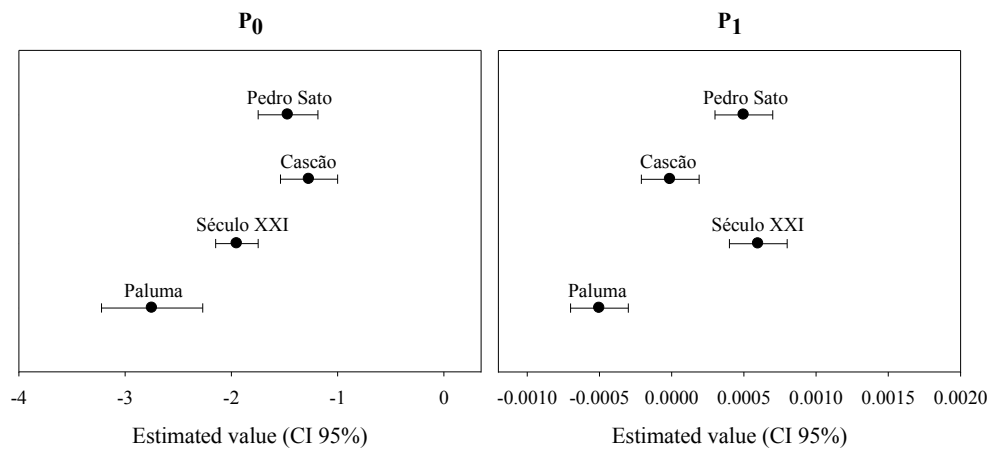


Figure 6 - *Non-choice test*: estimates of logistic regression parameters of proportion and confidence intervals (95% CI) of visit of *Anastrepha fraterculus* female/fruit on the guava. P_0 , P_1 are the logistic regression parameters associated with the slope of the curve in the non-choice test.

II- Physicochemical fruits analyses

The soluble solids ($^{\circ}$ Brix) of the fruits differed among the cultivars (Figure 7): the highest level was found in the Século XXI fruits, while the lowest level was found in the Cascão fruits. The soluble solid contents of Pedro Sato and Paluma fruits did not statistically differ between them; those levels were intermediate in relation to the other cultivars.

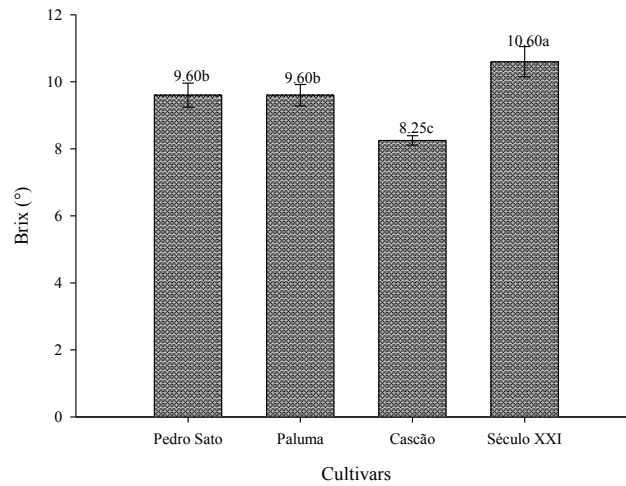


Figure 7 - Content of soluble solids, expressed in °Brix, in the guava fruits of the cultivars Pedro Sato, Paluma, Cascão and Século XXI. The vertical bars represent the standard deviation. Means followed by the same letter do not differ by SNK's test at 5% probability.

With regard to the peel colouration, there was significant difference for the fruits of Século XXI in comparison with Pedro Sato and Cascão only in the colour angle (Figure 8). On the other hand, there was no difference among the fruits of Pedro Sato, Paluma, Cascão and Século XXI in the luminosity and chromaticity (Figure 8). Concerning to the hue angle (h), the fruits of the cultivars studied showed a yellow colour with values of around 100, assuming that 90° corresponds to yellow and 180° to green (Figure 8).

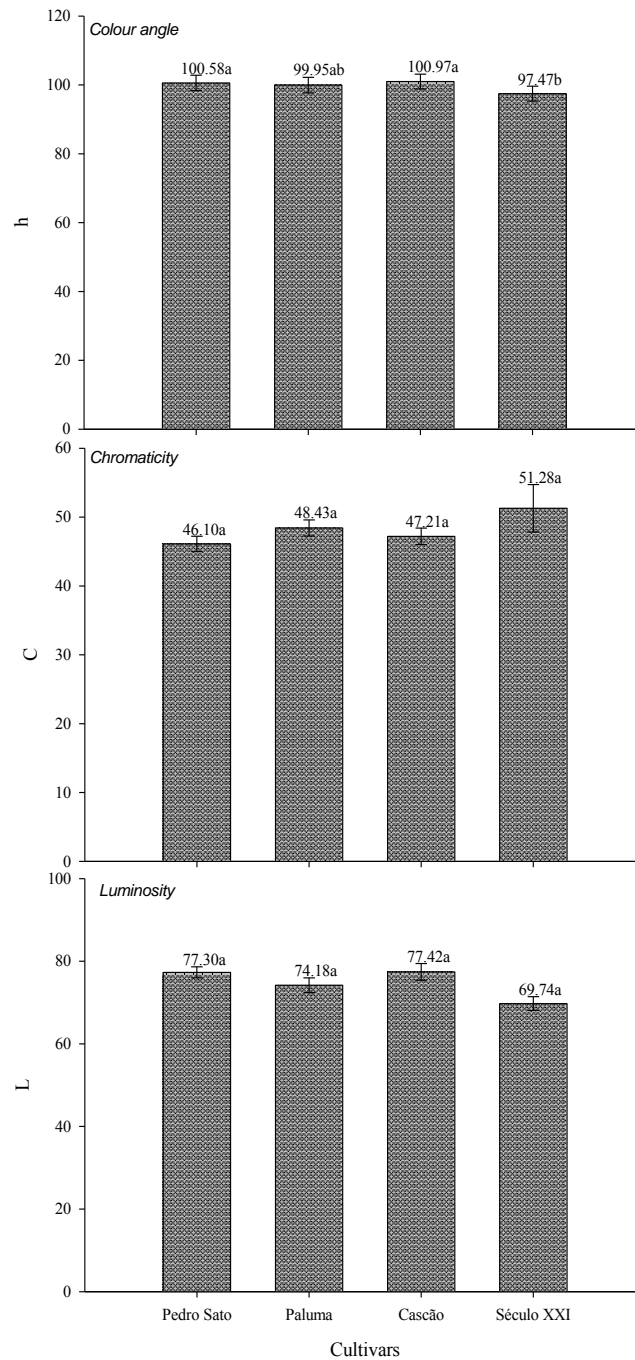


Figure 8 - Staining peel (colour angle, luminosity and chromaticity) of the guava fruits from cultivars Pedro Sato, Paluma, Cascão and Século XXI. Vertical bars represent the standard error. Means followed by the same letter do not differ by SNK's test at 5% probability.

In respect to chromaticity, the fruits of the cultivars tested showed values of around 48 (Figure 8) presenting, more intense colours taking in count that values close to zero represent neutral colours (grey) and those close to 60 indicate vivid colours. For luminance, the colour of the fruits from the four cultivars showed

values of around 75 (Figure 8), or brighter colours, considering that values around zero represents opaque and dark colours and those around 100 white colours or brightness.

The pH values ranged from 3.78 to 4.56 (Figure 9). The juice of Pedro Sato fruits had the lowest value compared to that of Paluma. However, no statistical differences were pointed out among the fruit juices of Século XXI and Cascão compared to the others.

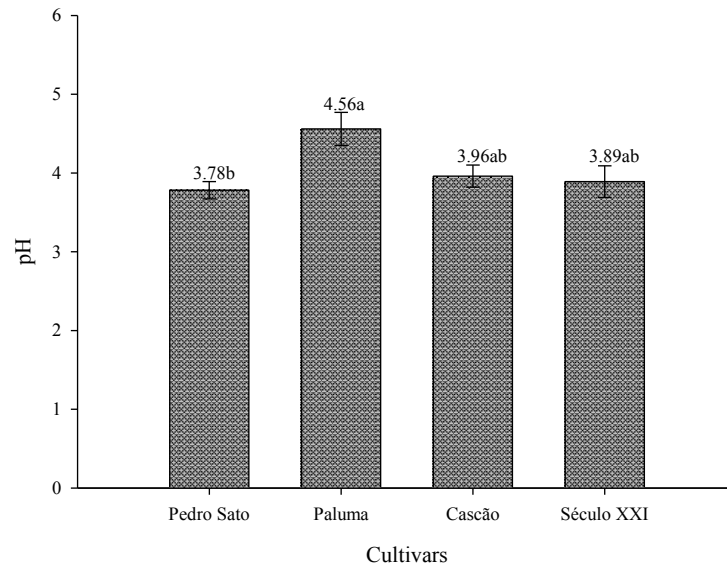


Figure 9 - Values of pH in the juice of guava fruits of the cultivars Pedro Sato, Paluma, Cascão and Século XXI. The vertical bars represent the standard deviation. Means followed by the same letter do not differ by SNK's test at 5% probability.

There were significant correlations only between the infestation rate of *A. fraterculus* and the °Brix value ($r = 0.7078$) and the Colour angle (h) ($r = -0.9499$) of guava fruits in the multiple choice conditions ($P < 0.05$) (Table 1).

Table 1 - Values of Pearson's correlation coefficients and probabilities between infestation and physicochemical fruit characteristics of guava cultivars

Infestation level	Variable				
	Brix (°)	Colour angle (h)	Chromaticity (C)	Luminosity (L)	pH
<i>Multiple choice</i>					
r^1	0.7078	- 0.9499	0.2000	- 0.4000	0.2000
p^2	0.0322	0.0501	0.8000	0.6000	0.8000
<i>Non choice</i>					
R	0.3546	- 0.0682	0.0786	- 0.1092	-0.2719
P	0.6453	0.9317	0.9214	0.8970	0.7281

¹ r = Pearson's correlation coefficients. ² p = Probability $> r$.

Discussion

Egg-laying behaviour of *A. fraterculus* is supposed to be related to the attraction of the females by guava fruits, whose features depend on the cultivars. In fact, the levels of infestation recorded in the current study showed the highest values for fruits of Seculo XXI (10.30 and 9.78 larvae/female/fruit in multiple and non-choice tests, respectively) and the lowest values for fruits of Pedro Sato (3.44 and 0.55 larva/female/fruit in multiple and non-choice tests, respectively) (Figures 1 and 4). In addition, the proportion of visits per fruit did not exceed 0.80 in the multiple-choice test (Figure 2), while the maximum proportion was estimated to be 0.32 in the non-choice test (Figure 5) both for Pedro Sato fruits. The choice of the egg-laying site by the fly females is critical for the survival of their offspring, since the larvae have little mobility and are nutritionally-dependent on the resources selected by the females during the egg-laying period (Singer 1986; Renwick 1989), and obviously, the females would maximise their efforts by laying eggs on hosts that can optimise the development of the larvae (Thompson 1988; Scheirs 2002; Nufio & Papaj 2004). There are several factors that can influence the egg-laying preference of the females and the larval development, such as allelochemicals, nutritional composition of the substrate, size and ripeness of fruits, natural enemies of the plant, as well as density and age of the flies and even climatic conditions (Thompson & Pelmyr 1991; Dukas et al. 2001, Nufio & Papaj 2004).

Actually, at the moment of egg-laying site selection, several fruit features are evaluated by the females, such as colour, odour, taste of the substrate and presence of other eggs (Slansky 1982). Therefore, bark staining tests, analysis of soluble solids and pH assessment of the fruits are necessary in order to relate the infestation and the attractiveness of the insect pests with these parameters. Our results verified that the cultivar with the highest rate of infestation (Figures 1 and 4) was correlated with the highest soluble solid content and the lowest colour angle (Table 1), and it was the most attractive to *A. fraterculus* in the multiple choice test (Figure 2). The fruits used in this study had soluble solid content that was fit for the fresh consumption established about 9.0°Brix (Gorgatti Neto et al. 1996). Concerning this aspect, Lorscheiter et al. (2012) pointed out that the sugar content in the fruits seems to be a decisive factor for the larval development of *A. fraterculus*, since larvae were detected only when the amount of soluble solids was nearly doubled to 6.4% in the Kiwi of the cultivar MG06 and 7.0% in those of the cultivar Bruno. Moreover, according to Rattanapun et al. (2009), mango fruits with higher soluble solids supported a greater survival of larvae of *Bactrocera dorsalis* Hendel (Diptera: Tephritidae).

Records in the literature that associate the colour of the substrate to the fecundity of fruit flies are considered scarce. In the present work, a negative correlation between the colour angle and the level of infestation by *A. fraterculus* to guava fruits was observed in the multiple choice assay (Table 1). According to

McInnis (1989), *C. capitata* laid significantly fewer eggs in blue substrates compared to black and red ones of the same size (25-mm diameter). Although McInnis (1989) recorded this behaviour for *C. capitata* and *A. fraterculus*, the colour does not seem to be such an important factor in choosing the host for egg-laying. In fact, Gregorio et al. (2010) observed that the colours of the oviposition substrate did not affect the fecundity of *A. fraterculus*. However, Cytrynowicz et al. (1982) studied the visual responses of *A. fraterculus* and *C. capitata* to coloured rectangles and spheres, in both the field and laboratory conditions. The authors found that the yellow rectangles were more attractive than the oranges, greens and reds, for both species in field experiments. In the laboratory, yellow rectangles were more attractive than the green and red for *A. fraterculus*. Furthermore, both in the laboratory and in the field, yellow spheres captured more *A. fraterculus* females than those of other colours. Lopéz-Guillén et al. (2009) investigated the responses of both sexes of *Anastrepha obliqua* (Diptera: Tephritidae) to different visual cues and to the combination of visual and chemical cues in field cages tests. Both sexes were more attracted to lime-green, orange, and yellow spheres than to red, black, or white spheres. Flies were more attracted to three-dimensional models than to flat models. *Anastrepha obliqua* was more attracted to 8-, 10-, and 12-cm-diameter spheres than to 4- and 6-cm-diameter spheres. Flies were more attracted to lime-green spheres baited with mombin fruit odor, *Spondias mombin* L., than to spheres offering either visual or cues alone.

As for the colour of the substrate, data on the influence of the pH in the infestation by *Anastrepha* are scarce. Paiva & Parra (2013) found that the captures of *C. capitata* in traps baited with Milhocina[®] and borax were higher at pH 8.5 than at the initial pH values of 4.5 and 6.5. In studies conducted on citrus, Papachristos et al. (2008) observed the existence of a negative correlation between the pH of the citrus juice and the duration of larval development of *C. capitata*. This observation is in agreement with the data reported by Vargas et al. (1984) who found that the lowering of the pH in the artificial diet of *C. capitata* larvae from 5.6 to 3.6 resulted in a decrease in the pupal weight and in a prolonged larval period. Similar results were obtained by Papadopoulos & Katsoyannos (2002) in experiments on fruits of three cultivars of apples, recording an extended larval duration at higher acidity (lower pH). A direct relationship between pH of guava fruits (Figure 9) and egg-laying of *A. fraterculus* (Figures 1 and 4) was not observed (Table 1) in the current study. The pH values ranged from 3.78 to 4.56 (Figure 9) and they were similar to that reported by Gouveia et al. (2003) for the fruits of Paluma (ranging from 3.82 to 4.40), and by Lima et al. (2002) also for Paluma (pH average of 3.88) in a study conducted in the San Francisco region “Submédio” in Brazil. The opposite was observed by Cavalcanti et al. (2006), who found a

pH value of 3.21 for industrialised guava juice, and by Silva et al. (2008) who obtained pH values ranging from 3.39 to 3.67 for the Paluma guava.

This study concluded that fruits of Século XXI are the most susceptible to the infestation by *A. fraterculus* in multiple and non-choice tests. The fruits of Século XXI are also more attractive to *A. fraterculus* in the multiple choice while fruits of Paluma are less attractive in the non-choice test. Peel colouration in the laboratory, in particular colour angle, interfered with the infestation of *A. fraterculus*; the highest soluble solids (° Brix) observed in the fruits of Século XXI are crucial for discriminating the cultivar most susceptible to *A. fraterculus*, and the pH index had no direct relation to the infestation and the attractiveness of *A. fraterculus* by guava fruit.

Acknowledgements

The English this manuscript was revised by Academic Proofreading Services. We thank the company Val fruit for providing the cultivars of guava fruits and the Technology Laboratory of the Department of Agricultural Products Technology, Faculty of Agricultural Sciences and Veterinary (FCAV) - UNESP - Jaboticabal for making it feasible to carry out physicochemical analyses on fruit. We would like to thank anonymous reviewers for their helpful comments on this work.

References

- Aluja, M., Piñero, J., Jácome, I., Díaz-Fleischer, F., & Sivinski, J. (2000). Behaviour of flies in the genus *Anastrepha* (Trypetinae: Toxotrypanini). In: M. Aluja & A. L. Norrbom (Eds.), Fruit flies (Tephritidae): phylogeny and evolution of behaviour. (pp. 375–410). New York: CRC Press.
- Anuário Brasileiro da Fruticultura. (2009). Gazeta Santa Cruz, Santa Cruz do Sul, Rio Grande do Sul, Brasil.
- AOAC. Association of Official Analytical Chemists. (1995). Official methods of analysis of the international. 16 ed. Washington.
- AOAC. Association of Official Analytical Chemists. (1997). Official methods of analysis of the international. 3. ed. Washington.
- Boiça Junior, A. L., & Campos, A. P. (2010). Resistência de plantas a insetos: ensino, pesquisa e extensão. In: A. C. Busolli (Ed.), Tópicos em entomologia agrícola III. Jaboticabal: Multipress.
- Cavalini, F. C., Jacomino, A. P., Lochoski, M. A., Kluge, R. A., & Ortega, E. M. M. (2006). Maturity indexes for „Kumagai“ and „Paluma“ guavas. Revista Brasileira de Fruticultura, 28, 176–179.

- Cavalcanti, A. L., Forte, K. O., Silva, P. P., Rabelo, M. V. D., Pereira, S. K. C., & Fernandes, F. V. (2006). Determinação dos sólidos solúveis totais (°Brix) e pH em bebidas lácteas e sucos de frutas industrializados. *Pesquisa Brasileira em Odontopediatria e Clínica Integrada*, 6, 57-64.
- Cytrynowicz, M., Morgante, J. S., & Souza, H. M. L. (1982). Visual responses of South American fruit flies, *Anastrepha fraterculus*, and Mediterranean fruit flies, *Ceratitidis capitata*, to coloured rectangles and spheres. *Environmental Entomology*, 11, 1202–1210.
- Díaz-Fleischer, F., Papaj, D. R., Prokopy, R. J., Norrbom, A. L., & Aluja, M. (2000). Evolution of fruit fly oviposition behaviour. In: M. Aluja & A. L. Norrbom (Eds.), *Fruit Flies (Tephritidae): phylogeny and evolution of behaviour* (pp. 811–841), New York: CRC Press.
- Dukas, R., Prokopy, R. J., Papaj, D. R., & Duan, J. J. (2001). Egg laying behaviour of Mediterranean fruit flies (Diptera: Tephritidae): is social facilitation important? *Florida Entomologist*, 84, 665–671.
- El-Buluk, R. E., Babiker, E. E., & El Tinay, A. H. (1995). Biochemical and physical changes in fruits of four guava cultivars during growth and development. *Food Chemistry*, 54, 279–282.
- Gorgatti Neto, A., Garcia, A. E., Ardito, E. F. G., Garcia, E. C., Bleinroth, E. W., Matallo, M., Chitarra, M. I. F., & Bordin, M. R. (1996). *Goiaba para exportação: procedimento de colheita e pós-colheita*. Brasília: Embrapa/SPI, 20.
- Gould, W. P., & Raga, A. (2002). Pest of guava, In: J. E. Peña, J. L. Shorp & M. Wysoki (Ed.), *Tropical fruit pests and pollinators: biology, economic importance, natural enemies and control* (pp. 295-313), New York: Cabi.
- Gouveia, J. P. G., Almeida, F. A. C., Medeiros, B. G. S., Ribeiro, C. F. A., & Silva, M. M. (2003). Maturação da goiaba (*Psidium guajava* L.) mediante parâmetros físico-químicos. *Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais*, 1, 85–94.
- Gregorio, P. L. F., Sant'Ana, J., Redaelli, L. R. 2010. Chemical and visual perception of *Anastrepha fraterculus* (Diptera, Tephritidae) in laboratory. *Iheringia Serie Zoologia*, 100, 128-132.
- Lara, F. M. (1991). *Princípios de resistência de plantas a insetos*. São Paulo: Ícone.
- Lima, M. A. C., Assis, J. S., & Gonzaga Neto, L. (2002). Caracterização dos frutos de goiabeira e seleção de cultivares na região do submédio São Francisco. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 24, 273–276.

- López-Guillén, G.; Valle-Mora, J., Cazares, C. L., & Rojas, J. C. (2009). Response of *Anastrepha obliqua* (Diptera: Tephritidae) to visual and chemical cues under seminatural conditions. *Journal of Economic Entomology*, 102, 954-959.
- Lorscheiter, R., Redaelli, L. R., Botton, M., & Pimentel, M. Z. (2012). Caracterização de danos causados por *Anastrepha fraterculus* (Wiedemann) (Diptera, Tephritidae) e desenvolvimento larval em frutos de duas cultivares de quiveiro (*Actinidia* spp.). *Revista Brasileira de Fruticultura*, 34, 067-076.
- McInnis, D. O. (1989). Artificial oviposition sphere for Mediterranean fruit flies (Diptera: Tephritidae) in field cages. *Journal of Economic Entomology*, 82, 1382-1385.
- Mcguire, R. G. (1992). Reporting of objective colour measurements. *Hort Science*, 27, 1254-1255.
- Montes, S. M. N. M., & Raga, A. (2006). Eficácia de atrativos para monitoramento de *Ceratitidis capitata* (Diptera: Tephritidae) em pomar de citros. *Arquivos do Instituto Biológico*, 73, 317-323.
- Nufio, C. R., & Papaj, D. R. (2004). Superparasitism of larval hosts by the walnut fly, *Rhagoletis juglandis*, and its implications for female and offspring performance. *Oecologia*, 141, 460-467.
- Oliveira, F. Q., Batista, J. L., Malaquias, J. B., Almeida, D. M. A., & Oliveira, R. (2010). Determination of the median lethal (LC₅₀) of mycoinsecticides for the control of *Ceratitidis capitata* (Diptera: Tephritidae). *Revista Colombiana de Entomologia*, 36, 213-216.
- Oliveira, F. Q., Malaquias, J. B., Figueiredo, W. R. S., Batista, J. L., & Beserra, E. B. (2012). Inhibition of fruit infestation by Mediterranean fruit fly using natural products. *African Journal of Biotechnology*, 11, 13922-13927.
- Paiva, P. E. B., & Parra, J. R. P. (2013). Hidrogenionic potential (Ph) of the attractant, trap density and control threshold for *Ceratitidis capitata* (Diptera: Tephritidae) on Hamlin oranges in São Paulo central region, Brazil. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 35, 464-470.
- Papachristos, D. P., Papadopoulos, N. T., & Nanos, G. D. (2008). Survival and development of immature stages of the Mediterranean fruit fly (Diptera: Tephritidae) in citrus fruit. *Journal of Economic Entomology*, 101, 866-872.
- Papadopoulos, N. T., & Katsoyannos, B. I. (2002). Development of *Ceratitidis capitata* (Diptera: Tephritidae) in three apple varieties in the laboratory. In: B. Barnes (Ed.), *Proceedings of 6th International Fruit Fly Symposium*, (pp. 19-22) Stellenbosch: Isteg Scientific Publication.

