



**CAROLINA SILVA LIMA**

**UTILIZAÇÃO DE NEMATOIDES ENTOMOPATOGÊNICOS  
NATIVOS NO CONTROLE DE *Ceratitis capitata* (DIPTERA:  
TEPHRITIDAE)**

**LAVRAS/MG  
2023**

**CAROLINA SILVA LIMA**

**UTILIZAÇÃO DE NEMATOIDES ENTOMOPATOGÊNICOS NATIVOS NO  
CONTROLE DE *Ceratitis capitata* (DIPTERA: TEPHRITIDAE)**

Monografia apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Curso de Agronomia, para a obtenção do título de Bacharel.

**Orientador: Prof. Dr. Alcides Moino Junior**

**LAVRAS/MG  
2023**

## RESUMO

As moscas-das-frutas, pertencentes à família Tephritidae, são consideradas importantes pragas em várias culturas, como goiaba, manga, mamão, citros e outras frutíferas. No Brasil, as espécies mais relevantes do ponto de vista econômico e quarentenário estão nos gêneros *Anastrepha* Schiner e *Ceratitis* MacLeay, sendo *C. capitata* a única espécie do gênero encontrada no Brasil. Essas moscas causam danos que afetam a qualidade e o valor comercial dos frutos, modificando principalmente sua textura e aparência. Para controlar esses insetos, o método químico é frequentemente utilizado, envolvendo iscas tóxicas ou pulverização em grande escala. Sendo assim, o controle microbiano se revela como uma estratégia adicional para combater as moscas-das-frutas, através da aplicação de nematoides entomopatogênicos (NEP) dos gêneros *Steinernema* (Rhabditida: Steinernematidae) e *Heterorhabditis* (Rhabditida: Heterorhabditidae). Assim, este trabalho teve como objetivo avaliar a utilização de nematoides entomopatogênicos nativos no controle de *C. capitata*. Para a execução do experimento foram utilizadas placas de Petri de 5cm forradas com 3 