- Rattanapun, W., Amornsak, W., & Clarke, A. (2009). *Bactrocera dorsalis* preference for and performance on two mango varieties at three stages of ripeness. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 131, 243–253.
- Renwick, J. A. A. (1989). Chemical ecology of oviposition in phytophagous insects. *Experientia*, 45, 223–228.
- Salles, L. A. B. (1992). Metodologia de criação de *Anastrepha fraterculus* (Wied., 1830) (Diptera: Tephritidae) em dieta artificial em laboratório. *Anais da Sociedade Entomológica Brasileira*, 21, 479–486.
- Santos, J. P., Corrent, A. R., Berton, O., Schwarz, L. L., & Denardi, F. (2008). Incidência de podridão-branca em frutos de macieira com e sem fermentos. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 30, 118–121.
- Sas Institute (2002). SAS/Stat Users Guide. Cary, NC.
- Scheirs, J. (2002). Integrating optimal foraging and optimal oviposition theory in plant-insect research. *Oikos*, 96, 187–191.
- Silva, J. E. B., Dantas Neto, J., Gomes, J. P., Maciel, J. L., Silva, M. M. M., & Lacerda, R. D. (2008). Avaliação do °Brix e pH de frutos da goiabeira em função de lâminas de água e adubação nitrogenada. *Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais*, 10, 43–52.
- Singer, M. C. (1986). The definition and measurement of oviposition preference in plant-feeding insects. In: J. R. Miller & T. A. Miller (Eds.), *Insect-plant interactions* (pp. 65–94), New York: Springer-Verlag.
- Slansky, F. J. R. (1982). Insect nutrition: an adaptationist's perspective. *Florida Entomologist*, 65, 45–71.
- Thompson, J. N. (1988). Evolutionary ecology of the relationship between oviposition preference and performance of offspring in phytophagous insects. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 47, 3–14.
- Thompson, J. N., & Pelmyr, O. (1991). Evolution of oviposition behaviour and host preference in Lepidoptera. *Annual Review of Entomology*, 36, 65–89.
- Vargas, R. I., Williamson, D. L., Chang, H., & Komura, M. (1984). Effects of larval-diet pH on worker comfort and insect quality during mass-production of Mediterranean fruit fly (Diptera: Tephritidae) in Hawaii. *Journal Environmental Science*, 19, 621–630.
- Zucoloto, F. S. (1993). Acceptability of different Brazilian fruits to *Ceratitidis capitata* (Diptera: Tephritidae) and fly performance of each species. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 26, 291–298.

CAPÍTULO 4 – Resistência do tipo antibiose em variedades de goiaba a moscas-frutas *Anastrepha fraterculus* (Diptera: Tephritidae)

Resumo

Anastrepha fraterculus (Wiedemann, 1830) (Diptera: Tephritidae) pode ser considerada uma das principais pragas da goiabeira, sendo um dos hospedeiros mais infestados por esta espécie. Assim sendo, objetivou-se avaliar resistência do tipo antibiose em frutos de goiaba a *A. fraterculus*. Utilizou-se as seguintes cultivares: Pedro Sato, Paluma, Cascão e Século XXI. Os frutos, em estágio de maturação “de vez”, foram cortados ao meio, onde retirou-se as sementes e parte da polpa interna dos frutos. Em seguida, com auxílio de um pincel, 20 larvas recém eclodidas de *A. fraterculus* foram introduzidas em cada fruto. As partes dos frutos foram vedadas com filme de PVC transparente. Os frutos infestados foram colocados em gaiolas de plástico onde permaneceram por 15 dias. Após este período, verificou-se, a presença ou não de pupas. As pupas identificadas eram retiradas e acondicionadas em recipientes de vidro. Completadas 24 horas, as pupas foram pesadas e novamente acondicionadas nos recipientes, onde permaneciam até a emergência dos adultos. As variedades de goiaba proporcionaram o completo desenvolvimento para *A. fraterculus*, não havendo influência das variedades utilizadas no desenvolvimento do inseto-praga. Conclui-se que as variedades de goiaba estudadas não apresentam resistência do tipo antibiose a *A. fraterculus*.

Palavras-chave: Goiaba, Tephritidae, Parâmetros biológicos.

CHAPTER 4 – Antibioses Resistance on the fruit fly *Anastrepha fraterculus* (Diptera: Tephritidae) by guava cultivars

Abstract

The fruit fly South American, *Anastrepha fraterculus* (Wiedemann, 1830) (Diptera: Tephritidae), can be considered a major pest of guava, most infested host by this species. Therefore, the objective was to evaluate antibiosis in *A. fraterculus* on fruit of guava cultivars. The following cultivars were used: Peter Sato, Paluma, Cascão and Século XXI. The fruits at maturity stage "semi-ripe" were quorted in half, took out the seeds and inner pulp of the fruit. Then, with a brush, 20 newly hatched larvae of *A. fraterculus* were introduced in each fruit. The parts of fruits were sealed with transparent PVC film. Infested fruits were placed in plastic cages where they remained for 15 days. After this period was observed the presence or absence of pupae. The identified pupae were removed and placed in glass containers. Completed 24 hours, pupae were weighed and put back on the containers, where they remained until the emergence of adults. The guava cultivars provided the complete development of the fruit fly *A. fraterculus*, there is no influence of the varieties used in the development of insect pest. We have concluded that the cultivars of guava studied show no antibiosis resistance to *A. fraterculus*.

Keywords: *Psidium guajava*; Tephritidea; biological parameters.

1 Introdução

O Brasil é considerado o maior produtor de goiaba (*Psidium guajava* L.), sendo as cultivares Kumagai, Pedro Sato, Cascão (ou Sasaoka), Paluma, Rica, Século XXI e IAC-4 como as mais cultivadas (EL-BULUK et al, 1995; ANUÁRIO BRASILEIRO DA FRUTICULTURA, 2009). As exportações dessa fruta não vêm apresentando incremento, devido principalmente à presença de pragas nas áreas cultivadas (MOURA; MOURA, 2006).

Dentre as principais pragas que dificultam a exportação na fruticultura brasileira estão as moscas-das-frutas *Ceratitis capitata* (Wiedemann, 1824) e *Anastrepha* spp. (Diptera: Tephritidae). Estes insetos-praga causam sérios problemas à cultura devido às regulamentações quarentenárias impostas pelos países importadores, que exercem rígida vigilância fitossanitária sobre os produtos alimentícios que entram em seus territórios com intuito de evitar a introdução de novas pragas (DUARTE; MALAVASI, 2000; KLASSEN; CURTIS, 2005). Em decorrência, os prejuízos são refletidos no mercado interno, como a perda de frutos, devido às larvas das moscas-das-frutas causarem a destruição da polpa ao se alimentarem, bem como os adultos, mais precisamente as fêmeas, que ao efetuarem orifícios na casca dos frutos para oviposição, abrem porta de entrada para fungos causadores de podridão; amadurecimento precoce dos frutos e conseqüente queda abundante, diminuindo a oferta de frutos para o mercado, geralmente resultando em aumento de preços do produto (DUARTE; MALAVASI, 2000).

A mosca-das-frutas sul-americana, *Anastrepha fraterculus* (Wiedemann, 1830), pode ser considerada uma das principais pragas da goiabeira, sendo um dos hospedeiros mais infestados por esta espécie (MALAVASI; MORGANTE, 1981). Além do que, tem sido observada uma relação direta entre a infestação desta praga e a incidência de podridões de frutos em alguns cultivos, como a macieira (SANTOS et al, 2008). O desenvolvimento de técnicas de controle dessa praga é de fundamental importância, devido às consideráveis perdas econômicas causadas à fruticultura (MONTES; RAGA, 2006).

Um método de controle alternativo, que pode ser utilizado em sistemas de cultivos é a utilização de variedades resistentes. A resistência de plantas a insetos insere-se como uma tática do Manejo Integrado de Pragas (MIP), podendo ser uma

alternativa ao controle químico, além da associação a outros métodos de controle (BOIÇA JUNIOR; CAMPOS, 2010). A resistência de plantas a insetos é determinada por genes e manifestada por fatores químicos, físicos e morfológicos, podendo atuar de forma isolada ou em conjunto, que pode conferir a resistência da planta a uma determinada praga, através da presença de toxinas, redutores de digestibilidade, tricomas, dureza da epiderme foliar e propriedades nutricionais presentes em genótipos ou variedades, o que proporciona a resistência em seus diferentes graus (LARA, 1991).

A resistência do tipo antibiose ocorre quando o inseto-praga alimenta-se normalmente do material avaliado e este, de alguma maneira, exerce um efeito adverso sobre sua biologia, como: mortalidade na fase imatura, prolongamento do período de desenvolvimento, redução de tamanho e peso, redução de fecundidade, fertilidade, período de oviposição, dentre outros (BOIÇA JÚNIOR et al., 2013).

Devido às perspectivas de crescimento dos cultivos de frutíferas, fica evidente a necessidade do conhecimento e das estratégias de controle das principais pragas que comprometem a produção. Assim sendo, informações sobre a biologia de *A. fraterculus* nos hospedeiros pode ser considerada uma importante estratégia, pois visa conhecer o seu desenvolvimento e assim, auxiliar no estabelecimento de estratégias de manejo, já que estes tefritídeos estão presentes em regiões produtoras das principais frutíferas produzidas a nível comercial no Brasil. Este trabalho teve como objetivo avaliar resistência do tipo antibiose em frutos de goiaba a *A. fraterculus* a antibiose em *A. fraterculus* criadas em frutos de quatro variedades de goiaba.

2 Material e Métodos

A pesquisa foi desenvolvida no Laboratório de Resistência de Plantas a Insetos do Departamento de Fitossanidade da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias (FCAV) - UNESP – Câmpus de Jaboticabal. Os ensaios foram conduzidos sob temperatura média de $25 \pm 1^\circ\text{C}$, umidade relativa de $60 \pm 10\%$ e fotoperíodo de 12h.

Os frutos de goiaba selecionados para a realização dos bioensaios foram das variedades Pedro Sato, Paluma, Cascão e Século XXI, algumas das mais cultivadas

no país, os quais foram oriundos da Empresa VAL Frutas, localizado no município de Vista Alegre do Alto, distante 35 Km do município de Jaboticabal – SP. Os espécimes de *A. fraterculus* utilizados foram oriundos de criação massal em dieta artificial (adaptada de SALLES, 1992) mantidas no Laboratório de Radioentomologia do Centro de Energia Nuclear da Agricultura – CENA/USP, localizado em Piracicaba – SP.

Os frutos, em estágio de maturação “de vez”, das quatro variedades de goiaba foram higienizadas com hipoclorito de sódio (1%), enxaguados e secos em temperatura ambiente sob papel toalha. Posteriormente os frutos foram cortados ao meio, retirando-se as sementes e parte da polpa interna dos frutos, com o intuito de oferecer maior movimentação das larvas em seu interior. Em seguida, com auxílio de um pincel, 20 larvas recém eclodidas de *A. fraterculus* foram introduzidas em cada fruto. Posteriormente as partes dos frutos foram vedadas com filme de PVC transparente, obstruindo a saída das larvas. Os frutos infestados artificialmente foram colocados em gaiolas de plástico de 500 ml de capacidade contendo uma camada de areia esterilizada com 3 cm de espessura. Os frutos infestados permaneceram nestes recipientes por 15 dias. Após este período, verificou-se, através do peneiramento da areia, a presença ou não de pupas do inseto-praga nas gaiolas. As avaliações foram realizadas diariamente por um período de 30 dias. As pupas identificadas nos recipientes foram retiradas e acondicionadas em recipientes de vidro, devidamente identificados. Completadas 24 horas, as pupas eram pesadas em balança de precisão e novamente acondicionadas nos recipientes, onde permaneciam até a emergência dos adultos. Nesse teste de antibiose a *A. fraterculus* em variedades de goiaba foram avaliadas as seguintes variáveis: a) Peso da pupa com 24h; b) Desenvolvimento (da eclosão da larva a emergência do adulto); c) Sobrevivência da fase jovem; d) Longevidade do adulto sem alimento, fêmea e macho e e) Razão sexual.

Para a análise dos dados, as médias da infestação foram comparadas pelo teste Tukey ($P < 0,05$). Foram testadas a normalidade (Shapiro-Wilk e Kolmogorov D) e a homogeneidade das variâncias (Bartlett's test). As figuras foram plotadas mediante a utilização do software Sigma Plot (versão 11.0).

3 Resultados

A partir dos resultados obtidos referentes as variáveis biológicas de *A. fraterculus*, pode-se verificar que não houve influência das variedades utilizadas no desenvolvimento do inseto-praga (Tabela 1). Com relação a variável peso de pupas, as variedades que proporcionaram maior peso, numericamente, foram Cascão (12,39 mg) e Século XXI (11,25 mg), enquanto que as demais, Paluma e Pedro Sato, proporcionaram os menores pesos 11,04 mg e 11,16 mg, respectivamente, porém, não diferindo estatisticamente entre si ($F= 0,13$; $P= 0,9408$). A variedade Século XXI proporcionou o maior período de desenvolvimento larval (19,95 dias), enquanto a variedade Pedro Sato proporcionou o menor período de desenvolvimento (17,05 dias). Contudo, na análise estatística, não foi observada diferença significativa entre as variedades estudadas ($F= 0,29$; $P= 0,8302$). Sobrevivência de 100% foi observado na variedade Paluma, no entanto, este resultado não difere dos demais ($F= 2,42$; $P= 0,1128$), onde as variedades Cascão, Século XXI e Pedro Sato proporcionaram sobrevivência de 93,75, 78,00 e 73,00%, respectivamente (Tabela 1).

Para a variável longevidade, não houve diferença estatística entre as variedades estudadas, tanto para fêmeas ($F= 2,92$; $P= 0,7256$) quanto para machos ($F= 2,11$; $P= 0,7300$), porém, para as fêmeas, a variedade que proporcionou um aumento na longevidade foi Cascão, com 4,66 dias e para os machos a variedade Século XXI com 4,50 dias. A variedade que proporcionou as menores longevidades foi Paluma, com 3,50 e 3,56 dias para ambos, fêmeas e machos, respectivamente. Também não foi constatada diferença significativa ($\chi^2=1,65$; $P= 0,6459$) no parâmetro razão sexual, variando de 0,52, na variedade Pedro Sato, a 0,56, na variedade Cascão (Tabela 1).

Tabela 1 Média (\pm EP) de peso de pupas (mg), desenvolvimento (dias), sobrevivência (%), longevidade de fêmeas e machos (dias) e razão sexual de *Anastrepha fraterculus* em diferentes variedades de goiaba.

Variedade	Peso de pupas (mg)	Desenvolvimento (dias)*	Sobrevivência da fase jovem (%)	Longevidade de fêmeas (dias)	Longevidade de machos (dias)	Razão sexual
Paluma	11,04 \pm 0,98 ^I	17,58 \pm 2,15 ^I	100,00 \pm 0,00	3,50 \pm 1,00 ^I	3,56 \pm 0,50 ^I	0,53 \pm 0,02 ^{II}
Século XXI	11,25 \pm 0,35	19,95 \pm 2,49	78,00 \pm 9,86	3,95 \pm 0,34	4,50 \pm 0,50	0,55 \pm 0,05
Pedro Sato	11,16 \pm 0,90	17,05 \pm 1,35	73,00 \pm 10,67	4,58 \pm 0,62	4,08 \pm 1,18	0,52 \pm 0,02
Cascão	12,39 \pm 3,18	17,82 \pm 3,07	93,75 \pm 4,73	4,66 \pm 0,57	3,66 \pm 0,57	0,56 \pm 0,03
^{III} F, P e χ^2	F= 0,13; P= 0,9408	F= 0,29; P= 0,8302	F= 2,42; P= 0,1128	F= 2,92; P= 0,7256	F= 2,11; P= 0,7300	χ^2 =1,65; P= 0,6459

^IMédias não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P= 0,05$) ou pelo teste de ^{II}Kruskal-Wallis ($P= 0,05$). ^{III}Valores de F, probabilidade (P) e de qui-quadrado (χ^2). *da eclosão da larva a emergência do adulto.

4. Discussão

As variedades estudadas não influenciaram no desenvolvimento biológico de *A. fraterculus*, tendo em vista que o inseto-praga encontrou condições apropriadas para completar seu desenvolvimento, desde a fase de ovo até a fase de adulto, em todos os tratamentos estudados (Tabela 1), indicando, portanto, que as variedades estudadas não apresentam resistência do tipo antibiose a *A. fraterculus*.

As variáveis avaliadas: peso de pupas, desenvolvimento larval, sobrevivência, longevidade de fêmeas e machos e razão sexual, não apresentaram diferença estatística significativa entre as variedades estudadas (Tabela 1). O peso de pupas variou de 11,04 a 12,39 mg, nas variedades Paluma e Cascão, respectivamente. Resultado semelhante foi registrado por Bisognin et al. (2013), que obtiveram pesos de pupas de 11,48 mg em frutos de pitanga e de 12,34 em frutos de araçá. No entanto, estes mesmos autores registraram valores de peso de pupas inferiores ao observados neste trabalho (Tabela 1), como os pupários obtidos dos frutos de mirtilo e de amora-preta, que propiciaram os seguintes pesos: 8,11 e 10,42 mg, respectivamente. Salles e Leonel (1996) verificaram que o peso de pupas de *A. fraterculus* provenientes de nêspera foi de 8,6 mg, que é, portanto, diferente dos valores obtido nesta pesquisa, enquanto Pereira-Rêgo et al. (2011) obtiveram peso médio de 12,8 mg em insetos provenientes de araçá-amarelo, valor próximo do registrado na variedade Cascão, no presente trabalho.

Salles e Leonel (1996) relataram que o peso dos pupários varia conforme o hospedeiro, assim como o número de larvas encontradas por fruto. Averill e Prokopy (1987) comprovaram essa hipótese e mencionaram que a densidade larval nos frutos é um dos principais fatores que influencia o peso de adultos de *Rhagoletis pomonella* (Walsh 1867) (Diptera: Tephritidae). Insetos criados durante o estágio larval na variedade Cascão apresentaram numericamente, na fase de pupa, os maiores pesos. No entanto, não diferem estatisticamente dos demais tratamentos, contudo, segundo Panizzi e Parra (1991), insetos maiores são mais aptos à reprodução.

Os registros na literatura com relação aos dados de longevidade de fêmeas e machos, sem alimentação, são incipientes, sendo relatados dados de longevidade de adultos com oferta de alimento, diferente do realizado no presente estudo, onde

esta variável foi avaliada sem o fornecimento de alimento aos adultos de ambos os sexos.

Quanto a variável razão sexual, não foram observadas diferenças entre os tratamentos avaliados. Para a mosca-das-frutas, a razão sexual está ao redor de 0,5, ou seja, uma fêmea para um macho (SALLES, 1995), o que pode ser verificado no presente estudo (Tabela 1).

5 Conclusão

As variedades de goiaba estudadas não apresentam resistência do tipo antibiose à *A. fraterculus*.

6 Referências

ANUÁRIO BRASILEIRO DA FRUTICULTURA, Gazeta Santa Cruz, Santa Cruz do Sul, Rio Grande do Sul, Brasil, 2009.

AVERILL, A. L.; PROKOPY, R. J. Intraspecific competition in the tephritid fruit fly *Rhagoletis pomonella*. **Ecology**, v. 68, p. 878-886, 1987.

BISOGNIN, M.; NAVA, D. E.; LISBÔA, H.; BISOGNIN, A. Z.; GARCIA, M. S.; VALGAS, R. A.; DIEZ-RODRÍGUEZ, G. I.; BOTTON, M.; ANTUNES, L. E. C. Biologia da mosca-das-frutas sul-americana em frutos de mirtilo, amoreira-preta, araçazeiro e pitangueira. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 48, n.2, p.141-147, 2013.

BOIÇA JUNIOR, A. L.; CAMPOS, A. P. Resistência de plantas a insetos: ensino, pesquisa e extensão. In: BUSOLI, A. C. et al. (Ed.). **Tópicos em entomologia agrícola III**. Jaboticabal: Multipress. 2010.

BOIÇA JUNIOR, A. L.; SOUZA, B. H. S.; BOTTEGA, D. B.; RODRIGUES, N. E.; PEIXOTO, M. L.; COSTA, E. N.; RIBEIRO, Z. A. Resistência de plantas e produtos naturais no controle de pragas em culturas agrícolas. In: BUSOLI, A. C. et al. (Ed.). **Tópicos em entomologia agrícola V**. Jaboticabal: Multipress. 2013.

DUARTE, A. L.; MALAVASI, A. **Moscas-das-frutas de importância econômica no Brasil**: Conhecimento básico e aplicado. Ribeirão Preto, FAPESP-Holos, 327p. 2000.

EL-BULUK, R. E.; BABIKER, E. E.; EL TINAY, A. H. Biochemical and physical changes in fruits of four guava cultivars during growth and development. **Food Chemistry**, v. 54, p. 279-282, 1995.

KLASSEN, W.; CURTIS, C. V. History of the sterile insect technique. In: DYCK, V. A.; HENDRICHS, J.; ROBINSON, A. S. (Ed.). **Sterile insect technique**: principles and practice in area-wide integrated pest management. Dordrecht: Springer, p. 3-36. 2005.

LARA, F. M.; **Princípios de resistência de plantas a insetos**. São Paulo: Ícone, 1991. 336p.

MALAVASI, A.; MORGANTE, J. S. Adult and larval population fluctuation of *Anastrepha fraterculus* and its relationship to host availability. **Environmental Entomology**, v. 10, p. 275-278. 1981.

MONTES, S. M. N. M; RAGA, A. Eficácia de atrativos para monitoramento de *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae) em pomar de citros. **Arquivos do Instituto Biológico**, v.73, n.3, p.317-323. 2006.

MOURA, A. P.; MOURA, D. C. M. Espécies de moscas-das-frutas (Diptera: Tephritidae) associadas a cultura da goiabeira (*Psidium guajava* Linnaeus) em Fortaleza, Ceará. **Arquivos do Instituto Biológico**, v.73, p.65-71. 2006.

SANTOS, J. P.; CORRENT, A. R.; BERTON, O.; SCHWARZ, L. L.; DENARDI, F. Incidência de podridão-branca em frutos de macieira com e sem fermentos. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 30, n. 1, p. 118-121. 2008.

PANIZZI, A. R.; PARRA, J. R. P. **Ecologia nutricional de insetos e suas implicações no manejo de pragas**. São Paulo: Manole, 1991. 350p.

PEREIRA-RÊGO, D. R. G.; JAHNKE, S. M.; REDAELLI, L. R.; SCHAFFER, N. Morfometria de *Anastrepha fraterculus* (Wied.) (Diptera: Tephritidae) relacionada a hospedeiros nativos, Myrtaceae. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 78, p. 37-43, 2011.

SALLES, L. A. B. Metodologia de criação de *Anastrepha fraterculus* (Wied., 1830) (Diptera: Tephritidae) em dieta artificial em laboratório. **Anais da Sociedade Entomológica Brasileira**, v. 21, p. 479-486, 1992.

SALLES, L. A. B. **Bioecologia e controle da mosca-das-frutas sul-americana**. Pelotas: Embrapa-CPACT, 1995. 58p.

SALLES, L. A.; LEONEL, M. A. H. Influência do hospedeiro no desenvolvimento larval e pupal de *Anastrepha fraterculus* (Wied.) (Diptera: Tephritidae). **Anais da Sociedade Entomológica Brasil**, v. 25, p. 373-375, 1996.

CAPÍTULO 5 - Efeito da aplicação de bioinseticidas em frutos de variedades de goiaba na oviposição de *Anastrepha fraterculus*

Resumo

Tefritídeos causam sérios problemas a exportação de frutos devido às regulamentações quarentenárias impostas pelos importadores. Alternativas de controle são relevantes para otimização do manejo desses insetos. Diante disso, objetivou-se avaliar produtos naturais como possíveis repelentes a oviposição de *Anastrepha fraterculus* (Wiedemann) (Diptera: Tephritidae) em frutos de goiaba. A pesquisa foi conduzida no Laboratório de Resistência de Plantas da UNESP/FCAV/Jaboticabal-SP. Em testes anteriores, as variedades de goiaba Século XXI e Paluma, demonstraram maior e menor índices de infestações, respectivamente. Os produtos naturais utilizados foram os óleos de nim, erva-doce e citronela, e testemunha nas concentrações: 0,0; 0,3; 0,5; 1,0 e 3,2%. Foram consideradas duas situações: sem e com chance de escolha para oviposição. No teste sem chance de escolha, a análise de covariância revelou que o efeito dos produtos depende da concentração, pois a interação produtos *versus* concentração foi significativa ($F_{8,27}=4,71$; $P<0,0001$). Em condições de chance de escolha, a interação produtos *versus* variedades *versus* concentrações foi significativa ($F_{7,27}=19,71$; $P=0,0001$), revelando que houve diferença da infestação de *A. fraterculus* entre os produtos dentro de cada concentração/variedade. O nível de infestação de larvas de *A. fraterculus*, em frutos de goiaba tratados com óleo de nim, variou de 0 a 0,35 nas concentrações 0,5 e 3,2% e 0,3%, respectivamente; com óleo de citronela variou de 0,15 (3,2%) a 0,85 (0,3%), enquanto que para o óleo de erva-doce variou de 0,70 (3,2%) a 3,55 (0,5%). Quanto ao nível de infestação nas variedades, observou-se variação de 0,33 (3,2%) a 1,06 (0,5%) na Paluma e de 0,23 (3,2%) a 1,66 (0,5%) na Século XXI. Portanto, os produtos que proporcionaram os menores índices de infestação foram óleos de nim e de citronela, a partir da concentração 1,0%. Os frutos, quando tratados com citronela na concentração 3,2%, apresentaram fitotoxicidade.

Palavras-chave: *Psidium guajava*; Tephritidea; Repelência.

CHAPTER 5 – Effect of bioinsecticides applied on fruit of guava cultivars on the egg-laying of *Anastrepha fraterculus*

Abstract

Tephritidae cause serious problems exporting fruit due to quarantine regulations imposed by importing countries. Control alternatives are relevant to optimizing the management of these insects. Therefore, we aimed to evaluate natural products as potential oviposition repellents *Anastrepha fraterculus* (Wiedemann) (Diptera: Tephritidae) in guava fruits. The research was conducted at the Laboratory of Plant Resistance UNESP/FCAV/Jaboticabal. In assays carried out previously, the cultivars of guava Século XXI and Paluma showed the highest and lowest rates of infestations, respectively. Natural products used were: neem, fennel and citronella oils, and control (without product) at concentrations of 0.0, 0.3, 0.5, 1.0 and 3.2%. Two situations were considered: multiple and non-choice. In non-choice test, analysis of covariance revealed that the effect of the product depends on the concentration, because the interaction products versus concentration was significant ($F_{8,27} = 4.71$, $P < 0.0001$). Under conditions of multiple choice, the interaction product varieties versus concentrations was significant ($F_{7,27} = 19.71$, $P = 0.0001$), revealing that there were differences of infestation of *A. fraterculus* between the products within each concentration / variety. The infestation level (larvae/female) of *A. fraterculus* larvae in guava fruit treated with neem oil ranged from 0 to 0.35 at levels of 0.5 and 3.2% and 0.3% respectively, with citronella oil ranged from 0.15 (3.2%) to 0.85 (0.3%), while to the fennel oil ranged from 0.70 (3.2%) to 3.55 (0.5%). Regarding the infestation level in the cultivars, ranged from 0.33 (3.2%) to 1.06 (0.5%) in Paluma and from 0.23 (3.2%) to 1.66 (0.5%) in the Século XXI. Therefore, products which showed the lowest infestation rates were oils from neem and citronella, at 1.0% concentration. The fruits when treated with citronella concentration 3.2%, showed phytotoxicity.

Keywords: *Psidium guajava*; Tephritidea; Repellency .

1 Introdução

A fruticultura merece destaque dentre os diversos setores agrícolas brasileiros devido às características positivas que exerce no cenário rural. Presente em todos os estados brasileiros, esta atividade agrícola envolve mais de 5 milhões de pessoas, que trabalham de forma direta ou indireta, o que evidencia sua importância como atividade econômica, geradora de empregos e responsável pela permanência dos agricultores no meio rural (FACHINELLO et al., 2011).

Todas as regiões produtoras de frutas apresentam um dos problemas fitossanitários em comum, a ocorrência da mosca-das-frutas sul-americana, *Anastrepha fraterculus* (Wiedemann, 1830) (Diptera: Tephritidae), praga de origem neotropical que ocorre do Sul dos EUA ao Norte da Argentina (MALAVASI et al., 2000). No Brasil, são conhecidos 81 hospedeiros, e espécies das famílias Myrtaceae e Rosaceae estão entre os preferidos (SALLES, 1995; ZUCCHI, 2008). A presença de *A. fraterculus* em fruteiras nativas é facilmente verificada, e os índices de infestação normalmente são altos (GARCIA; NORRBOM, 2011; NUNES et al., 2012). Garcia e Norrbom (2011), em estudo realizado no estado de Santa Catarina, mencionam a presença do inseto em 20 espécies de plantas, nativas e exóticas, distribuídas em oito famílias botânicas.

O desenvolvimento de técnicas de controle dessa praga é de fundamental importância, devido às consideráveis perdas econômicas causadas à fruticultura (CORSATO, 2004; MONTES; RAGA, 2006). A possibilidade de cultivo sem agrotóxicos, associada às exigências por parte dos consumidores por produtos ausentes de resíduos químicos, tem aumentado o interesse de diversos produtores pela produção orgânica e de pesquisadores por métodos de controle alternativos. Diversos trabalhos têm discutido a aplicabilidade de produtos naturais, como óleos essenciais, no controle fitossanitário. A atividade inseticida de óleos essenciais pode ocorrer de diversas formas, causando mortalidade, deformações em diferentes estágios de desenvolvimento como também repelência e deterrência, sendo a atividade repelente o modo de ação mais comum dos óleos essenciais e de seus componentes majoritários (ISMAN, 2006).

Nesse contexto, segundo Vasconcelos et al. (2006), uma alternativa que vem sendo retomada para o controle de pragas é o uso de metabólitos secundários

presentes em algumas plantas, as quais são chamadas de “plantas inseticidas”. Diversas substâncias oriundas dos produtos intermediários ou finais do metabolismo secundário dessas plantas, que podem ser encontradas nas raízes, folhas e sementes, entre eles, rotenóides, piretróides alcalóides e terpenóides, podem interferir severamente no metabolismo de outros organismos, causando impactos variáveis, como repelência, deterrência alimentar e de oviposição, esterilização, bloqueio do metabolismo e interferência no desenvolvimento, sem necessariamente causar a morte (MEDEIROS, 1990; LANCHER, 2000). Nesse último caso, pode haver retardamento no desenvolvimento do inseto, causando efeito insetistático como frisaram Hernandez e Vendramim (1998).

Segundo Medeiros et al. (2005) e Torres et al. (2006), produtos naturais extraídos de plantas constituem-se em fonte de substâncias bioativas compatíveis com programas de manejo integrado de pragas (MIP). Dessa forma, pode ser um forte aliado a outros métodos de controle de insetos, auxiliando para manter o equilíbrio ambiental, deixando poucos resíduos químicos, e reduzida ação tóxica aos animais e ao homem, reduzindo os efeitos negativos ocasionados pela aplicação frequente de inseticidas organossintéticos. Assim sendo, objetivou-se identificar o efeito de produtos naturais aplicados em frutos de duas variedades de goiaba na oviposição de *A. fraterculus*.

2 Material e Métodos

A pesquisa foi desenvolvida no Laboratório de Resistência de Plantas a Insetos do Departamento de Fitossanidade da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias (FCAV) - UNESP – Câmpus de Jaboticabal. Os ensaios foram conduzidos sob temperatura média de $25 \pm 1^\circ\text{C}$, umidade relativa de $60 \pm 10\%$ e fotoperíodo de 12h.

Os frutos de goiaba selecionados para a realização dos bioensaios foram das variedades Pedro Sato, Paluma, Cascão e Século XXI, os quais foram oriundos da Empresa VAL Frutas, localizado no município de Vista Alegre do Alto, distante 35 Km do município de Jaboticabal – SP. A escolha destas variedades foi devido serem algumas das mais cultivadas no país (EL-BULUK et al, 1995; ANUÁRIO BRASILEIRO DA FRUTICULTURA, 2009). Os espécimes de *A. fraterculus* utilizados

foram oriundos de criação massal em dieta artificial (adaptada de SALLES, 1992) mantidas no Laboratório de Radioentomologia do Centro de Energia Nuclear da Agricultura – CENA/USP, localizado em Piracicaba – SP.

Para avaliar o efeito de produtos naturais aplicados em frutos de goiabeira na oviposição de *A. fraterculus*, realizou-se testes preliminares para selecionar duas variedades: uma suscetível – Século XXI, e uma resistente – Paluma. Os bioinseticidas utilizados para avaliação foram: óleo de nim, óleo de erva-doce, óleo de citronela, e testemunha, nas seguintes concentrações: 0,0; 0,3; 0,5; 1,0 e 3,2%, com fins de determinar a melhor concentração.

O produto comercial de óleo de nim utilizado foi o AZAMAX®, um concentrado emulsionável à base de azadiractina, do grupo dos tetranortriterpenóides, com 1,2% de azadiractina (12 g/L). Esse produto foi introduzido no mercado brasileiro em 2009, sendo o único registrado no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) para o controle de pragas na agricultura e certificado pelo Instituto Biodinâmico (IBD) para emprego em sistemas de produção orgânica (AGROFIT, 2003). O óleo de erva-doce e o óleo de citronela utilizados não são produtos comerciais, tendo sido adquiridos no Laboratório de Entomologia da Universidade Federal da Paraíba, Campus III – Bananeiras-PB, utilizando-se o processo de hidrodestilação durante 4 horas, com um aparelho tipo-Clevenger.

Os frutos, em estágio de maturação fisiológica “de vez”, o de maior preferência das moscas-das-frutas conforme avaliação prévia, foram imersos na solução por um período de um minuto. Foram consideradas as situações de com e sem chance de escolha.

a) Teste com chance de escolha: Neste teste a repelência para oviposição foi avaliada de acordo com o produto utilizado, considerando-se um delineamento experimental em blocos ao acaso. Com o objetivo de evitar que os tefritídeos se confundissem com a mistura de odores (diferentes concentrações), foram utilizados olfatômetros com 5 saídas, onde em cada saída foi colocado um recipiente de plástico com capacidade para 500 ml contendo um fruto tratado com cada produto e em cada uma das concentrações utilizadas, quais sejam: 0,0; 0,3; 0,5; 1,0 e 3,2%. Foram utilizadas 10 repetições, sendo cada olfatômetro uma repetição. Posteriormente foram liberados 5 casais de *A. fraterculus* em período fértil, ou seja,

dez dias após a emergência (SALLES, 1999) por gaiola. As avaliações de atratividade dos insetos pelos frutos foram realizadas por um período de 24 horas, nos seguintes tempos: 1", 3", 5", 10", 20", 30", 1h, 2h, 6h, 12h e 24h. Após 10 dias os frutos foram abertos e verificou-se o número de larvas de *A. fraterculus* em cada fruto, conforme procedimento adotado por Oliveira et al. (2012).

b) Teste sem chance de escolha: Neste teste a repelência para oviposição foi avaliada de acordo com o produto utilizado, considerando-se um delineamento inteiramente casualizado. Em cada gaiola (recipiente de plástico) com capacidade para 1000 ml, foi colocado um fruto tratado com cada produto em cada uma das concentrações citadas anteriormente, e uma como testemunha, totalizando 5 tratamentos, utilizando-se 10 repetições, sendo cada gaiola com um fruto uma repetição. Posteriormente foi liberado um casal de *A. fraterculus* por gaiola em período fértil (SALLES, 1999). As avaliações foram realizadas de acordo com aquela apresentada no item anterior

2.1 Análise dos dados

Para a análise dos dados de ambos os experimentos, a presença dos indivíduos (fêmeas) em cada tratamento foram submetidos a regressão logística, ajustando os dados a distribuição binomial, através do procedimento LOGISTIC (SAS INSTITUTE, 2006). A probabilidade (p) de ocorrência dos indivíduos nos frutos foi estimada através do modelo:

$$\hat{p} = \frac{\exp(B_0 + B_1 X)}{1 + \exp(B_0 + B_1 x)} = \frac{e^{B_0 + B_1 x}}{1 + e^{B_0 + B_1 x}}$$

Onde: exp é a função exponencial, x é o tempo; Bj= são os coeficientes. Médias da infestação foram comparadas pelo teste Tukey ($P < 0.05$). Foram testadas a normalidade (Shapiro-Wilk e Kolmogorov D) e a homogeneidade das variâncias (Bartlett's test). As figuras foram plotadas mediante a utilização do software Sigma Plot (versão 11.0) (2012).

3 Resultados

A análise de covariância (Tabela 1) revelou que, para o teste sem chance de escolha, as interações: produto *versus* variedade *versus* concentração ($F_{8,27}=1,00$; $P= 0,4399$) e produto *versus* variedade ($F_{2,27}= 0,60$; $P= 0,5485$) não foram significativas. Houve diferença significativa da infestação de *A. fraterculus* entre os produtos ($F= 5,17$; $GI= 2$; $P= < 0,0001$) e variedades ($F= 23,02$; $GI= 1$; $P= < 0,0001$), sendo que o efeito dos produtos depende da covariável concentração, pois a interação entre produtos *versus* a covariável concentração foi significativa ($F_{8,27}= 4,71$; $P< 0,0001$) (Tabela 1). Em condições com chance de escolha, a interação produtos *versus* variedades *versus* concentrações foi significativa ($F_{7,27}= 19,71$; $P= 0,0001$). O modelo utilizado revelou que houve diferença da infestação de *A. fraterculus* entre os produtos ($F= 18,60$; $GI= 2$; $P= < 0,0001$) e entre as variedades estudadas ($F= 2,73$; $GI= 1$; $P= 0,0497$).

Tabela 1 Análises de covariância para infestação de *Anastrepha fraterculus* (larvas/fêmea/fruto) em diferentes variedades de goiaba, e cinco concentrações de três bioinseticidas, em duas condições, sem e com chance de escolha.

Fonte de Variação	Sem chance		Com chance	
	<i>F</i>	Pr > <i>F</i>	<i>F</i>	Pr > <i>F</i>
Bioinseticida (P)	5,17	0,0063	18,60	0,0001
Variedade (V)	23,02	0,0001	2,73	0,0497
Concentração (C)	210,37	0,0001	472,01	0,0001
P x C	4,71	0,0001	13,98	0,0001
V x C	9,12	0,0001	4,18	0,0027
P x V	0,60	0,5485	77,81	0,0001
P x C x V	1,00	0,4399	19,71	0,0001

Observa-se, na Figura 1, que a infestação (larvas/fêmea/fruto) de *A. fraterculus* foi reduzida quando os frutos foram tratados com os bioinseticidas, nas concentrações utilizadas. O maior índice de infestação foi registrado quando utilizou-se o óleo de erva-doce, na concentração de 0,5%, enquanto que os menores índices foram registrados para o óleo de nim, que nas concentrações de 0,5 e 3,2% proporcionaram infestação zero, porém não difere do tratamento óleo de citronela na concentração de 0,5% e nem dos tratamentos óleos de citronela e erva-doce, na concentração 3,2% (Figura 1; Tabela 2).

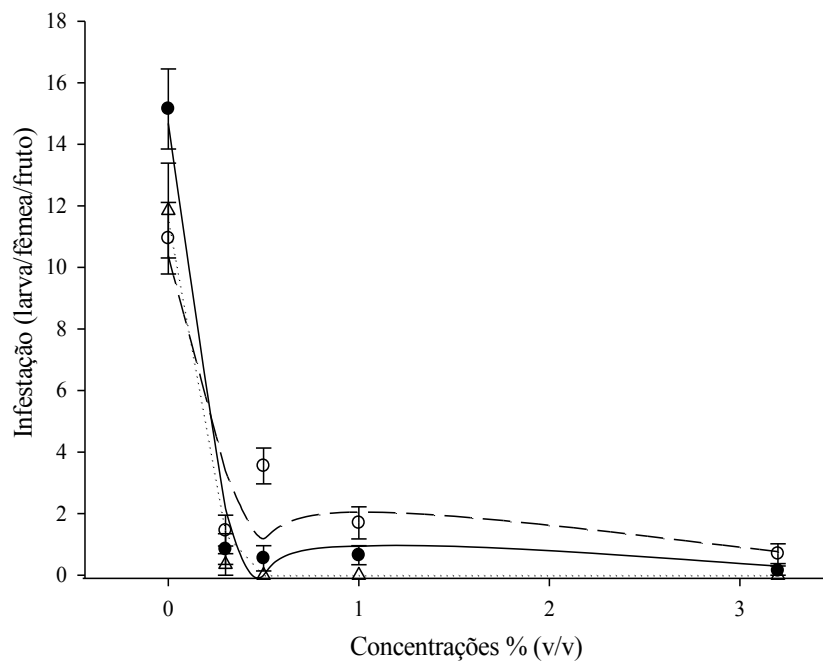


Figura 1 Infestação (larvas/fêmea/fruto) de *Anastrepha fraterculus* em função de concentrações dos bioinseticidas: Óleo de citronela (—●—); Óleo de erva-doce (—○—); Óleo de nim (···△···), em teste sem chance de escolha.

Tabela 2 Número médio (\pm EP) de larvas por fêmea por fruto de *Anastrepha fraterculus*, obtidos em frutos de goiaba das variedades Paluma e Século XXI quando tratados com cinco concentrações de três bioinseticidas, em teste sem chance de escolha.

Concentração (%) dos bioinseticidas	Bioinseticidas (Óleos)		
	Nim	Citronela	Erva-doce
0	11,85 \pm 1,54A	15,15 \pm 1,3A	10,95 \pm 1,16A
0,3	0,35 \pm 0,35A	0,85 \pm 0,50A	1,45 \pm 0,50A
0,5	0,00 \pm 0,00B	0,55 \pm 0,41B	3,55 \pm 0,58A
1,0	0,15 \pm 0,10B	0,65 \pm 0,31AB	1,70 \pm 0,52A
3,2	0,00 \pm 0,00A	0,15 \pm 0,15A	0,70 \pm 0,32A

Médias seguidas pela mesma letra na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P = 0,05$).

A infestação nas variedades Paluma e Século XXI não diferiram significativamente entre si nas concentrações avaliadas, no entanto, na testemunha (sem aplicação dos óleos) na variedade Século XXI foi constatada uma maior infestação de *A. fraterculus*, diferindo da variedade Paluma (Tabela 3).

Tabela 3 Número médio (\pm EP) de larvas por fêmea por fruto de *Anastrepha fraterculus*, obtidos em frutos das variedades Paluma e Século XXI, em teste sem chance de escolha.

Concentração (%) dos bioinseticidas	Variedades	
	Paluma	Século XXI
0	9,93 \pm 1,16B	15,36 \pm 0,86A
0,3	0,46 \pm 0,26A	1,30 \pm 0,45A
0,5	1,06 \pm 0,36A	1,66 \pm 0,50A
1,0	0,46 \pm 0,26A	1,30 \pm 0,45A
3,2	0,33 \pm 0,18A	0,23 \pm 0,16A

Médias seguidas da mesma letra na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P = 0,05$).

Observa-se na Figura 2 e na Tabela 4 que a infestação (larvas/fêmea/fruto) de *A. fraterculus*, em teste com chance de escolha, foi reduzida quando os frutos foram tratados com os bioinseticidas, nas concentrações utilizadas. Na variedade Paluma, os maiores índices de infestação foram registrados quando utilizou-se o óleo de citronela, nas concentrações de 0,3, 0,5 e 1,0%, com, respectivamente, 1,10; 1,40 e 1,70% de infestação, não diferindo estatisticamente entre si. Os menores índices foram registrados para o óleo de nim, que nas concentrações de 0,5 e 1,0% proporcionou infestação zero, porém não difere da concentração de 3,2%, com 0,10% de infestação, e para o óleo de erva-doce, que nas concentrações de 0,5 e 1,0% proporcionou infestação zero, porém não difere das concentrações de 0,3 e 3,2%, ambas com 0,10% de infestação (Figura 2; Tabela 4).

Resultado diferente foi constatado para a variedade Século XXI, onde os menores índices de infestação foram registrados quando utilizou-se o óleo de citronela, com infestações de 0,02, 0,07 e 0,12% nas respectivas concentrações de 1,0, 0,5 e 0,3%. Verificou-se que o maior índice de infestação foi no tratamento óleo de erva-doce, na concentração de 1,0%, com 1,80% de infestação, no entanto, não difere das demais concentrações: 0,3, 0,5 e 3,2%, com as respectivas infestações: 1,00, 0,50 e 0,80%. Para o óleo de nim, observa-se que não houve diferença significativa entre as concentrações utilizadas (Figura 2; Tabela 4).

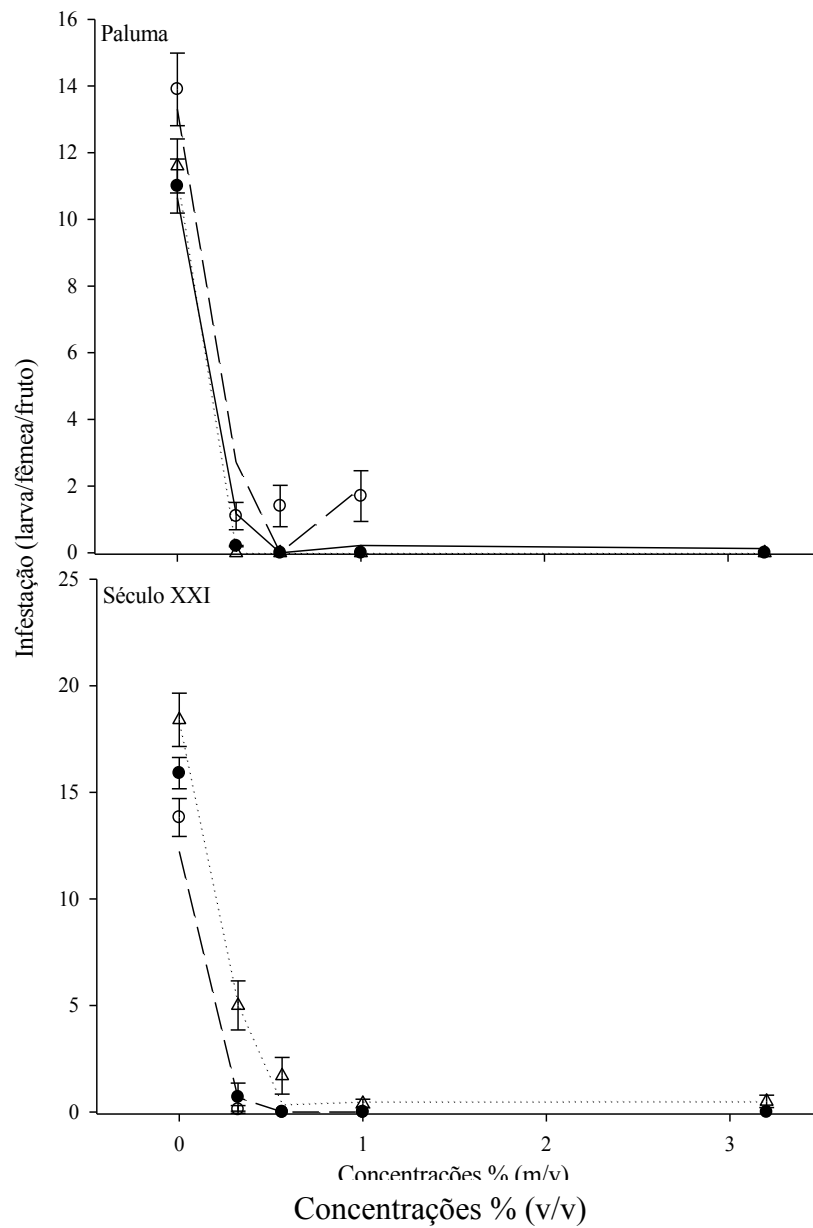


Figura 2 Infestação (larvas/fêmea/fruto) de *Anastrepha fraterculus* em função de concentrações dos bioinseticidas: Óleo de nim (—●—); Óleo de citronela (—○—) e Óleo de erva-doce (···△···), em teste com chance de escolha.

Tabela 4 Número médio (\pm EP) de larvas por fêmea por fruto de *Anastrepha fraterculus*, obtidos em frutos de goiaba das variedades Paluma e Século XXI em cinco concentrações de três óleos essenciais em teste com chance de escolha.

Concentração (%) dos produtos	Paluma			Século XXI		
	Nim	Citronela	Erva-doce	Nim	Citronela	Erva-doce
0	11,00 \pm 0,85bA	13,90 \pm 1,04aA	11,60 \pm 0,76bA	18,40 \pm 1,30aA	13,82 \pm 0,19aA	16,60 \pm 0,81aA
0,3	0,20 \pm 0,13bAB	1,10 \pm 0,43aA	0,10 \pm 0,10aB	5,00 \pm 1,20aA	0,12 \pm 0,08bB	1,00 \pm 0,47aB
0,5	0,00 \pm 0,00aB	1,40 \pm 0,65aA	0,00 \pm 0,00aB	1,70 \pm 0,90aA	0,02 \pm 0,02bA	0,50 \pm 0,34aA
1,0	0,00 \pm 0,00aB	1,70 \pm 0,80aA	0,00 \pm 0,00aB	0,40 \pm 0,22aB	0,07 \pm 0,05bB	1,80 \pm 0,59aA
3,2	0,10 \pm 0,10aA	-	0,10 \pm 0,10aA	0,50 \pm 0,30aA	-	0,80 \pm 0,80aA

Médias seguidas pela mesma letra maiúscula (dentro das linhas) e minúscula (dentro das colunas) não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P= 0,05$).

Na condição com chance de escolha (Figura 3), para o óleo de nim, os coeficientes lineares da regressão logística foram negativos para as variedades Século XXI e Paluma nas concentrações utilizadas do produto, exceto na testemunha na variedade Século XXI, onde o coeficiente linear da regressão foi positivo. Estes dados podem ser visualizados na Figura 3, onde é possível verificar que a proporção de indivíduos por fruto diminuiu e/ou aumentou após 120 minutos da liberação de *A. fraterculus*.

Para o óleo de citronela, observa-se na Figura 4 que o coeficiente linear da regressão logística foi negativo para as variedades Século XXI e Paluma em todas as concentrações do produto testado. A proporção de indivíduos por fruto diminuiu após 120 minutos da liberação de *A. fraterculus*. Ainda no teste com chance de escolha, os resultados revelaram que os coeficientes lineares da regressão também foram negativos para as variedades Século XXI e Paluma nas concentrações: 0; 0,3; 0,5; 1,0 e 3,2% do óleo de erva-doce. Estes resultados podem ser verificados na Figura 5, onde nota-se que a proporção de indivíduos diminuiu após 120 minutos da liberação de *A. fraterculus*.

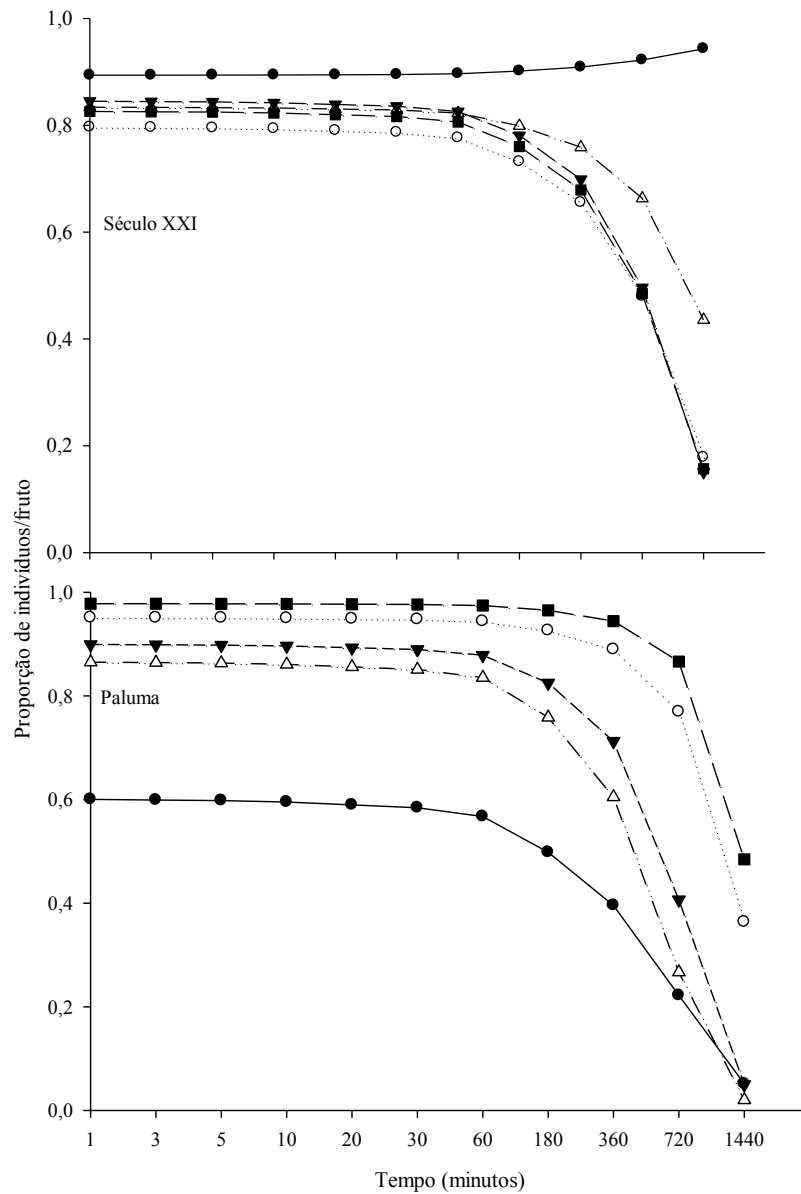


Figura 3 Proporção de indivíduos de *Anastrepha fraterculus* por fruto de goiaba quando tratados com óleo de nim, em condições de chance de escolha. 0 (—●—), 0,3 (····○····), 0,5 (---▼---), 1,00 (---△---) e 3,20 (—■—)

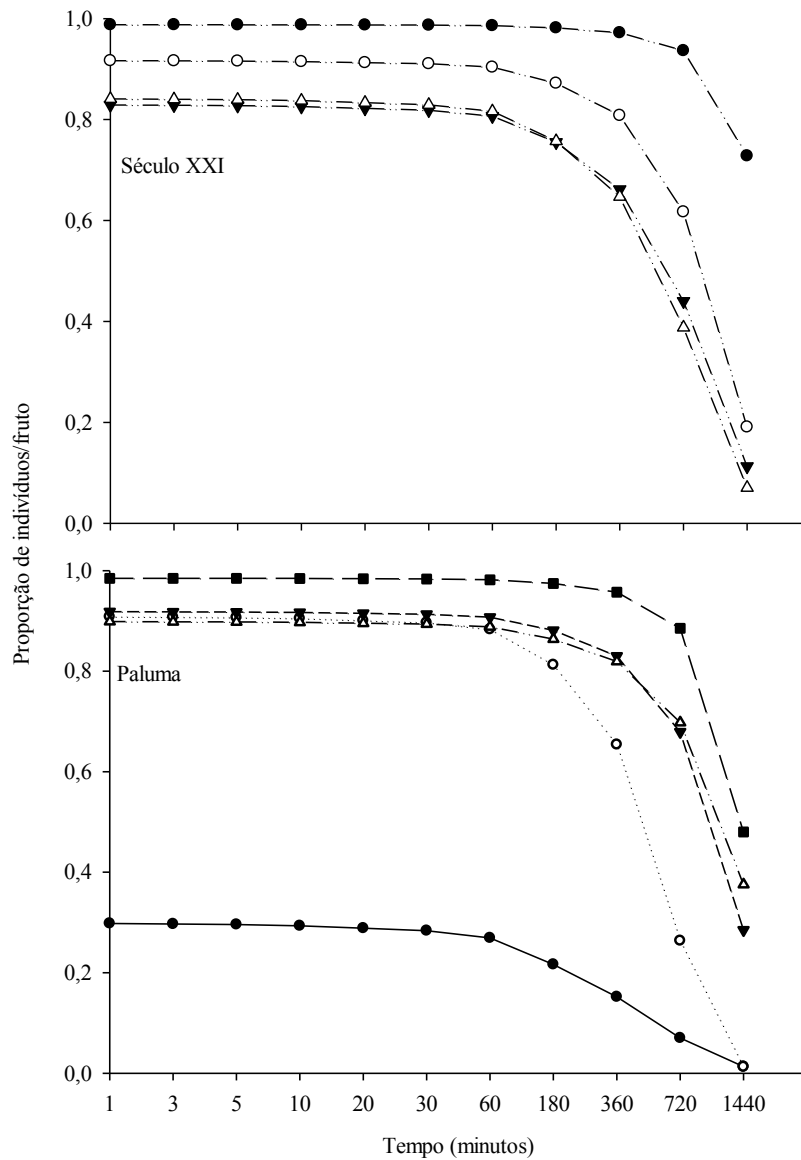


Figura 4 Proporção de indivíduos de *Anastrepha fraterculus* por fruto de goiaba quando tratados com óleo de citronela, em condições de chance de escolha. 0 (—●—), 0,3 (····○····), 0,5 (---▼---), 1,00 (—△—) e 3,20 (—■—)

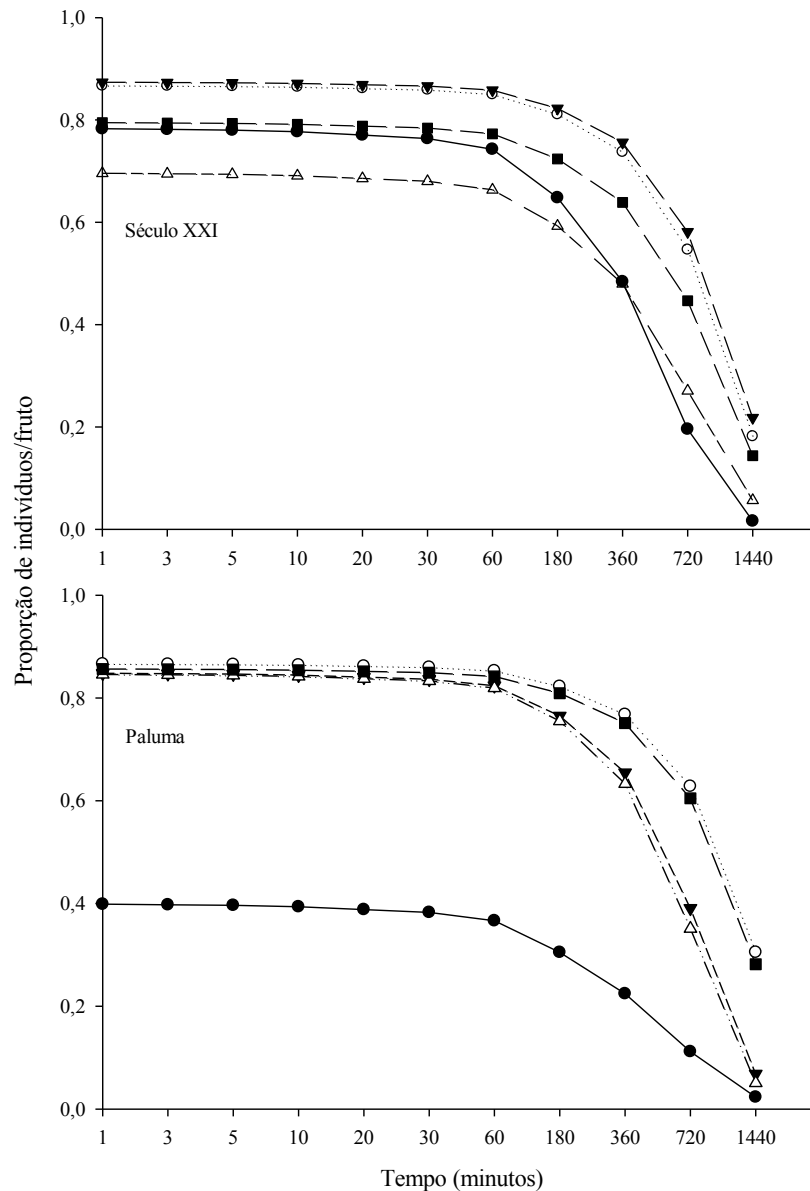


Figura 5 Proporção de indivíduos de *Anastrepha fraterculus* por fruto de goiaba quando tratados com óleo de erva-doce, em condições de chance de escolha. 0 (—●—), 0,3 (····○····), 0,5 (---▼---), 1,00 (—△—) e 3,20 (—■—)

Na condição sem chance de escolha, para o óleo de nim, os coeficientes da regressão logística foram: constantes, positivos e negativos para as variedades Século XXI e Paluma (Figura 6). Na variedade Século XXI o coeficiente foi constante para as concentrações 0,3; 0,5 e 3,2%; foi positivo para a concentração 1,0%, onde

a proporção de indivíduos aumentou após 120 minutos da liberação do tefritídeo, e negativo na testemunha, onde a proporção de indivíduos diminuiu após 120 da liberação de *A. fraterculus*. Na variedade Paluma, observa-se que o coeficiente foi constante nas concentrações 0,5 e 3,2%; e foi negativo nas demais concentrações, ou seja, testemunha, 0,3 e 1,0% (Figura 6).

Para o óleo de erva-doce, observa-se na Figura 7, que os coeficientes lineares da regressão logística foram positivos e negativos para as variedades Século XXI e Paluma. Na variedade Século XXI o coeficiente foi positivo nas concentrações 0,3 e 1,0%, onde a proporção de indivíduos aumentou após 120 minutos da liberação de *A. fraterculus* e negativo nas concentrações 0 (testemunha), 0,3 e 3,2%, onde a proporção de indivíduos diminuiu após 120 minutos da liberação do tefritídeo. Para a variedade Paluma, o coeficiente foi positivo nas concentrações 0 (testemunha), 1,0 e 3,2%, onde a proporção de indivíduos aumentou após 60 minutos da liberação de *A. fraterculus* e negativo para as concentrações 0,3 e 0,5%, onde a proporção de indivíduos diminuiu após 120 minutos da liberação do tefritídeo.

Ainda no teste sem chance de escolha, os resultados revelaram que os coeficientes lineares da regressão também foram positivos para a variedade Século XXI nas concentrações: 0,3; 0,5; 1,0 e 3,2% do óleo de citronela e negativo para a testemunha. Estes resultados podem ser verificados na Figura 8, onde nota-se que a proporção de indivíduos diminuiu e/ou aumentou após 120 minutos da liberação de *A. fraterculus*.

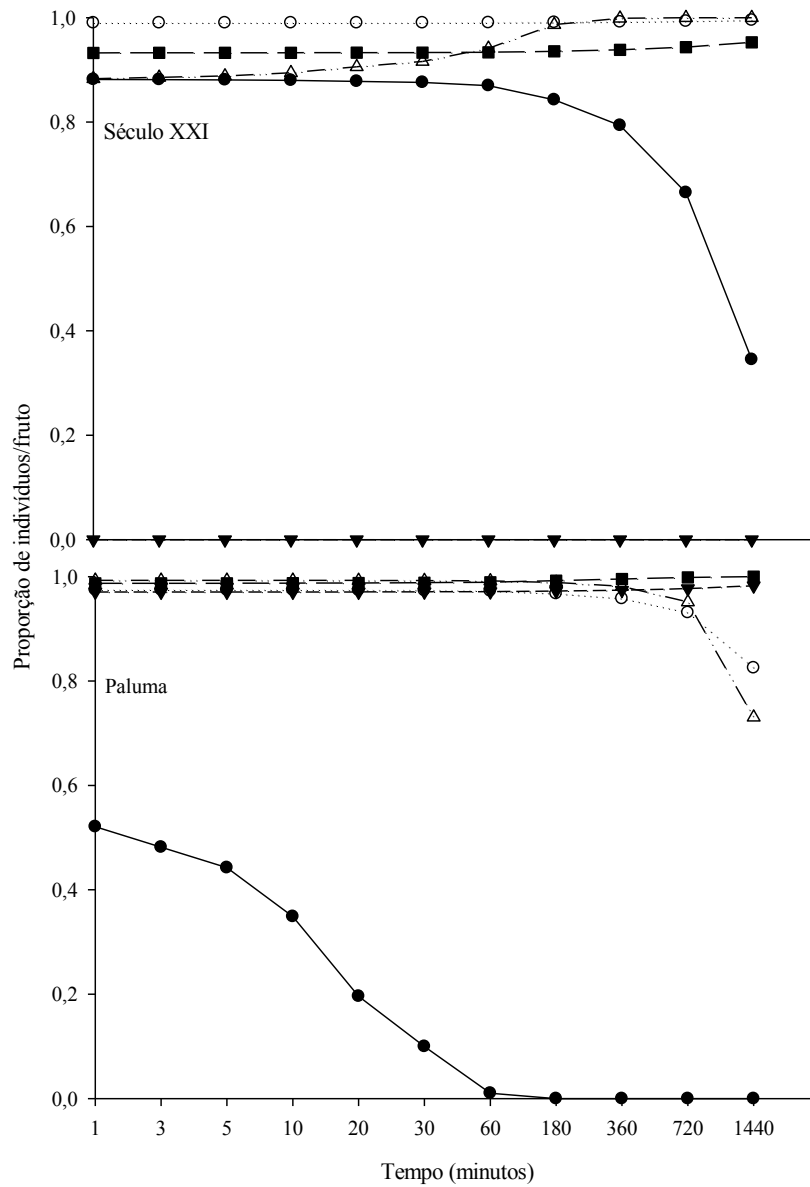


Figura 6 Proporção de indivíduos de *Anastrepha fraterculus* por fruto de goiaba quando tratados com óleo de nim, em condições de sem chance de escolha. 0 (—●—), 0,3 (.....○.....), 0,5 (---▼---), 1,00 (---△---) e 3,20 (—■—)

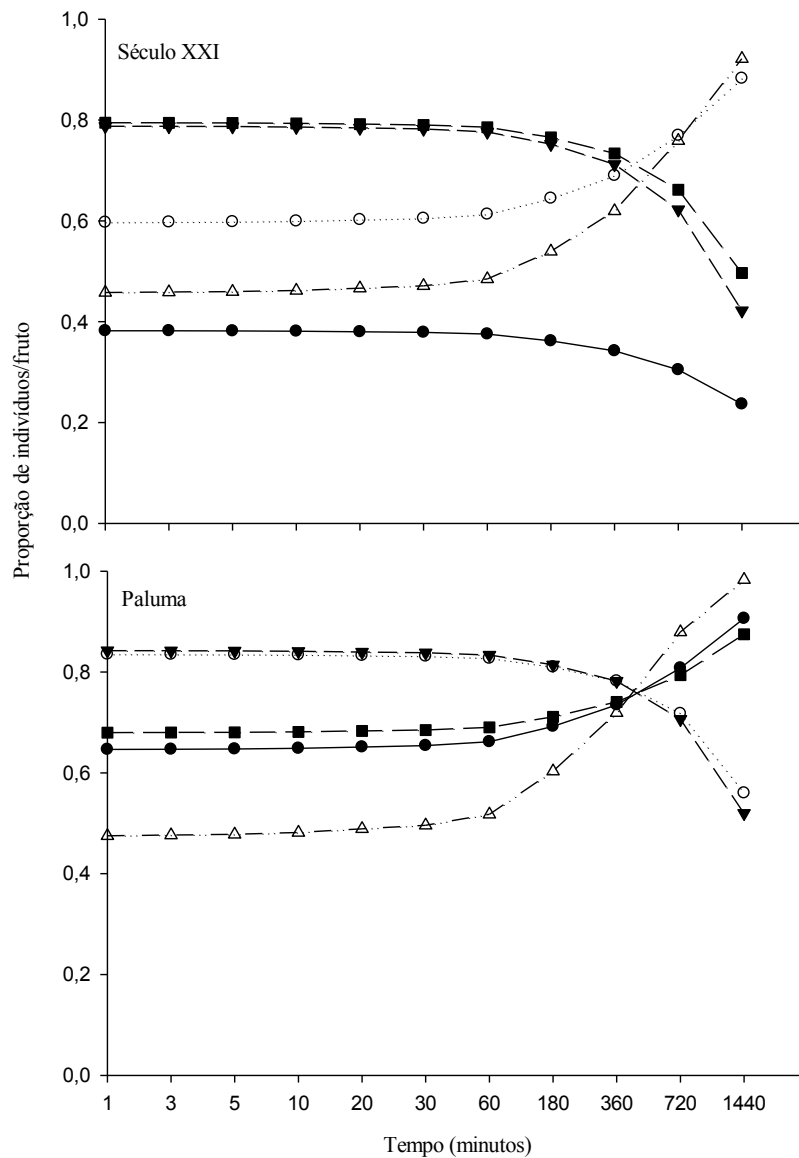


Figura 7 Proporção de indivíduos de *Anastrepha fraterculus* por fruto de goiaba quando tratados com óleo de erva-doce, em condições de sem chance de escolha. 0 (—●—), 0,3 (.....○.....), 0,5 (---▼---), 1,00 (---△---) e 3,20 (—■—)

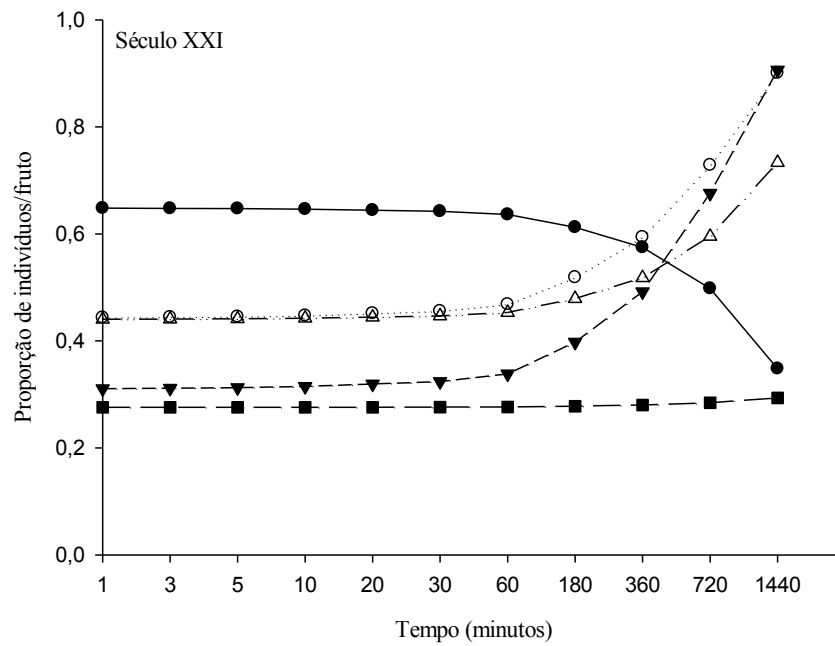


Figura 8 Proporção de indivíduos de *Anastrepha fraterculus* por fruto de goiaba quando tratados com óleo de citronela, em condições de sem chance de escolha. 0 (—●—), 0,3 (.....○.....), 0,5 (---▼---), 1,00 (---△---) e 3,20 (—■—)

4 Discussão

A utilização dos óleos naturais proporcionou significativa redução no nível de infestação de *A. frateculus*, com relação ao tratamento testemunha (sem aplicação de produto), demonstrando que estes produtos podem possuir características deterrentes e/ou repelentes. De acordo com Smith (2005) os fagodeterrentes dividem-se em dois grupos: deterrentes de alimentação e/ou oviposição e inibidores de alimentação e/ou oviposição, onde, a princípio, os deterrentes incluiriam substâncias que impedem a tomada do alimento, enquanto os inibidores compreenderiam as substâncias que reduzem a alimentação sem, contudo, impedi-la (VENDRAMIM; GUZZO, 2009).

O produto que proporcionou maior eficiência nesta redução foi o óleo de nim, no entanto, observa-se que os demais óleos testados, citronela e erva-doce, também mostraram-se eficazes (Tabela 2; Figura 2). É possível observar na Tabela 2 que quando não houve aplicação de produto, o nível de infestação foi superior a 10 larvas/fêmea/fruto, enquanto que nos demais tratamentos, esse valor não ultrapassou as 3,55 larvas/fêmea/fruto. Esse fato demonstra que nos estudos com óleos vegetais, a mortalidade dos insetos nem sempre é muito efetiva, uma vez que esses produtos, ao contrário dos inseticidas tradicionais, atuam mais como repelentes, deterrentes de alimentação e oviposição, reguladores de crescimento, etc, caracterizando mais um efeito insetistático do que inseticida (DON PEDRO, 1989; OLIVEIRA, VENDRAMIM, 1999; ALMEIDA et al., 2005).

Quanto as concentrações utilizadas, é possível verificar que a redução no nível de infestação não foi dose-dependente, ou seja, a infestação não foi reduzindo a medida em que as concentrações foram aumentando (Tabelas 2, 3 e 4).

A azadiractina, principal composto ativo do nim, que além da ação inseticida pode alterar a biologia e comportamento de insetos e ácaros (MARTINEZ, 2002; VIEGAS JÚNIOR, 2003), é um triterpeno, mais especificamente um limonóide, que causa distúrbios fisiológicos, alterando o desenvolvimento e a funcionalidade de várias espécies de insetos-praga, principalmente devido à ação de repelência alimentar, inibidora do desenvolvimento e crescimento e na reprodução (SCHANUTTERER, 1990, ASHER, 1993, VALLADARES et al., 1997). Informação esta pode ser observada neste estudo, onde houve redução na oviposição a partir

da utilização do produto natural a base do composto. Fato similar foi relatado por Sales e Rech (1999), onde o extrato de nim, nas formulações de torta e líquida, causou a redução na oviposição e no desenvolvimento larval e pupal de *A. fraterculus*, além de mortalidade de larvas, má formação de pupas e de adultos (SALES; RECH, 1999). O potencial de produtos alternativos no controle de *C. capitata* também pode ser verificada por meio de estudos realizados por Habibi et al. (2003), que observaram toxicidade do óleo de nim em *C. capitata*.

Quanto a ação do óleo de erva-doce, esta pode estar relacionada com a maior concentração de terpenos presente no produto em detrimento de outros, ou relacionadas com os diferentes compostos majoritários presentes no óleo. De acordo com Sousa et al. (2005), o composto majoritário encontrado em ambas, folhas e frutos, de erva-doce é o trans-anetol. Esta substância tem sido encontrada em outras espécies de plantas que são capazes de promover a atividade repelente, como em *Ocimum selloi* Benth (Lamiaceae) contra o mosquito *Anopheles braziliensis* (Chagas) (Diptera: Culicidae) (PAULA et al., 2004). Efeito de repelência do óleo de erva-doce, também foi observado por Cosimi et al. (2009) sobre adultos de *Sitophilus zeamais* Mots. (Coleoptera: Curculionidae), *Cryptolestes ferrugineus* Stephens (Coleoptera: Laemophloeidae) e larvas de *Tenebrio molitor* L. (Coleoptera: Tenebrionidae). Segundo Zacarin et al. (2005) terpenos presentes nos óleos essenciais de laranja „Valência“ e „Peras“ e lima ácida „Tahiti“ foram suficientes para promover a repulsividade em *Atta sexdens rubripilosa* Forel (Hymenoptera: Formicidae).

O uso do óleo de citronela como repelente contra insetos é atribuído à presença de substâncias voláteis em suas folhas, como o citronelal, eugenol, geraniol e limoneno, entre outras, denominadas de um modo geral, como monoterpenos (SHASANY et al., 2000). Os principais componentes e variações de participação de cada um são os seguintes: citronelal, de 32 a 45%; geraniol, de 12 a 18%; citronelol, de 11 a 15% e elemol, inferior a 5% (RAHULA 1973). Pesquisas conduzidas com óleo dessa planta têm demonstrado ação inseticida e de repelência contra mosquitos e moscas (RAJA et al., 2001). Além da eficácia comprovada de produtos à base de citronela como repelente, sua utilização também contribui para prevenir doenças transmitidas por insetos (MAFONG; KAPLAN, 1997). Para o

controle de moscas domésticas, tratadas com diferentes concentrações de citronela (0,25; 0,5 e 1,0%) a mortalidade foi de 29,32; 50,68 e 58,68%, respectivamente (CÁRCAMO et al., 2007). De acordo com Ozaki et al. (2003), ação deste composto pode ser explicada pela facilidade com que ele penetra nos tecidos, interferindo nas funções fisiológicas do inseto.

De acordo com a hipótese da preferência de oviposição, a escolha do substrato ou sítio de oviposição é fundamental para a sobrevivência e sucesso dos descendentes da espécie (SINGER, 1986, RENWICK, 1989), onde vários aspectos podem ser avaliados pela fêmea, tais como cor, odor, gosto e presença de outros ovos (SLANSKY, 1982). Possivelmente, essa preferência também pode estar relacionada ao fato de o inseto-praga ter ou não a chance de escolha do sítio de oviposição, como observa-se no presente estudo, onde nos testes com chance de escolha, para as duas variedades estudadas e para os óleos testados, a atratividade das fêmeas pelos frutos tratados se deu até 120 minutos após a liberação dos insetos e, em seguida, registra-se a diminuição nesta atratividade (Figuras 3, 4 e 5). No entanto, observa-se que nos testes sem chance de escolha (Figuras 6, 7 e 8), as fêmeas de *A. fraterculus* apresentaram comportamento de oviposição diferente, variando entre as variedades, os produtos e as concentrações utilizadas. Esse comportamento pode estar relacionado ao fato do confinamento, tendo em vista que, quando as fêmeas não têm possibilidade de escolha do sítio de oviposição elas apresentam oscilações comportamentais, com o intuito de escolher o substrato que proporcione melhores condições para o desenvolvimento dos descendentes.

Desse modo, é possível observar no presente estudo que os odores proporcionados pelos óleos utilizados pode ter influenciado a atratividade, de modo positivo e/ou negativo, das fêmeas no momento de realizar a oviposição. Tais substâncias podem apresentar características estimulantes ou de inibição a deposição dos ovos, como a presença de aleloquímicos que agem como cairomônio (estimulante de oviposição) ou alomônio (deterrente).

Assim, estas substâncias são importantes para utilização em programas de manejo de pragas, pois representam uma alternativa promissora em cultivos orgânicos.

5 Conclusões

O óleo de nim proporciona as menores infestações de larvas por fêmea por fruto em teste sem chance de escolha;

Nas concentrações 0,3 e 3,2% do óleo de nim não houve infestação de larvas de *A. fraterculus* no teste sem chance de escolha;

Os óleos de nim e de erva-doce proporcionam menores infestações de *A. fraterculus* na variedade Paluma, em teste com chance de escolha;

Na variedade Século XXI, os óleos utilizados proporcionam redução na infestação de *A. fraterculus*, em teste com chance de escolha;

6 Referências

- AGROFIT. Brasília, DF: **Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento** (MAPA), [2003]. Disponível em: <http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons>. Acesso em: 10 de setembro de 2013.
- ALMEIDA, F. A. C.; ALMEIDA, S. A.; SANTOS, N. R.; GOMES, J. P.; ARAÚJO, M. E. R. Efeito de extratos alcoólicos de plantas sobre o caruncho do feijão vigna (*Callosobruchus maculatus*). **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 9, n. 4, p. 585-590, 2005.
- ANUÁRIO BRASILEIRO DA FRUTICULTURA, Gazeta Santa Cruz, Santa Cruz do Sul, Rio Grande do Sul, Brasil, 2009.
- ASHER, K. R. S. Nonconventional insecticidal effects of pesticide available from neem tree (*Azadirachta indica*). **Archives of Insect Biochemistry and Physiology**, v. 22, p. 433-449, 1993.
- CÁRCAMO, M. C.; SILVA, Â. Z.; RIBEIRO, P. B.; MENEZES, A. M. D. **Ação do citral e citronelal sobre larvas de *Lucilia sericata* (Meigen, 1926) (Diptera: Calliphoridae), em condições de laboratório**. In: CONGRESSO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFPEL, 2007, Pelotas. Anais eletrônicos. Pelotas: UFPel, 2007. Disponível em: <<http://www.ufpel.edu.br/anais/anais/edu.4>>. Acesso em: 21 nov. 2008.
- CORSATO, C. D. A. **Moscas-das-frutas (Diptera: Tephritidae) em pomares de goiaba no norte de Minas Gerais: biodiversidade, parasitóides e controle biológico**. Tese (Doutorado em Ciências). Piracicaba, São Paulo, 2004.
- COSIMI, S.; ROSSI, E.; CIONI, P. L.; CANALE, A. Bioactivity and qualitative analysis of some essential oils from Mediterranean plants against stored-product pests: Evaluation of repellency against *Sitophilus zeamais* Motschulsky, *Cryptolestes ferrugineus* (Stephens) and *Tenebrio molitor* (L.). **Journal of Stored Products Research**, v. 45, n. 2, p. 125-132, 2009.
- DON PEDRO, K. N. Mode of action of fixed oils against eggs of *Callosobruchus maculatus* (F.) (Coleoptera: Bruchidae). **Pesticide Science**, v. 26, n. 2, p. 107-116, 1989.
- EL-BULUK, R. E.; BABIKER, E. E.; EL TINAY, A. H. Biochemical and physical changes in fruits of four guava cultivars during growth and development. **Food Chemistry**, v. 54, p. 279-282, 1995.
- FACHINELLO J. C.; PASA M. S.; SCHMTIZ J. D.; BETEMPS D. L. Situação e perspectivas da fruticultura de clima temperado no Brasil. **Revista Brasileira de Fruticultura**, volume especial, p. 109-120, 2011.

GARCIA, F. R. M.; NORRBOM, A. L. Tephritoid flies (Diptera, Tephritoidea) and their plant hosts from the state of Santa Catarina in Southern Brazil. **Florida Entomologist**, v. 94, p. 151-157, 2011.

HABIBI, T. C.; NASCIMENTO, A. S.; BRITO, D. B.; LEDO, C. A. S.; VIDAL, C. A. Efeito do óleo de nim, *Azadirachta indica* sobre *Ceratitidis capitata* (DIPTERA:TEPHRITIDAE) em mamão (*Carica papaya* L.). **Papaya Brasil**, p. 1-4, 2003.

HERNANDEZ, C. R.; VENDRAMIM, J. D. Uso de índices nutricionales para el efecto insectistatico de extratos de Meliáceas sobre *Spodoptera frugiperda*. **Manejo Integrado de Plagas**, n. 48, p. 79-88, 1998.

ISMAN, M. B. Botanical insecticides, deterrents, and repellents in modern agriculture and an increasingly regulated world. **Annual Review of Entomology**, v. 51, p. 45-66, 2006.

LANCHER, W. **Ecofisiologia vegetal**. São Carlos: Rima, p. 519. 2000.

MAFONG, E. A; KAPLAN, L. A. Insect repellents. **Postgrad Medicine**, v. 102, n. 2, p. 68-69, 1997.

MALAVASI, A.; ZUCCHI, R. A ; SUGAYAMA, R. L. Biogeografia. In: MALAVASI, A.; ZUCCHI, R. A. **Moscas-das-frutas de importância econômica no Brasil**: conceito básico e aplicado. Ribeirão Preto: Holos, 2000. 327p.

MARTINEZ, S.S. (Ed.). **O Nim**. *Azadirachta indica*: natureza, usos múltiplos, produção. Londrina: IAPAR, 2002. 142p.

MEDEIROS, A. R. M. Alelopatia: importância e suas aplicações. **Hortisul**, v. 1, n. 3, p. 27-32, 1990.

MEDEIROS, C. A. M.; BOIÇA JUNIOR, A. L.; TORRES, A. L. Efeito de extratos aquosos de plantas na oviposição da traça-das-crucíferas, em couve. **Bragantia**, v. 64, n. 2, p. 227-232, 2005.

MONTES, S. M. N. M; RAGA, A. Eficácia de atrativos para monitoramento de *Ceratitidis capitata* (Diptera: Tephritidae) em pomar de citros. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 73, n. 3, p. 317-323, 2006.

NUNES, A. M.; MÜLLER, F. A.; GONÇALVES, R. da S.; GARCIA, M. S.; COSTA, V. A.; NAVA, D. E. Moscas frugívoras e seus parasitoides nos municípios de Pelotas e Capão do Leão, Rio Grande do Sul, Brasil. **Ciência Rural**, v. 42, p. 6-12, 2012.

OLIVEIRA, J. V.; VENDRAMIM, J. D. Repelência de óleos essenciais e pós vegetais sobre adultos de *Zabrotes subfasciatus* (Boh.) (Coleoptera: Bruchidae) em sementes de feijoeiro. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v. 28, n. 3, p. 549-555, 1999.

OLIVEIRA F. Q., MALAQUIAS J. B., FIGUEIREDO W. R. S., BATISTA J. L., BESERRA E. B., Inhibition of fruit infestation by Mediterranean fruit fly using natural products. **African Journal of Biotechnology**, v. 11, p. 13922–13927, 2012.

OZAKI, M.; TAKAHARA, T.; KAWAHARA, Y.; WADA-KATSUMATA, A.; SENO, K.; AMAKAWA, T.; YAMAOKA, R.; NAKAMURA, T. Perception of noxious compounds by contact chemoreceptors of the blowfly, *Phormia regina*: putative role of an odorant binding protein. **Chemical Senses**, v. 28, n. 4, p. 349-359, 2003.

PAULA, J. P.; FARAGO, P. V.; CHECCHIA, L. E. M.; HIROSE, K. M.; RIBAS, J. L. C. Atividade repelente do óleo essencial de *Ocimum selloi* Benth. (variedade eugenol) contra o *Anopheles braziliensis* Chagas, **Acta Farmacêutica Bonaerense**, v. 23, n. 3, p. 376-378, 2004.

RAHULA, O. B.; WIJESEKERA, A. L. Varietal compositions in the constituents of citronella oil, **Phytochemistry**, v. 12, n. 11, p. 2697-2704, 1973.

RAJA, N.; ALBERT, S.; IGNACIMUTHU, S.; DORN, S. Effect of volatile oils in protecting stored *Vigna unguiculata* (L.) Walpers against *Callosobruchus maculatus* (F.) (Coleóptera: Bruchidae) infestation, **Journal of Stored Products Research**, v. 37, n. 2, p. 127-132, 2001.

RENWICK, J. A. A. Chemical ecology of oviposition in phytophagous insects. **Experientia**, v. 45, p: 223-228, 1989.

SALLES, L. A. B. Metodologia de criação de *Anastrepha fraterculus* (Wied., 1830) (Diptera: Tephritidae) em dieta artificial em laboratório. **Anais da Sociedade Entomológica Brasileira**, v. 21, p. 479-486, 1992.

SALLES, L. A. **Bioecologia e controle da mosca das frutas sul-americana**. Pelotas: Embrapa/CPACT, 1995. 58p.

SALLES, L. A.; RECH, N. L. Efeito de extratos de nim (*Azadiractha indica*) e cinamomo (*Melia azedarach*) sobre *Anastrepha fraterculus* (Wied.) (Diptera: Tephritidae). **Revista Brasileira de Agrociência**, v. 5, n.3, p. 225-227, 1999.

SAS INSTITUTE, **SAS/Stat Users Guide**. Cary, NC, 2006.

SCHANUTTERER, H. Properties and potential of natural pesticides from the neem tree. **Annual Review of Entomology**, v. 35, p. 271-297, 1990.

SHASANY, A. K.; LAU, L. K.; PATRA, N. K.; DAROKAR, M. P.; GARG, A.; KUMAR, S.; KHANUJA, S. P. S. Phenotypic and RAPD diversity among *Cymbopogon winterianus* Jowitt accessions in relation to *Cymbopogon nardus* Rendle, **Genetic Resources and Crop Evolution**, v. 47, n. 5, p. 553-559, 2000.

SINGER, M. C. The definition and measurement of oviposition preference in plant-feeding insects. In: Miller, J. R., Miller, T. A. (eds.). **Insect-plant interactions**. New York: Springer-Verlag, p. 65-94. 1986.

SLANSKY, F., JR. Insect nutrition: an adaptationist's perspective. **Florida Entomologist**, v. 65, n. 1, p. 45-71, 1982.

SMITH, C.M. **Plant resistance to arthropods**. Dordrecht: Springer, 2005. 423p.

SOUSA, L. A.; ALBUQUERQUE, J. C. R.; LEITE, M. N.; STEFANINI, M. B. Sazonalidade dos ductos secretores e óleo essencial de *Foeniculum vulgare* var. *vulgare* Mill. (Apiaceae). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 15, n. 2, p. 155-161, 2005.

TORRES, A.; BOIÇA JÚNIOR, A. L.; MEDEIROS, C. A. M.; BARROS, R. Efeito de extratos aquosos de *Azadirachta indica*, *Melia azedarach* e *Aspidosperma pyrifolium* no desenvolvimento e oviposição de *Plutella xylostella*. **Bragantia**, v. 65, n. 3, p. 447-457, 2006.

VALLADARES, G.; DEFAGO, M. T.; PALACIOS, S.; CARPINELLA, M. C. Laboratory evaluation of *Melia azedarach* (Meliaceae) extracts against the Elm Leaf Beetle (Coleoptera: Chrysomelidae). **Journal of Economic Entomology**, v. 90, n. 3, p. 747-750, 1997.

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

VENDRAMIM, J. D.; GUZZO, E. C. Resistência de plantas e a bioecologia e nutrição dos insetos. In: PANIZZI, A. R.; PARRA, J. R. P. (Ed.). **Bioecologia e nutrição dos insetos: base para o manejo integrado de pragas**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica; Londrina: Embrapa Soja, 2009. p.1055-1105.

VIEGAS JÚNIOR, C. Terpenos com atividade inseticida: uma alternativa no controle de insetos. **Química Nova**, v. 26, n. 3, p. 390-400, 2003.

ZACARIN, G. G.; CASSARO-SILVA, M.; VIEIRA, P. C.; CORREA, A. G.; BUENO, O. C.; FERNANDES, J. B. **Análise química dos óleos essenciais das folhas de variedades de citros e avaliação da atratividade de *Atta sexdens rubropilosa* (Hymenoptera: Formicidae) frente a estes óleos**. In: Encontro Brasileiro de Ecologia Química. Degaspari, Piracicaba, São Paulo, Brasil. p. 115. 2005.

ZUCCHI, R. A. **Fruit flies in Brazil: Anastrepha species, their host plants and parasitoids**. 2008. Available at: <<http://www.lea.esalq.usp.br/anastrepha/>>. Accessed on: 17 jun. 2012.

CAPÍTULO 6 - Associação de variedades de goiaba e produtos naturais no parasitismo de *Diachasmimorpha longicaudata* (Ashmead) (Hymenoptera: Braconidae)

Resumo

Estudos demonstrando a compatibilidade de variedades de frutos e de produtos naturais no desempenho de parasitóides são considerados incipientes. Assim, esta pesquisa teve como objetivo avaliar os efeitos de variedades de goiaba e de substâncias de origem vegetal sobre o parasitismo e parâmetros biológicos do parasitóide *Diachasmimorpha longicaudata*. Realizou-se dois ensaios: 1 - Antibiose em *D. longicaudata* por larvas de *Anastrepha fraterculus* criadas em variedades de goiaba; e, 2 - Associação do nim e de diferentes variedades de goiaba na atratividade e parasitismo de *D. longicaudata*. No primeiro ensaio utilizaram-se as variedades Paluma, Cascão, Século XXI e Pedro Sato. Vinte larvas recém eclodidas foram introduzidas em cada fruto. Os frutos foram acondicionados por 10 dias, em seguida, quando as larvas estavam no final do 3º instar, os frutos foram expostos ao parasitismo. Em seguida, os frutos foram colocados em recipientes plásticos por 15 dias, onde verificou-se a presença ou não de pupas. No segundo ensaio utilizaram-se frutos das variedades Século XXI e Paluma. O produto natural utilizado foi o óleo de nim nas concentrações: 0,0 (testemunha); 3600; 5600; 10000 e 36000 ppm. Vinte larvas recém eclodidas foram introduzidas em cada fruto. Os frutos foram acondicionados por 10 dias, em seguida, quando as larvas estavam no final do 3º instar, os frutos foram tratados com o produto e expostos ao parasitismo de *D. longicaudata*. Foram realizados testes com e sem chance de escolha. As larvas de *A. fraterculus* oriundas das variedades de goiaba não interferem nos parâmetros biológicos do parasitóide *D. longicaudata*. As variedades Paluma e Século XXI não afeta a taxa de parasitismo do parasitóide. O óleo de nim não afeta a taxa de parasitismo de *D. longicaudata*. O produto natural óleo de nim apresenta potencial para ser utilizado em programas de manejo de pragas, demonstrando ser importante em sistemas de cultivos alternativo.

Palavras-chave: *Psidium guajava*; repelência; antibiose; nim; controle biológico.

CHAPTER 6 – Association of guava cultivars and natural products on the parasitism of *Diachasmimorpha longicaudata* (Ashmead) (Hymenoptera: Braconidae)

Abstract

Studies demonstrating the compatibility among guava varieties and natural products on the performance of parasitoids are considered incipient. Thus, this research aimed to evaluate the effects of guava's varieties and substances from metabolism plant on parasitism and biological parameters of the parasitoid *Diachasmimorpha longicaudata* (Ashmead) (Hymenoptera: Braconidae). We've conducted two experiments: 1 - Antibiosis of *D. longicaudata* by larvae of *Anastrepha fraterculus* (Wied., 1830) (Diptera: Tephritidae) created in varieties of guava, and 2 - Association of neem and different cultivars of guava in the attraction and parasitism of *D. longicaudata*. In the first experiment we have been used the Paluma, Cascão, Século XXI and Pedro Sato varieties. Twenty newly hatched larvae were introduced in each fruit, that fruits were stored for 10 days then when the larvae were at the end of the 3rd instar, the fruits were exposed to parasitism. The fruits were placed in plastic containers for 15 days, where the presence or absence of pupae was verified. In the second experiment we used fruit varieties Século XXI and Paluma. The natural product used was neem oil at concentrations of 0.0 (control), 3600, 5600, 10000 and 36000 ppm. Twenty newly hatched larvae were introduced in each fruit. Fruits were stored for 10 days, then when the larvae were at the end of the 3rd instar, the fruits were treated with the product and exposed to parasitism of *D. longicaudata*. Tests with multiple and non-choice has been made. The larvae of *A. fraterculus* from varieties of guava did not interfere with the biological parameters of the parasitoid *D. longicaudata*. The Paluma and Século XXI varieties do not affect the parasitism rate. The neem oil does not affect the parasitism rate of *D. longicaudata*. Therefore the natural product neem oil has potential for use in pest management programs, proving to be important in alternative cropping systems.

Keywords: *Psidium guajava*; repellency; antibiosis; neem; biological control.

1 Introdução

A mosca-das-frutas sul-americana, *Anastrepha fraterculus* (Wied., 1830) (Diptera: Tephritidae), é considerada uma das principais pragas da goiabeira (MALAVASI; MORGANTE, 1981). Também tem sido observada relação direta entre a infestação da moscas-das-frutas sul-americana e a incidência de podridões de frutos em alguns cultivos (SANTOS et al., 2008). A comercialização dos frutos no mercado externo é drasticamente limitada pela ocorrência de moscas-das-frutas, fconsequentemente os países importadores impoem severas barreiras fitossanitárias dificultando ou impedindo as exportações.

A utilização indiscriminada de agrotóxicos no controle de moscas-das-frutas ocasiona grave desequilíbrio ecológico, desencadeia o surgimento de populações de outras pragas ao eliminar os inimigos naturais além de acarretar a contaminação humana e do meio ambiente (MENDES et al., 2007).

A possibilidade de cultivo sem agrotóxicos, associada às exigências por parte dos consumidores por produtos ausentes de resíduos químicos, tem aumentado o interesse de diversos produtores pela produção orgânica e de pesquisadores por métodos de controle alternativos. A atividade inseticida de óleos essenciais pode ocorrer de diversas formas, causando mortalidade, deformações em diferentes estágios de desenvolvimento como também repelência e deterrência, sendo a atividade repelente o modo de ação mais comum dos óleos essenciais e de seus componentes majoritários (ISMAN, 2006).

Segundo Medeiros et al. (2005) e Torres et al. (2006) produtos naturais extraídos de plantas constituem-se em fonte de substâncias bioativas compatíveis com programas de manejo integrado de pragas (MIP). Apesar de resultados positivos no controle das moscas-das-frutas com óleos essenciais, permanece a discussão sobre a possibilidade dos impactos destes produtos sobre outros insetos não-alvo, como os inimigos naturais (MORAIS, 2009).

O controle biológico também pode ser inserido nos sistemas de produção alternativos, pois se constitui no principal mecanismo de redução natural das populações de moscas-das- frutas, agindo nas fases larval e pupal (SOUZA FILHO et al., 2000). Assim, o parasitóide exótico *Diachasmimorpha longicaudata* (Ashmead) (Hymenoptera: Braconidae) vem sendo utilizado como uma alternativa eficiente de

controle biológico em várias áreas produtoras de frutas do mundo (MONTROYA et al., 2000).

Os parasitóides são capazes de identificar diversas substâncias químicas potencialmente importantes para possibilitá-los encontrar várias espécies de hospedeiros numa mesma localidade, assim como capacidade de determinar sua significância no contexto do ambiente, que podem ser adequadas ou não ao parasitismo. Desse modo, a sobrevivência da progênie está diretamente relacionada com esta capacidade de escolher corretamente o hospedeiro durante este forrageamento (TUMLINSON et al., 1993). As duas entradas sensoriais importantes que controlam esse comportamento são os estímulos olfativos e visuais, que são percebidos pelos receptores periféricos que estão localizados nas antenas e nos olhos compostos, sendo o comportamento resultante expresso através do vôo, da sondagem do hospedeiro e por fim, pela oviposição (LEWIS; MARTIM, 1990).

Substâncias químicas voláteis liberadas diretamente pelas plantas ou pelas estruturas atacadas como resultado direto ou indireto da atividade de alimentação do hospedeiro, são importantes no processo de busca e localização deste hospedeiro (TURLINGS et al., 1993; PARÉ; TUMLINSON, 1999). Os cairomônios, substâncias voláteis atrativas, atraem frequentemente o parasitóide ao hábitat do hospedeiro, enquanto que uma substância menos volátil pode ser fundamental na localização a curta distância (VINSON, 1976; GREANY et al., 1984).

O odor de frutos infestados com larvas é importante na localização do hospedeiro, sendo que frutos de goiaba apresentam forte atratividade para as fêmeas de *D. longicaudata* (MESSING; JANG, 1992). Além disso, *D. longicaudata* teve melhor adaptação em pomares comerciais de goiaba em relação aos habitats naturais (VARGAS et al., 1993, ALVARENGA et al., 2005). Constata-se, portanto, pelas pesquisas realizadas em diversos locais do mundo que *D. longicaudata* é um agente promissor no controle biológico de moscas-das-frutas em goiaba.

Diante o exposto, esta pesquisa teve como objetivo avaliar os efeitos de variedades de goiaba e de substâncias de origem vegetal sobre o parasitismo e parâmetros biológicos do parasitóide *D. longicaudata*.

2 Material e Métodos

2.1 Efeitos de larvas de *Anastrepha fraterculus* criadas em variedades de goiaba no desenvolvimento de *Diachasmimorpha longicaudata*

A pesquisa foi desenvolvida no Laboratório de Resistência de Plantas a Insetos do Departamento de Fitossanidade da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias (FCAV) - UNESP – Câmpus de Jaboticabal. Os ensaios foram conduzidos sob temperatura média de $25 \pm 1^\circ\text{C}$, umidade relativa de $60 \pm 10\%$ e fotoperíodo de 12h.

Os frutos de goiaba selecionados para a realização dos bioensaios foram das variedades Pedro Sato, Paluma, Cascão e Século XXI, os quais foram oriundos da Empresa VAL Frutas, localizado no município de Vista Alegre do Alto, distante 35 Km do município de Jaboticabal – SP. A escolha destas variedades foi devido serem algumas das mais cultivadas no país (ANUÁRIO BRASILEIRO DA FRUTICULTURA, 2009; EL-BULUK et al, 1995;). Os espécimes de *A. fraterculus* e do parasitoide *D. longicaudata* utilizados foram oriundos de criação massal em dieta artificial mantidas no Laboratório de Radioentomologia do Centro de Energia Nuclear da Agricultura – CENA/USP, localizado em Piracicaba – SP. Os parasitoides, após a emergência eram mantidos em gaiolas e alimentados com uma dieta artificial composta por mel de abelhas.

Neste ensaio, utilizou-se frutos de goiaba de quatro variedades: Cascão, Século XXI, Paluma e Pedro Sato. Os frutos, em estágio de maturação “de vez”, das duas variedades de goiaba foram higienizadas com hipoclorito de sódio (1%), enxaguados e secos em temperatura ambiente sob papel toalha. Posteriormente os frutos foram cortados ao meio, retiraram-se as sementes e parte da polpa interna dos frutos, com o intuito de oferecer uma maior movimentação das larvas em seu interior. Em seguida, com auxílio de um pincel, 20 larvas recém eclodidas de *A. fraterculus* foram introduzidas em cada fruto. Posteriormente as duas partes dos frutos foram unidas e vedadas com filme de PVC transparente, obstruindo a saída das larvas.

Os frutos foram acondicionados em recipiente de plástico com capacidade para 500 ml por um período de 10 dias, com o intuito de esperar o desenvolvimento das larvas. Após esse período, quando as larvas estavam no final do 3º instar, os frutos

foram expostos, por um período de 24 horas, ao parasitismo de *D. longicaudata* com 10 a 13 dias de idade, período em que encontram-se mais ativos para o parasitismo (CARVALHO; NASCIMENTO, 2002).

Posteriormente, os frutos foram colocados em recipientes plásticos de 500 ml de capacidade contendo uma camada de vermiculita, para proporcionar o pupamento das larvas, com 3 cm de espessura. Os frutos infestados permaneceram nestes recipientes por 15 dias. Após este período, verificou-se a presença ou não de pupas do inseto-praga nos recipientes. As avaliações foram realizadas diariamente por um período de 15 dias. As pupas identificadas nos recipientes eram retiradas e acondicionadas em recipientes de vidro, devidamente identificados. Completadas 24 horas, todas as pupas eram pesadas em balança de precisão e novamente acondicionadas nos recipientes, onde permaneciam até a emergência dos adultos.

Foram avaliadas as seguintes variáveis: a) Fase ovo + larva; b) Fase pupa; c) Fase jovem; d) Peso de pupas; e) Longevidade de adultos e f) Parasitismo.

2.2 Associação do nim e de diferentes variedades de goiaba na atratividade e parasitismo de *Diachasmimorpha longicaudata*

Para avaliar o efeito do bioinseticida aplicado em frutos de goiaba na repelência e/ou atratividade de *D. longicaudata*, realizaram-se testes preliminares para selecionar duas variedades: uma suscetível – Século XXI, e uma resistente – Paluma. O bioinseticida utilizado para avaliação foi o óleo de nim, e teste padrão com água nas seguintes concentrações: 0,0; 3600; 5600; 10000 e 36000 ppm, com fins de determinar a melhor concentração.

O produto comercial de óleo de nim utilizado foi o AZAMAX®, um concentrado emulsionável à base de azadiractina, do grupo dos tetranortriterpenóides, com 1,2% de azadiractina (12 g/L). Esse produto foi introduzido no mercado brasileiro em 2009, sendo o único registrado no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) para o controle de pragas na agricultura e certificado pelo Instituto Biodinâmico (IBD) para emprego em sistemas de produção orgânica (AGROFIT, 2003).

Os frutos, em estágio de maturação “de vez”, das duas variedades de goiaba foram higienizadas com hipoclorito de sódio (1%), enxaguados e secos em temperatura ambiente sob papel toalha. Posteriormente os frutos foram cortados ao

meio, retirou-se as sementes e parte da polpa interna dos frutos com o intuito de oferecer uma maior movimentação das larvas em seu interior. Em seguida, com auxílio de um pincel, 20 larvas recém eclodidas de *A. fraterculus* foram introduzidas em cada fruto. Posteriormente as duas partes dos frutos foram unidas e vedadas com filme de PVC transparente, obstruindo a saída das larvas.

Os frutos foram acondicionados em recipiente plástico por um período de 10 dias, com o intuito de esperar o desenvolvimento das larvas. Após esse período, quando as larvas estavam no final do 3º instar, os frutos foram tratados com o produto e expostos ao parasitismo de *D. longicaudata* com 10 a 13 dias de idade, período em que encontram-se mais ativos para o parasitismo (CARVALHO; NASCIMENTO, 2002). Foram realizados testes com e sem chance de escolha.

a) Teste com chance de escolha: Neste teste, as fêmeas dos parasitóides tiveram livre chance de escolha na busca das larvas hospedeiras, que estavam no interior dos frutos tratados com o óleo de nim. Neste teste a repelência para oviposição foi avaliada de acordo com o produto utilizado, óleo de nim, em delineamento experimental em blocos ao acaso com 10 repetições. Os frutos tratados foram acondicionados em gaiolas de plástico com capacidade para 500 ml. Em seguida, foram liberados 5 casais de *D. longicaudata*. As avaliações de atratividade dos insetos pelos frutos foram realizadas por um período de 24 horas, nos seguintes tempos: 1", 3", 5", 10", 20", 30", 1h, 2h, 6h, 12h e 24h. Decorridas 24h do início do parasitismo, os frutos foram retirados das gaiolas, individualizados em copos plásticos de 500 ml, contendo vermiculita e fechados com tampas plásticas perfuradas. Após 10 dias o substrato foi peneirado, com o objetivo de retirar as pupas. Esse procedimento se estendeu por um período de sete dias, conforme procedimento adotado por Oliveira et al. (2012).

As pupas foram devidamente individualizadas e identificadas em recipientes de vidro, e diariamente foi avaliada a emergência dos adultos de moscas e/ou parasitóides presentes em cada recipiente, por um período de 15 dias.

b) Teste sem chance de escolha: Neste teste a repelência para oviposição foi avaliada de acordo com o produto utilizado, óleo de nim, em delineamento inteiramente casualizado. Em cada gaiola (recipiente de plástico) com capacidade

para 1000 ml, foi colocado um fruto tratado com cada uma das concentrações citadas anteriormente, utilizando-se 10 repetições. Posteriormente foi liberado 1 casal de *D. longicaudata* por gaiola em período fértil. As avaliações foram realizadas conforme item anterior.

2.3 Análise dos dados

Um modelo foi usado para testar a significância dos efeitos dos blocos e dividir os tratamentos em dois efeitos principais (variedades de goiaba e concentrações dos bioinseticidas), e a interação (variedades de goiaba *versus* concentrações dos bioinseticidas), para o experimento II. As análises foram conduzidas aplicando-se o procedimento GLM (SAS Institute, 2006). Para o experimento II, os dados de infestação de *A. fraterculus* em função das variedades, produtos e concentrações foram submetidos à Análise de Covariância (ANCOVA) através do procedimento GLM (SAS Institute, 2006), sendo as variedades e produtos considerados como variáveis independentes e concentração como covariável.

Os dados de presença dos indivíduos (fêmeas) em cada tratamento, em ambos experimentos, foram submetidos a regressão logística, ajustando os dados a distribuição binomial, através do procedimento LOGISTIC (SAS Institute, 2006). Os dados de infestação em função da concentração dos produtos foram submetidos à análise de regressão polinomial, através do PROC REG (SAS Institute, 2006). Médias da infestação, peso, desenvolvimento e média, foram comparadas pelo teste Tukey ($P < 0.05$), sendo que a comparação da infestação entre as variedades de goiaba em função da variedade/produto (óleo) foi realizada através do teste t. Foram testadas a normalidade (Shapiro-Wilk e Kolmogorov D) e a homogeneidade das variâncias (Bartlett's test).

As porcentagens de parasitismo foram calculadas pelas fórmulas: $\%M = [M/(M+P)] \times 100$ e $\%P = [P/(M+P)] \times 100$, para moscas e parasitóides, respectivamente, onde M é número de moscas e P é número de parasitóides, conforme adotado por Paranhos et al., (2007). O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado (DIC).

3 Resultados

3.1 Efeitos de larvas de *Anastrepha fraterculus* criadas em variedades de goiaba no desenvolvimento de *Diachasmimorpha longicaudata*

Constatou-se que houve diferença na duração da fase de ovo + larva do parasitóide quando as larvas hospedeiras de *A. fraterculus* foram oriundas de diferentes variedades de goiaba. Comparando-se as médias, verificou-se que a referida fase foi prolongada quando as larvas foram oriundas de frutos da variedade Século XXI e reduzida quando os hospedeiros desenvolveram-se em goiaba Cascão (Tabela 1). Observou-se ainda, que a fase de pupa do parasitóide *D. longicaudata* foi prolongada quando as larvas foram oriundas de goiaba da variedade Cascão, e foi reduzida quando oriundas da variedade Século XXI (Tabela 1).

Quanto as demais variáveis avaliadas, fase jovem dos parasitóides, peso de pupas, longevidade de adultos e porcentagem de parasitismo, constatou-se que não houve diferença significativa quando da origem dos hospedeiros (Tabela 1).

Tabela 1 Médias (\pm EP) da duração (dias) da fase de ovo + larva, fase de pupa e fase larval; peso de pupas (mg), longevidade de adultos (dias) e porcentagem de parasitismo de *Diachasmimorpha longicaudata*, tendo como hospedeiro larvas de *Anastrepha fraterculus* criadas em variedades de goiaba

Variedade	Duração (dias)			Peso de pupas (mg)	Longevidade (dias)	Parasitismo (%)
	Fase Ovo + Larva	Fase Pupal	Fase Jovem			
Pedro Sato	17,00 \pm 0,85ab	16,64 \pm 0,26ab	37,59 \pm 2,40a	10,13 \pm 1,02a	5,34 \pm 0,30a	74,20 \pm 8,76a
Século XXI	18,34 \pm 0,17a	15,82 \pm 0,14b	37,94 \pm 2,85a	11,82 \pm 0,89a	4,55 \pm 0,26a	83,48 \pm 3,52a
Cascão	15,24 \pm 0,52b	17,39 \pm 0,35a	36,02 \pm 2,64a	7,47 \pm 0,50a	4,92 \pm 0,16a	74,08 \pm 3,01a
Paluma	16,10 \pm 0,55ab	16,26 \pm 0,36ab	35,94 \pm 2,73a	12,68 \pm 1,21a	4,69 \pm 0,22a	84,94 \pm 5,39a
<i>F</i>	3,37	3,27	2,51	3,04	1,22	0,72
<i>Pr>F</i>	0,0448	0,0486	0,0954	0,0594	0,3344	0,5555

Médias seguidas pela mesma letra (dentro das colunas) não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P = 0,05$).

Não houve diferença significativa na razão sexual entre os tratamentos, ou seja, as variedades de goiaba Cascão, Paluma, Pedro Sato e Século XXI. Observando-se as médias, foi possível verificar maior porcentagem de emergência de fêmeas nos quatro tratamentos avaliados (Figura 1).

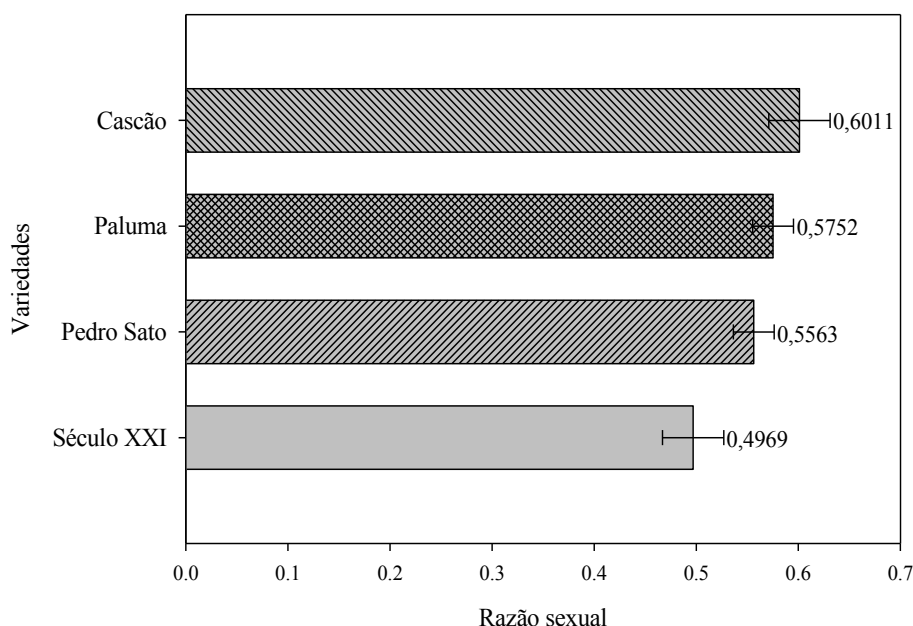


Figura 1 Razão sexual de *Diachasmimorpha longicaudata* tendo como hospedeiro larvas de *Anastrepha fraterculus* criadas em diferentes variedades de goiaba. Dados não diferem entre si pelo teste de Kruskal-Wallis ($\alpha= 0,05$). $\chi^2= 2,9568$. gl= 3; $Pr > \chi^2=0,3983$.

3.2 Associação do nim e de diferentes variedades de goiaba na atratividade e parasitismo de *Diachasmimorpha longicaudata*

Teste com chance de escolha

Observa-se, na Figura 2, que o valor do coeficiente da regressão para a variedade Paluma foi negativo ($-1,0000e^{-4}$) para a testemunha. Para a variedade Século XXI, verifica-se que o coeficiente da regressão também foi negativo para a testemunha ($-8,0000e^{-4}$) e para a concentração de 3600 ppm ($-2,0000 e^{-4}$), e positivos para as concentrações de 5600, 10000 e 36000 ppm, com os respectivos valores: $6,0000 e^{-4}$, $2,0000 e^{-4}$ e $0,0373$ (Figura 3).

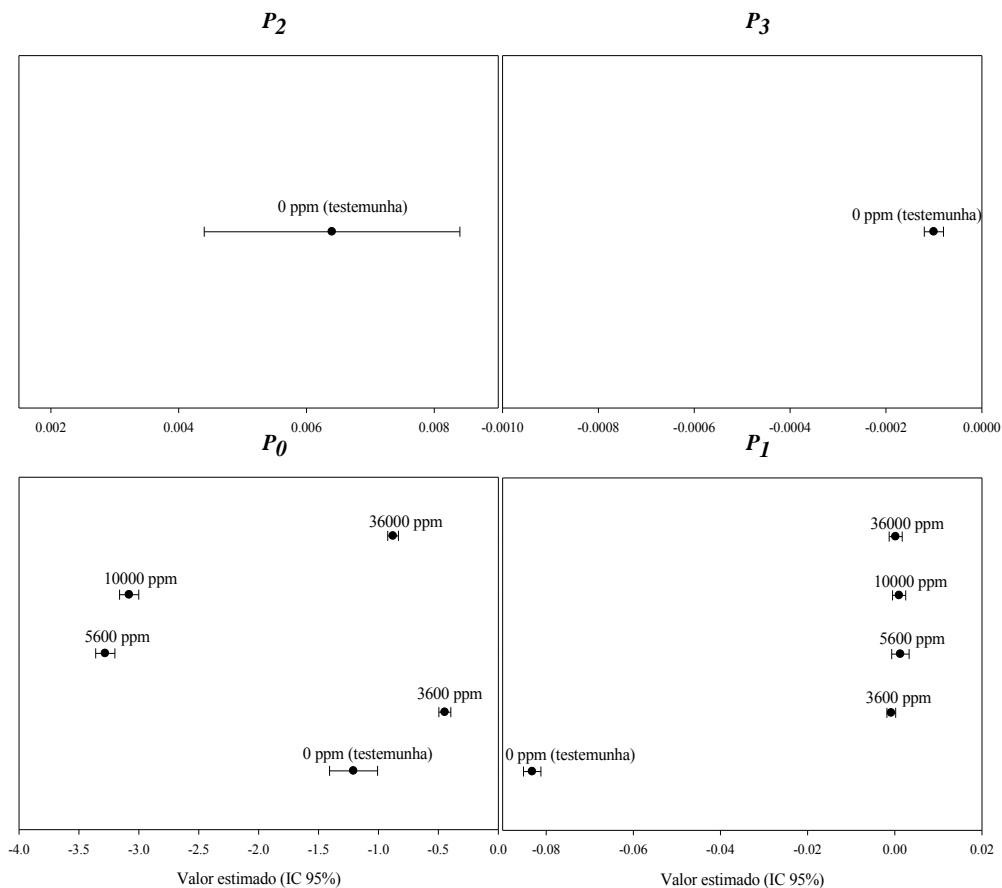


Figura 2 Valores e intervalos de confiança (IC 95%) dos parâmetros: P_0 , P_1 , P_2 e P_3 da regressão logística da proporção de fêmeas de *Diachasmimorpha longicaudata* em frutos de goiaba da variedade Paluma em resposta ao tempo após a liberação, em teste com chance de escolha.

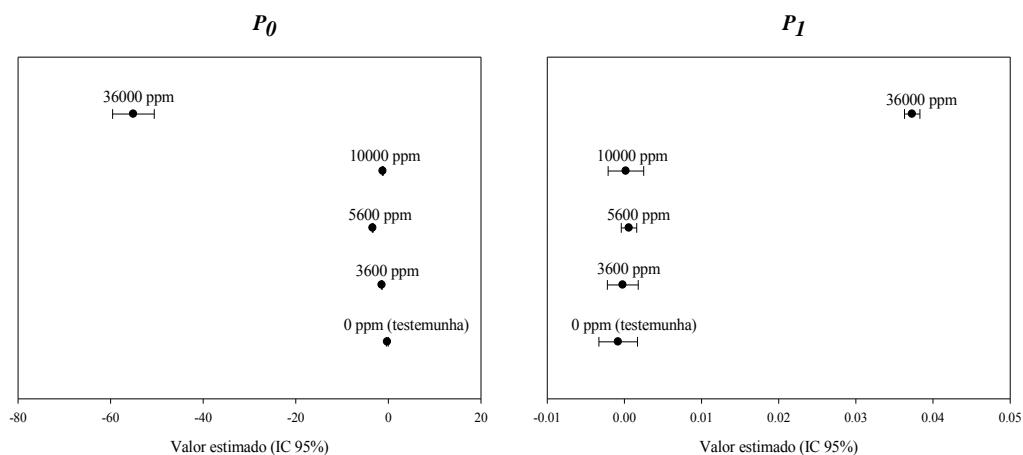


Figura 3 Valores e intervalos de confiança (IC 95%) dos parâmetros: P_0 e P_1 da regressão logística da proporção de fêmeas de *Diachasmimorpha longicaudata* em frutos de goiaba da variedade Século XXI em resposta ao tempo após a liberação, em teste com chance de escolha.

Na condição com chance de escolha, os coeficientes lineares da regressão logística para a variedade Paluma foram positivos para as concentrações 5600, 10000 e 36000 ppm e negativos para as concentrações 0,0 (testemunha) e 3600 ppm. Estes dados podem ser visualizados na Figura 4, onde é possível verificar que a proporção de indivíduos, por fruto, aumentou (5600, 10000 e 36000 ppm) e/ou diminuiu (testemunha e 3600 ppm) após 120 minutos da liberação de *D. longicaudata*.

Na variedade Século XXI, o coeficiente linear da regressão logística foi positiva para as concentrações 5600, 10000 e 36000 ppm e negativos para as concentrações 0,0 (testemunha) e 3600 ppm. Observa-se ainda na Figura 4, que a proporção de indivíduos, por fruto, aumentou (5600, 10000 e 36000 ppm) e/ou diminuiu (testemunha e 3600 ppm) a partir do tempo 120 minutos.

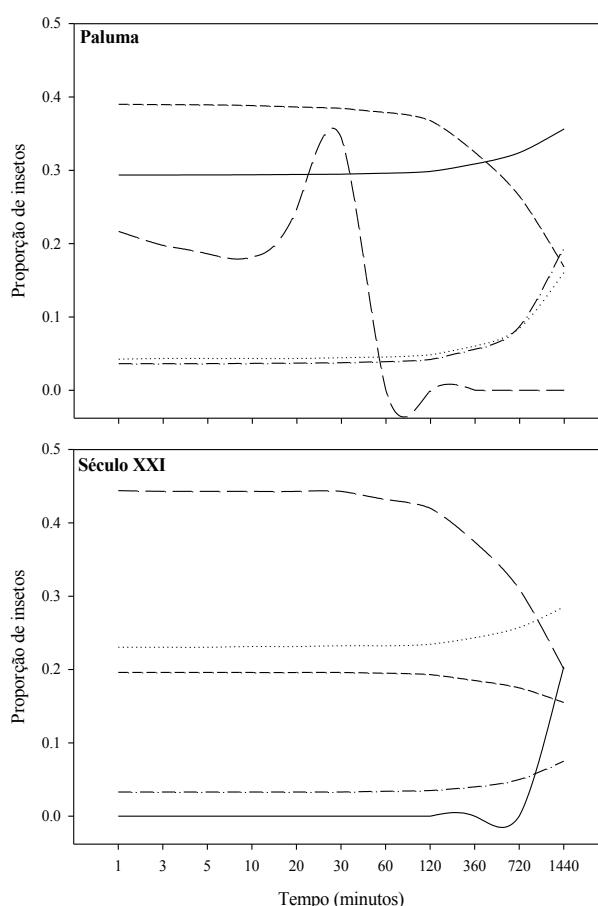


Figura 4 Proporção de indivíduos de *Diachasmimorpha longicaudata* por fruto de goiaba tratados com nim, em teste com chance de escolha: 0 ppm (— — —); 3600 ppm (-----); 5600 ppm (- · - · - · -); 10000 ppm (··········) e 36000 ppm (—————).

No teste com chance de escolha, o percentual de parasitismo não diferiu estatisticamente entre as concentrações testadas, em ambas as variedades estudadas. O mesmo resultado foi observado quando se compara o percentual de parasitismo entre as variedades, exceto no tratamento testemunha, onde verificou-se que na variedade Século XXI a taxa de parasitismo foi superior (Tabela 2).

Com relação a mortalidade de larvas, foi verificado que não houve diferença significativa entre as concentrações testadas, tanto para a variedade Paluma quanto para a Século XXI. Da mesma maneira quando comparamos a mortalidade entre as variedades, exceto para o tratamento testemunha, onde se constatou superior mortalidade de larvas na variedade Paluma (Tabela 2).

Quando avaliado, em conjunto, o parasitismo e a mortalidade de larvas, verificou-se que não houve diferença estatística entre as concentrações e nem entre as variedades estudadas (Tabela 2).

Tabela 2 Médias (\pm EP) da porcentagem de parasitismo de *Diachasmimorpha longicaudata*, da mortalidade de larvas e de parasitismo + mortalidade de larvas mediante diferentes concentrações do óleo de nim em duas cultivares de goiaba, em teste com chance de escolha.

Concentração (ppm)	Parasitismo - P (%)				Larvas mortas - Lm (%)				P + Lm (%)			
	Século XXI	Paluma	F	Pr > F	Século XXI	Paluma	F	Pr > F	Século XXI	Paluma	F	Pr > F
0	59,37 \pm 0,94A	30,52 \pm 0,79B	4,73	0,0432	16,52 \pm 2,49B	19,54 \pm 3,64A	6,01	0,0246	75,88 \pm 6,12A	50,02 \pm 3,02A	3,47	0,0790
3600	56,70 \pm 0,63A	47,81 \pm 0,47A	0,41	0,5311	21,50 \pm 2,21A	24,00 \pm 3,29A	0,01	0,9473	78,20 \pm 2,21A	71,81 \pm 4,73A	0,26	0,6160
5600	48,95 \pm 0,91A	48,28 \pm 0,78A	0,01	0,9419	18,50 \pm 2,78A	29,50 \pm 4,59A	1,48	0,2392	67,45 \pm 5,12A	77,78 \pm 3,35A	1,47	0,2415
10000	67,47 \pm 0,75A	43,28 \pm 1,29A	2,72	0,1166	10,00 \pm 2,21A	23,50 \pm 4,17A	4,33	0,0520	70,73 \pm 6,50A	62,45 \pm 7,26A	0,51	0,4815
36000	42,96 \pm 0,92A	24,16 \pm 1,04A	3,63	0,0729	24,00 \pm 3,86A	29,50 \pm 5,50A	0,40	0,5369	66,96 \pm 2,88A	53,06 \pm 5,35A	1,93	0,1814
F	0,5000	1,2600	-	-	2,7800	0,3700	-	-	0,5000	1,8500	-	-
Pr > F	0,7358	0,2009	-	-	0,0502	0,8269	-	-	0,7358	0,1355	-	-

Médias (dentro das colunas) não diferem entre si pelo teste de Dunnett ($P= 0,05$), enquanto aquelas seguidas pelas letras minúsculas (entre as cultivares: linhas) não diferem entre si pelo teste t ($P= 0,05$). $F_{4,9}= 8,00$; $Pr > F= 0,0058$.

No ensaio com chance de escolha, observou-se que a porcentagem de parasitismo de *D. longicaudata* na variedade Paluma variou de 24,15%, na concentração de 36000 ppm a 48,28% na concentração de 5600 ppm. O valor máximo da taxa de parasitismo estimado pelo modelo é de 50,4388%, enquanto que o valor mínimo é de 23,89%. Na variedade Século XXI, constatou-se que as porcentagens de parasitismo foram de: 59,37, 56,70, 48,95, 67,47 e 42,96%, nas respectivas concentrações de 0 (testemunha), 3600, 5600, 10000 e 56000 ppm. Com relação ao valor máximo da taxa de parasitismo estimado pelo modelo, este foi de 56,31867, enquanto que o valor mínimo foi de 43,1506 % (Figura 5).

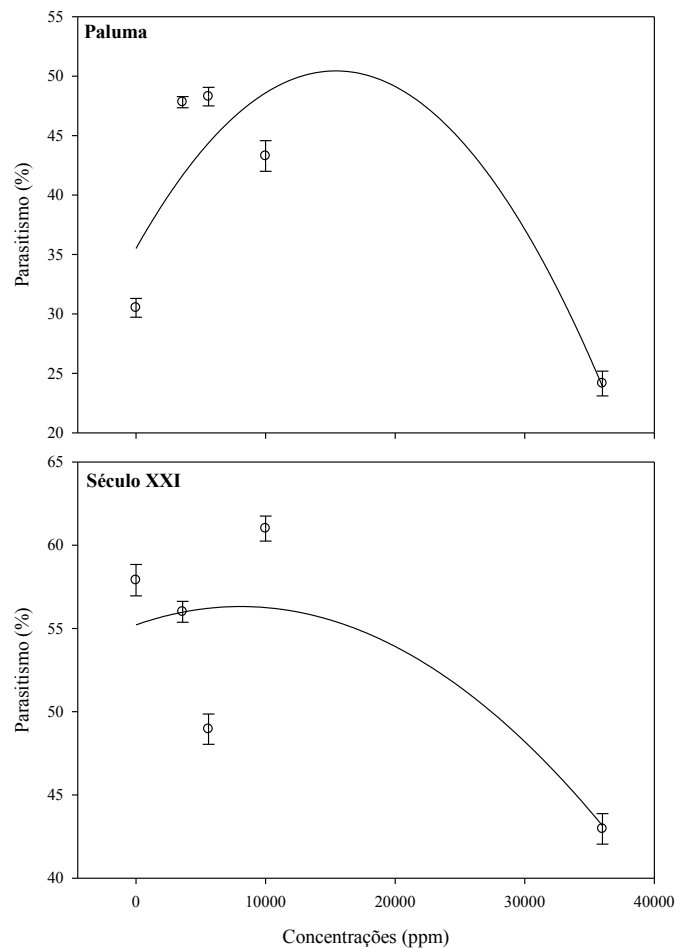


Figura 5 Parasitismo de *Anastrepha fraterculus* pelo parasitóide *Diachasmimorpha longicaudata* em resposta à diferentes concentrações de nim, nas cultivares de goiaba: Século XXI ($y_0= 55,26$; $a= 0,0003$; $b= -2,0938E-0,08$; $R^2= 0,6740$; $Pr > F < 0,05$) e Paluma ($y_0= 35,74$; $a= 0,0020$; $b= -7,4403E-0,08$; $R^2= 0,7732$; $Pr > F < 0,05$), em teste com chance de escolha.

Teste sem chance de escolha

Observa-se na Figura 6 que os valores dos coeficientes da regressão para a variedade Paluma foram negativos para todas as concentrações testadas, ou seja, testemunha ($-7,0000e^{-4}$), 3600 ($-8,0000e^{-4}$), 5600 ($-3,5000e^{-3}$), 10000 ($-2,3000e^{-3}$) e 36000 ($-0,0509$). Enquanto que para a variedade Século XXI, verifica-se que todos os coeficientes da regressão foram positivos, quais sejam: 3,0000 e^{-4} (testemunha), 1,1000 e^{-3} (3600 ppm), 1,0000 e^{-3} (5600 ppm), 5,0000 e^{-4} (10000 ppm) e 2,0000 e^{-4} (36000 ppm) (Figura 7).

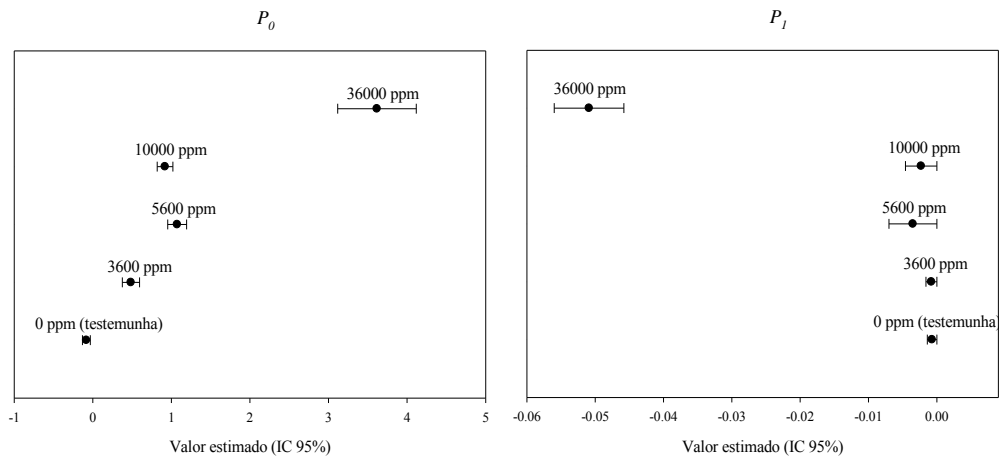


Figura 6 Valores e intervalos de confiança (IC 95%) dos parâmetros: P_0 e P_1 da regressão logística da proporção de fêmeas de *Diachasmimorpha longicaudata* em frutos de goiaba da variedade Paluma em resposta ao tempo após a liberação, em teste sem chance de escolha.

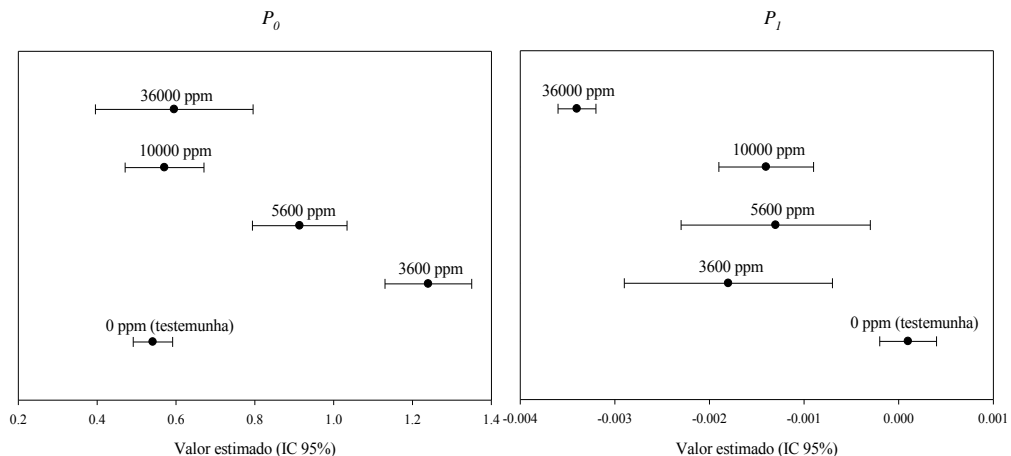


Figura 7 Valores e intervalos de confiança (IC 95%) dos parâmetros: P_0 e P_1 da regressão logística da proporção de fêmeas de *Diachasmimorpha longicaudata* em frutos de goiaba da variedade Século XXI em resposta ao tempo após a liberação, em teste sem chance de escolha.

Na condição sem chance de escolha (Figura 8), os coeficientes lineares da regressão logística para a variedade Paluma foram negativos para todas as concentrações testadas, quais sejam: 0,0 (testemunha), 3600, 5600, 10000 e 36000 ppm. Estes dados podem ser vistos na Figura 8, onde é possível verificar que a proporção de indivíduos, por fruto, diminuiu após 60 e 120 minutos da liberação de *D. longicaudata*, nas concentrações de 36000 e 0,0 (testemunha), 3600, 5600 e 1000 ppm, respectivamente.

Na variedade Século XXI, o coeficiente linear da regressão logística foi positiva apenas na concentração 0,0 (testemunha) e negativos para as concentrações 3600, 5600, 10000 e 36000 ppm. Observa-se ainda, na figura 8, que a proporção de indivíduos por fruto aumentou (testemunha) e/ou diminuiu (3600, 5600, 10000 e 36000 ppm) a partir do tempo 120 minutos (Figura 8).

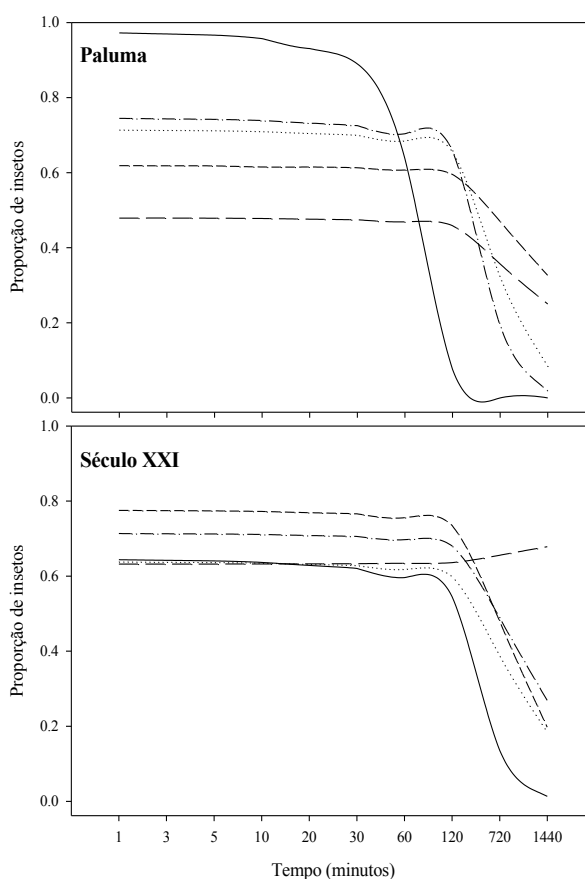


Figura 8 Proporção de indivíduos de *Diachasmimorpha longicaudata* por fruto de goiaba tratados com nim, em teste sem chance de escolha: 0 ppm (— — —); 3600 ppm (-----); 5600 ppm (- · - · - · -); 10000 ppm (··········) e 36000 ppm (—————).

No teste sem chance de escolha, o percentual de parasitismo não diferiu estatisticamente entre as concentrações testadas do óleo de nim, em ambas as variedades estudadas. O mesmo resultado foi observado quando se compara o percentual de parasitismo entre as variedades, exceto no tratamento com a concentração de 5600 ppm, onde verificou-se que na variedade Século XXI a taxa de parasitismo foi superior (Tabela 3).

Com relação a mortalidade de larvas, foi verificado que houve diferença significativa entre as concentrações testadas e a testemunha, tanto na variedade Paluma quanto na Século XXI. Na variedade Século XXI a concentração que diferiu da testemunha foram a de 5600 e 36000 ppm, enquanto que na Paluma as concentrações que não diferiram da testemunha foram: 5600 e 10000 ppm. Comparando-se a mortalidade entre as variedades verificou-se que houve diferença significativa entre as concentrações 5600 e 36000 ppm, sendo constatada uma superior mortalidade de larvas na variedade Paluma (Tabela 3).

Quando avaliado em conjunto, o parasitismo e a mortalidade de larvas, verificou-se que não houve diferença estatística entre as concentrações e nem entre as variedades estudadas (Tabela 3).

Tabela 3 Médias (\pm EP) da porcentagem de parasitismo de *Diachasmimorpha longicaudata*, da mortalidade de larvas e de parasitismo + mortalidade de larvas mediante diferentes concentrações do óleo de nim em duas cultivares de goiaba, em teste sem chance de escolha.

Concentração (ppm)	Parasitismo - <i>P</i> (%)				Larvas mortas - <i>Lm</i> (%)				<i>P</i> + <i>Lm</i> (%)			
	Século XXI	Paluma	<i>F</i>	<i>Pr > F</i>	Século XXI	Paluma	<i>F</i>	<i>Pr > F</i>	Século XXI	Paluma	<i>F</i>	<i>Pr > F</i>
0	58,94 \pm 0,98a	51,39 \pm 0,56a	0,59	0,4527	16,52 \pm 4,49a	26,00 \pm 2,91a	4,85	0,0510	75,46 \pm 6,52a	77,39 \pm 2,96a	0,01	0,9652
3600	31,18 \pm 1,32a	36,67 \pm 0,74a	0,13	0,7222	36,50 \pm 4,78a***	35,00 \pm 3,79a	0,08	0,7858	67,68 \pm 6,44a	71,67 \pm 4,53a	0,07	0,8012
5600	56,74 \pm 0,86a	19,86 \pm 0,87b	7,66	0,0127	19,50 \pm 4,55b	53,00 \pm 3,86a***	18,72	0,0004	76,24 \pm 4,28a	72,86 \pm 4,45a	0,19	0,6701
10000	34,86 \pm 6,73a	27,27 \pm 0,82a	0,26	0,6130	32,50 \pm 2,53a	45,00 \pm 5,06a***	2,85	0,1086	67,36 \pm 5,19a	72,27 \pm 4,65a	0,54	0,5494
36000	34,55 \pm 1,11a	24,18 \pm 1,17a	0,14	0,7139	22,50 \pm 3,79b	38,00 \pm 4,87a	3,94	0,0626	57,05 \pm 7,47a	62,18 \pm 4,46a	0,31	0,5846
<i>F</i>	2,26	2,77	-	-	3,08	3,66	-	-	1,23	0,93	-	-
<i>Pr > F</i>	0,0777	0,0387	-	-	0,0252	0,0115	-	-	0,3096	0,4539	-	-

Médias seguidas pelos asteriscos (***) diferem da testemunha pelo teste de Dunnett ($P= 0,05$), enquanto aquelas seguidas pelas letras minúsculas (entre as cultivares: linhas) não diferem entre si pelo teste *t* ($P= 0,05$). $F_{4,9}= 8,08$; $Pr > F= 0,0493$.

No ensaio sem chance de escolha, observou-se que a porcentagem de parasitismo de *D. longicaudata* na variedade Paluma variou de 19,86%, na concentração de 5600 ppm a 51,39% na testemunha. O valor máximo da taxa de parasitismo estimado pelo modelo é de 47,7464%, enquanto que o valor mínimo é de 8,9632%. Na variedade Século XXI, constatou-se que o modelo não foi significativo, assim, não existe resposta direcional. No entanto, verificou-se que as porcentagens de parasitismo foram de: 58,94, 31,18, 56,74, 34,86 e 34,55%, nas respectivas concentrações de 0 (testemunha), 3600, 5600, 10000 e 36000 ppm (Figura 9).

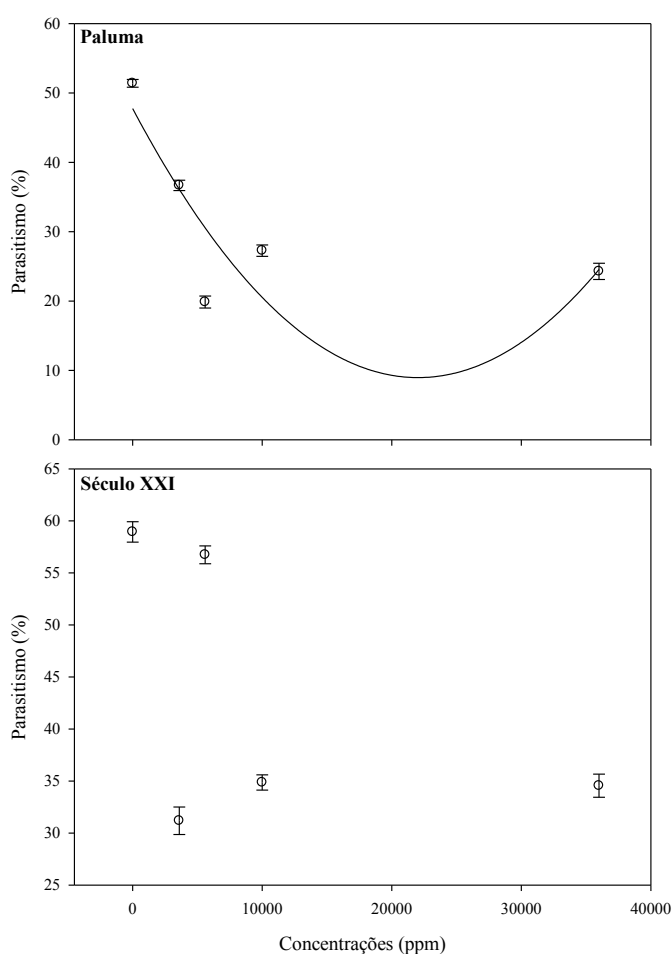


Figura 9 Parasitismo de *Anastrepha fraterculus* pelo parasitóide *Diachasmimorpha longicaudata* em resposta à diferentes concentrações de nim, nas cultivares de goiaba: *Século XXI* (os modelos não foram significativos; $Pr > F > 0,05$) e *Paluma* ($y_0 = 47,56$; $a = -0,0036$; $b = -9,1239E-0,08$; $R^2 = 0,7335$; $Pr > F < 0,05$), em teste sem chance de escolha.

4 Discussão

4.1 Antibiose em *Diachasmimorpha longicaudata* por larvas de *Anastrepha fraterculus* criadas em variedades de goiaba.

O substrato de desenvolvimento dos hospedeiros de *D. longicaudata*, variedades dos frutos, não é um fator decisivo para o completo desenvolvimento do parasitóide, uma vez que todas as variedades proporcionaram o desenvolvimento larval dos hospedeiros, tornando-as favoráveis para o desenvolvimento do parasitóide (Tabela 1). Os valores de peso de pupas foram bem superiores aos valores encontrados por Gil (2003), que registrou pesos de pupas de *Ceratitis capitata* Wied. (Diptera: Tephritidae) parasitada por *D. longicaudata* variando de 6,0 a 7,2 mg em pupas de 7 dias. Quanto a longevidade observa-se, no presente estudo, tempo superior ao encontrado por Andrade (2013), que observou longevidade médias de fêmeas de *D. longicaudata* oriundas de larvas de *A. fraterculus* irradiada de 3,11 dias (Tabela 1).

O tamanho e a duração do ciclo de *D. longicaudata* variam com o tamanho, idade e qualidade da larva hospedeira (LAWRENCE et al.; 1976; LAWRENCE, 1990). Da mesma forma para a longevidade ocorre essa variação, pois de acordo com Lópes et al. (2009), a longevidade, sob estresse das fêmeas de *D. longicaudata*, está diretamente relacionada ao tamanho do hospedeiro, pois quanto maior e melhor for a qualidade deste hospedeiro, há a possibilidade de haver o prolongamento da longevidade dos adultos, o que pode ser observado no presente estudo (Tabela 1).

Observa-se ainda, que esse fator não afetou a porcentagem de parasitismo (Tabela 1), sendo possível constatar altas taxas de parasitismo por *D. longicaudata*, 74,08% na variedade Cascão, 74,20% na Pedro Sato, 83,48% na Século XXI e 84,94% na Paluma. Valores menores foram encontrados por Ovruski et al. (2011), que registraram porcentagem de parasitismo em larvas de *A. fraterculus* de 35,5% em teste com dupla chance e de 43,2% em teste sem chance. Resultados diferentes foram encontrados por Paranhos et al., (2007), que registraram porcentagens de parasitismo de 2,93% na variedade Kumagai, 10,92% na Sasaoka (ou Cascão), 16,12% na Paluma e de 19,84% na Pedro Sato, valores bem abaixo do encontrado no presente estudo. De acordo com os autores, a porcentagem de parasitismo, em condições de laboratório, pode ser influenciada por diversos fatores intrínsecos

(idade e qualidade dos parasitóides produzidos; razão sexual de machos e fêmeas parentais) e externos (relação hospedeiro:parasitóide, espécie de fruto hospedeiro das moscas-das-frutas, idade do hospedeiro). No presente estudo, estes fatores não influenciaram o parasitismo de larvas de *A. fraterculus* pelo parasitóide *D. longicaudata*, uma vez que foram registrados altos valores de porcentagem de parasitismo (Tabela 1).

A variável razão sexual de parasitoides não diferiu entre os tratamentos testados, no entanto, observa-se que houve oscilação em cada variedade. Na variedade Cascão a razão sexual foi de 0,6011, na Paluma foi de 0,5752, na Pedro Sato foi de 0,5563 e na Século XXI foi de 0,4969, porém, constatou-se que houve superior emergência de fêmea em todos os tratamentos (Figura 1). Resultado diferente do registrado por Andrade (2013), que encontrou razão sexual de 0,69 em larvas de *A. fraterculus* criadas em dieta artificial, ressaltando o maior número de emergência de fêmeas. Resultado positivo, uma vez que o objetivo dos programas de controle biológico é conseguir multiplicar os parasitóides em laboratório obtendo-se a maior proporção possível de fêmeas (WATANABE, 1996).

4.2 Associação do nim e de diferentes variedades de goiaba na atratividade e parasitismo de *Diachasmimorpha longicaudata*

O impacto negativo de inseticidas sintéticos tem sido registrado em diversos estudos, especialmente no que se refere à taxa de parasitismo (DASTJERDI et al. 2009) ou taxa de predação (MALAQUIAS et al., 2014). Moléculas como spinosad e o profenofos induziram a diferentes respostas ao ectoparasitóide *Habrobracon hebetor* (Say) (Hymenoptera.: Braconidae) (DASTJERDI et al. 2009). Rezac et al. (2010) também registraram que o inseticida botânico azadirachtina proporcionou redução significativa da curva assintótica de resposta funcional de *Philodromus cespitum* (Walckenaer) (Aranae: Philodromidae). De acordo com os resultados do presente estudo, em ambos os testes realizados (com e sem chance de escolha), o efeito repelente do nim ao *D. longicaudata* não foi verificado nos tratamentos avaliados, já que a preferência dos parasitóides às larvas de *A. fraterculus* das duas variedades de goiaba tratadas com as diferentes concentrações não afetou a porcentagem de parasitismo de *D. longicaudata*, uma vez que o parasitismo foi superior a 31% na

variedade Século XXI e a 19% na variedade Paluma, em teste sem chance de escolha (Tabelas 2 e 3). Esse resultado pode ser explicado pelo fato da azadiractina, principal composto do óleo de nim, ser mais efetiva por ingestão do que por contato (CIOCIOLA JUNIOR; MARTINEZ, 2002), ao contrário do que acontece com produto químico como a fentiona, um fosforado utilizado no controle de moscas-das-frutas, que age por contato (ANDREI, 2005), podendo causar a mortalidade dos parasitóides.

Algumas pesquisas têm comprovado que a azadiractina, em condições de laboratório, tem sido prejudicial a adultos de moscas-das-frutas quando estes se alimentam com compostos à base de nim (DIILIO et al., 1999; SALES; RECH, 1999; SINGH, 2003). Em larvas, a azadiractina atua interferindo no funcionamento das glândulas endócrinas que controlam a metamorfose em insetos, impedindo o desenvolvimento larval devido à interferência na regulação neuroendócrina de hormônios nas larvas (VIEGAS JÚNIOR, 2003). Resultado confirmado por França et al. (2010), ao avaliarem o efeito do óleo de nim nas concentrações de 0,5%, 1% e 1,5%, sobre larvas de *C. capitata*, constatando que o óleo não apresenta efeito prejudicial por contato, não afetando a emergência de adultos.

Em estudo similar, Stark et al. (1992) observaram maior emergência do parasitóide de moscas-das-frutas *D. tryoni* (Cameron) (Hymenoptera: Braconidae) originadas de larvas de *C. capitata* quando expostas a 10 ppm de azadiractina quando comparado à testemunha (sem azadiractina) e, segundo os autores, a azadiractina, de maneira desconhecida, pode ser benéfica ao desenvolvimento desse parasitóide. De acordo com Foerster (2002), as alterações nos processos fisiológicos dos insetos-praga provocadas por efeitos subletais podem ser favoráveis à atuação dos parasitóides, pelo enfraquecimento do hospedeiro. Segundo este mesmo autor, verifica-se também que, sobre o tipo de reação de predadores e parasitóides a subdosagens de inseticidas, uma parte significativa dos resultados encontrados na literatura aponta para um incremento no desempenho de inimigos naturais diante de doses subprejudiciais.

O nim não tem se mostrado tóxico para parasitóides pertencentes a ordem Hymenoptera. Em geral, os parâmetros utilizados para quantificar o efeito deste inseticida natural sobre os parasitóides tem sido o nível de parasitismo, a

sobrevivência dos adultos (mortalidade), o desenvolvimento do parasitóide, a emergência e a longevidade de adultos e a deterrência para oviposição (CÓNDOR, 2007). No presente estudo, alguns destes parâmetros foram avaliados, e é possível verificar que não houve efeito adverso do óleo de nim no nível de parasitismo, sobrevivência de adultos e deterrência de oviposição (Tabelas 2 e 3).

Observou-se no presente estudo uma porcentagem de larvas mortas, sendo superior a 10% na variedade Século XXI e a 19% na variedade Paluma, em testes com e sem chance de escolha, respectivamente. Este resultado pode ter sido devido ao super parasitismo de *D. longicaudata* e/ou a um possível efeito de ação por profundidade do óleo de nim, que embora não tenha sido objeto de estudo desta pesquisa, torna-se uma possibilidade para estudos futuros (Tabelas 2 e 3).

É necessário considerar o fator condição de campo, uma vez que, possivelmente, a seletividade ao parasitóide poderá ser maximizada, já que, segundo Martinez (2002), a azadiractina é sensível à fotodecomposição e se decompõe após 4 horas de exposição à luz solar, reduzindo sua atividade em quase 60%, e também apresenta o período de efeito residual curto (2 a 7 dias), podendo proporcionar maior e melhor atividade de *D. longicaudata*.

A proporção de insetos nos ensaios sobre atratividade dos parasitóides apresenta modificações nos testes com e sem chance de escolha e as variedades estudadas (Figuras 4 e 8). Possivelmente, essa atratividade pode estar relacionada ao fato do parasitóide ter ou não a chance de escolha do sítio de oviposição, como observou-se no presente estudo. No teste com chance de escolha para a variedade Paluma e para as concentrações do óleo testado, a maior atratividade das fêmeas pelos frutos tratados se deu até 120 minutos após a liberação dos insetos. Registrou-se também aumento nesta atratividade, exceto para os tratamentos testemunha, onde observou-se grande oscilação nesta atratividade e na concentração de 3600 ppm, onde a partir do tempo 120 minutos, houve diminuição na atratividade das fêmeas, provavelmente devido a baixa concentração do óleo de nim. Na variedade Século XXI verificou-se comportamento semelhante, onde a partir do tempo de 120 minutos houve aumento na atratividade do parasitóide, exceto nos tratamentos testemunha e na concentração de 3600 ppm, onde constatou-se diminuição nesta atratividade (Figura 4).

No teste sem chance de escolha, observou-se que as fêmeas de *D. longicaudata* apresentaram comportamento de oviposição diferente, no entanto, não variando entre as variedades e as concentrações utilizadas. Em ambas as variedades, a partir do tempo de 120 minutos, a atratividade dos parasitóides foi reduzida, além de ser possível verificar que a proporção das fêmeas de *D. longicaudata* ficou acima de 0,5 (Figura 8). Esse comportamento pode estar relacionado ao fato do confinamento, tendo em vista que, quando as fêmeas têm a possibilidade de escolher o sítio de oviposição, elas apresentam oscilações comportamentais, com o intuito de escolher o substrato que proporcione melhores condições para o desenvolvimento dos descendentes, ao passo que, quando não há essa possibilidade de escolha elas terminam ovipositando no sítio disponível, para perpetuar a espécie. Desse modo é possível observar, no presente estudo, que os odores proporcionados pelo óleo utilizado podem ter influenciado na atratividade dos parasitoides, todavia a taxa de parasitismo não foi alterada. Assim sendo, os resultados deste e de outros estudos mostram que a utilização de compostos à base de nim, associado ao controle biológico com parasitóide, pode ser utilizado em programas de manejo integrado de pragas. Concordando com França et al., (2010), constata-se que há necessidade de mais pesquisas com relação à ação no terceiro nível trófico em condições de campo.

5 Conclusões

As larvas de *A. fraterculus*, criadas em variedades de goiaba Paluma e Século XXI, não interferem nos parâmetros biológicos do parasitóide *D. longicaudata*;

As variedades Paluma e Século XXI não afetam a taxa de parasitismo de *D. longicaudata*;

O óleo de nim não afeta a taxa de parasitismo de *D. longicaudata*.

O produto natural óleo de nim apresenta potencial para ser utilizado em programas de manejo de pragas, demonstrando ser importante em sistemas de cultivos alternativos.

6 Referências

- AGROFIT. Brasília, DF: **Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento** (MAPA), [2003]. Disponível em: <http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons>. Acesso em: 10 de setembro de 2013.
- ALVARENGA, C. D.; BRITO, E. S.; LOPES, E. N.; SILVA, M. A.; ALVES, D. A.; MATRANGOLO, C. A. R.; ZUCCHI, R. A. Introdução e recuperação do parasitóide exótico *Diachasmimorpha longicaudata* (Ashmead) (Hymenoptera: Braconidae) em pomares comerciais de goiaba no norte de Minas Gerais. **Neotropical Entomology**, v. 34, p. 133-135, 2005.
- ANDRADE, R. M. **Produção em escala do parasitóide de *Diachasmimorpha longicaudata* (Ashmead) (Hymenoptera: Braconidae) em larvas hospedeiras de *Anastrepha fraterculus* e *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae) linhagem mutante *ts1*-Viena 8**. 2013. 94 f. Tese (Doutorado) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2013.
- ANDREI, E. **Compêndio de defensivos agrícolas**. São Paulo: Andrei, 2005. 1141 p.
- ANUÁRIO BRASILEIRO DA FRUTICULTURA, Gazeta Santa Cruz, Santa Cruz do Sul, Rio Grande do Sul, Brasil, 2009.
- CARVALHO, R. S.; NASCIMENTO A. S. Criação e utilização de *Diachasmimorpha longicaudata* para controle biológico de moscas-das-frutas (Tephritidae). In: PARRA, J. R. P.; BOTELHO, P. S. M.; CORRÊA-FERREIRA, B. S.; BENTO, J. M. S. (Ed.). **Controle biológico no Brasil: parasitóides e predadores**. São Paulo: Manole, p. 165-179. 2002.
- CIOCIOLA JUNIOR, A. I.; MARTINEZ, S. S. **Nim**: alternativa no controle de pragas e doenças. Belo Horizonte: EPAMIG, 2002. 24p. (Boletim Técnico, n.67)
- CÓNDOR, A. F. Effect of neem (*Azadirachta indica*) (A. Juss) insecticides on parasitoids. **Revista Peruana de Biología**, v. 14, n. 1, p. 069-074, 2007.
- DASTJERDI, H.R.; HEJAZI, M.J.; GANBALANI, G.N.; SABER, M. Effects of some insecticides on functional response of ectoparasitoid, *Habrobracon hebetor* (Say) (Hym.: Braconidae). **Journal of Entomology**, v. 6, n. 3, p. 161-166, 2009.
- DI ILIO, V.; CRISTOFARO, M.; MARCHINI, D.; NOBILI, P.; DALLAI, R. Effects of a neem compound on the fecundity and longevity of *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae). **Journal Economic Entomology**, v. 92, p. 76-82, 1999.
- EL-BULUK, R. E.; BABIKER, E. E.; EL TINAY, A. H. Biochemical and physical changes in fruits of four guava cultivars during growth and development. **Food Chemistry**, v. 54, p. 279-282, 1995.

FOERSTER, L. A. Seletividade de inseticidas a predadores e parasitóides. In: PARRA, J. R. P.; BOTELHO, P. S. M.; CORRÊA-FERREIRA, B. S.; BENTO, J. M. S. (Ed.) **Controle biológico no Brasil: parasitóides e predadores**. São Paulo: Manole, 2002. p. 95-114.

FRANÇA, W. M.; ALVARENGA, C. D.; GIUSTOLIN, T. A.; OLIVEIRA, P. R.; CRUZ, P. L.; LOPES, G. N.; PARANHOS, B. A. J. Efeito do nim (*Azadirachta indica*) na mosca-das-frutas *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae) e seu parasitoide *Diachasmimorpha longicaudata* (Hymenoptera: Braconidae). **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 77, n. 1, p. 57-64, 2010.

GIL, R. **Biologia e comportamento de *Diachasmimorpha longicaudata* (Ashmead) (Hymenoptera: Braconidae) criado sobre larvas de *Ceratitis capitata* Wiedmann (Diptera: Tephritidae) irradiadas e não irradiadas com radiação gama**. 2003. 53 f. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Ciências Agrônômicas, Universidade Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho”, Botucatu, 2003.

GREANY, P. D.; VINSON, S. B.; LEWIS, W. J. Insects parasitoids: finding new opportunities for biological control **BioScience**, v 34, n. 11, p. 690-696, 1984.

ISMAN, M. B. Botanical insecticides, deterrents, and repellents in modern agriculture and an increasingly regulated world. **Annual Review of Entomology**, v. 51, p. 45-66, 2006.

LAWRENCE, P. O.; BARANOWSKI, R. M.; GREANY, P. D. Effect of host age on development of *Biosteres* (= *Opius*) *longicaudatus*, a parasitoid of the Caribbe- an fruit fly, *Anastrepha suspensa*. **Florida Entomologist**, v. 59, n. 1, p. 33-39, 1976.

LAWRENCE, P. O. The biochemical and physiological effects of insect hosts on the development and ecology of their insect parasites: an overview. **Archives on Insect Biochemistry and Physiology**, v. 13, p. 217–228, 1990.

LEWIS, W. J.; MARTIN JR, W. R. Semiochemicals for use with parasitoids: status and future. **Journal of Chemical Ecology**, v. 16, p. 3067-3089, 1990.

LÓPEZ, O. P.; HÉNAUT, Y.; CANCINO, J.; LAMBIN, M.; CRUZ-LÓPEZ, L.; ROJAS, J. Is host size an indicator of quality in the mass-reared parasitoid *Diachasmimorpha longicaudata* (Hymenoptera: Braconidae). **Florida Entomologist**, v. 92, p. 441-449, 2009.

MALAVASI, A.; MORGANTE, J. S. Adult and larval population fluctuation of *Anastrepha fraterculus* and its relationship to host availability. **Environmental Entomology**, v. 10, p. 275-278, 1981.

MALAQUIAS, J. B.; RAMALHO, F. S.; OMOTO, C.; GODOY, W. A. C.; SILVEIRA, R. F. Imidacloprid affects the functional response of predator *Podisus nigrispinus* (Dallas) (Heteroptera: Pentatomidae) to strains of *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) on Bt cotton. **Ecotoxicology**, v. 23, p. 192-200. 2014.

MARTINEZ, S. S. **O Nim** - *Azadirachta indica*: natureza, usos múltiplos, produção. Londrina: IAPAR, 2002. 142 pp.

MEDEIROS, C. A. M.; BOIÇA JUNIOR, A. L.; TORRES, A. L. Efeito de extratos aquosos de plantas na oviposição da traça-das-crucíferas, em couve. **Bragantia**, v. 64, n. 2, p. 227-232, 2005.

MENDES, P. C. D.; AMBROSANO, E. J.; ROSSI, N. G. F.; ARÉVALO, R. A.; GROppo, G. A. Avaliação populacional de moscas-das-frutas (Díptera: Tephritidae) e de seus parasitóides larvais (Hymenoptera: Braconidae). Resumos do II Congresso Brasileiro de Agroecologia. **Revista Brasileira de Agroecologia**, v. 2, n. 1, 2007.

MESSING, R. H.; JANG, E. B. Response of the fruit fly parasitoid *Diachasmimorpha longicaudata* (Hymenoptera: Braconidae) to host-fruit stimuli. **Environmental Entomology**, v. 21, p. 1189-1195, 1992.

MONTOYA, P.; LIEDO, P.; BENREY, B.; CANCINO, J.; BARRERA, J. F.; SIVINSKI, J.; ALUJA, M. Biological control of *Anastrepha* sp. (Diptera: Tephritidae) in mango orchards through augmentative releases of *Diachasmimorpha longicaudata* (Ashmead) (Hymenoptera: Braconidae). **Biological Control**, v. 18, n. 3, p. 216-224, 2000.

MORAIS, L. A. S. Óleos essenciais no controle fitossanitário. In: BETTIOL, W.; MORANDI, M. A. B. **Biocontrole de doenças de plantas**: uso e perspectiva. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, p. 139-152. 2009.

OLIVEIRA, F. Q., MALAQUIAS, J. B.; FIGUEIREDO, W. R. S.; BATISTA, J. L.; BESERRA, E. B. Inhibition of fruit infestation by Mediterranean fruit fly using natural products. **African Journal Biotechnology**, v. 11, p. 13922–13927, 2012.

OVRUSKI, S. M.; BEZDIJIAN, L. P.; VAN NIEUWENHOVE, G. A. Host preference by *Diachasmimorpha longicaudata* (Hymenoptera: Braconidae) reared on larvae of *Anastrepha fraterculus* and *Ceratitidis capitata* (Diptera: Tephritidae). **Florida Entomologist**, v. 94, p. 195-200, 2011.

PARANHOS, B. A. J.; WALDER, J. M. M.; ALVARENGA, C. D. Parasitismo de larvas da mosca-do-mediterrâneo por *Diachasmimorpha longicaudata* (Ashmead) (Hymenoptera: Braconidae) em diferentes cultivares de goiaba. **Neotropical Entomology**, v. 36, n. 2, p. 243-246, 2007.

PARÉ, P. W.; TUMLINSON, J. H. Plant volatiles as defense against insect herbivores. **Plant Physiology**, v. 121, p. 325-331, 1999.

REZAC, M.; PEKAR, S.; STARA, J. The negative effect of some selective insecticides on the functional response of a potential biological control agent, the spider *Philodromus cespitum*. *BioControl* 55:503-510. 2010.

SAS Institute, SAS/Stat Users Guide. Cary, NC, 2006.

SALLES, L. A.; RECH, N. L. Efeito de extratos de nim (*Azadiractha indica*) e cinamomo (*Melia azedarach*) sobre *Anastrepha fraterculus* (Wied.) (Diptera: Tephritidae). **Revista Brasileira de Agrociência**, v. 5, n. 3, p. 225-227, 1999.

SANTOS, J. P.; CORRENT, A. R.; BERTON, O.; SCHWARZ, L. L.; DENARDI, F. Incidência de podridão-branca em frutos de macieira com e sem fermentos. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 30, n. 1, p. 118-121, 2008.

SINGH, S. Effects of aqueous extract of neem seed kernel and azadirachtin on the fecundity, fertility and post-embryonic development of the melonfly, *Bactrocera cucurbitae* and the oriental fruit fly, *Bactrocera dorsalis* (Diptera: Tephritidae). **Journal of Applied Entomology**, v. 127, p. 540-547, 2003.

SOUZA FILHO, M. F.; RAGA, A.; ZUCCHI, R. A. Incidência de *Anastrepha obliqua* (Macquart) y *Ceratitis capitata* (Wiedemann) (Diptera: Tephritidae) em carambola (*Averrhoa carambola* L.) en ocho localidades del estado de São Paulo, Brasil. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v. 29, n. 2, p. 367-371, 2000.

STARK, J. D.; WONG, T. T. Y.; VARGAS, R. I.; THALMAN, R. K. Survival, longevity, and reproduction of tephritid fruit fly parasitoids (Hymenoptera: Braconidae) reared from fruit flies exposed to azadirachtin. **Journal Economic of Entomology**, v. 85, n. 4, p. 1125-1129, 1992.

TORRES, A.; J ÚNIOR, A. L. B.; MEDEIROS, C. A. M.; B ARROS, R. Efeito de extratos aquosos de *Azadiractha indica*, *Melia azedarach* e *Aspidosperma pyrifolium* no desenvolvimento e oviposição de *Plutella xylostella*. **Bragantia**, v. 65, n. 3, p. 447-457, 2006.

TUMLINSON, J. H.; LEWIS, W. J.; VET, L. E. M. How parasitic wasps find their hosts. **Scientific American**, v. 268, p. 100-106, 1993.

TURLINGS, T. C. J.; WACHERS, F. L.; VET, L. E. M.; LEWIS, W. J.; TUMLINSON, J. H. Learning of host-finding cues by hymenopterous parasitoids. In: PAPAJ, D. R.; LEWIS, A. C. (E.d.). **Insect learning: ecological and evolutionary perspectives**. New York: Chapman & Hall, 1993. p. 51-78.

VARGAS, R. I.; STARK, J. D.; UCHIDA, G. K.; PURCELL, M. Opiine parasitoid (Hymenoptera: Braconidae) of oriental fruit fly (Diptera: Tephritidae) on Kauai Island, Hawaii: Island wide relative abundance and parasitism rates in wild and orchard guava habitats. **Environmental Entomology**, v. 22, p. 246-53, 1993.

VIEGAS JÚNIOR, C. Terpenos com atividade inseticida: uma alternativa para o controle químico de insetos. **Química Nova**, v. 26, p. 390-400, 2003.

VINSON, S. B. Host selection by insect parasitoids. **Annual Review of Entomology**, v. 21, p. 109-133, 1976.

CAPÍTULO 7 – Considerações Finais

Anastrepha fraterculus é de grande importância fitossanitária no cenário da fruticultura mundial. Devido as grandes perdas ocasionadas por esta praga, diversas pesquisas vêm sendo desenvolvidas com o intuito de desenvolver alternativas de controle viáveis e eficientes. Assim, este trabalho traz informações a respeito da integração de métodos de controle, no primeiro momento evidenciamente variedade (s)/estádios de maturação de goiaba mais suscetíveis a essa praga, assim como o uso de bioinseticidas e a compatibilidade com o controle biológico com parasitóide.

O estágio de maturação mais atrativo e mais infestado depende da variedade, sendo que na variedade Século XXI o estágio de vez é o mais infestado e na variedade Paluma o estágio maduro é preferido por *A. fraterculus*. Existem correlações significativas envolvendo o nível de infestação de *A. fraterculus* com as variáveis de cor da casca dos frutos, como a luminosidade (L), a cromaticidade (C) e o ângulo de cor (h). Quanto à suscetibilidade das variedades avaliadas, verificou-se que a variedade Paluma apresenta características de menor infestação em relação à variedade Século XXI. As variedades de goiaba estudadas não apresentam resistência do tipo antibiose em *A. fraterculus*.

A maior suscetibilidade das variedades está associada ao índice de sólidos solúveis totais (°Brix), tendo em vista que foram observados valores maiores desta variável na variedade suscetível, ou seja, Século XXI. No entanto, constatamos que os índices de pH do suco dos frutos dos materiais avaliados não apresentam relação direta com a infestação e nem com a atratividade de *A. fraterculus* por frutos de goiaba.

O óleo de nim proporciona as menores infestações de larvas por fêmea por fruto. Porém, observamos ainda que o óleo de erva-doce também propicia redução nos níveis de infestações de *A. fraterculus*. Quanto a interferência no desenvolvimento do parasitoide, verificou-se que larvas de *A. fraterculus* oriundas de variedades de goiaba não interferem nos parâmetros biológicos de *D. longicaudata*, além de não afetar a taxa de parasitismo. Da mesma maneira que o óleo de nim, quando aplicado sobre os frutos de goiaba não ocasiona repelência do inimigo natural e, conseqüentemente, não afeta a taxa de parasitismo de *D. longicaudata*;

Diante os resultados obtidos, constatamos que o produto natural óleo de nim é uma ferramenta potencial para ser utilizado em programas de manejo de pragas, demonstrando ser importante em sistemas de cultivos alternativo, representando uma alternativa promissora em cultivos orgânicos.

Apesar da obtenção de resultados positivos sobre a integração dos diferentes métodos de controle, é necessário que novas pesquisas sejam realizadas. Estudos com outras espécies de frutíferas, outras espécies de moscas-das-frutas, em condições de campo, outros bioinseticidas, ensaios sobre a persistência do produto em campo, e finalmente evidenciando as interações multitróficas.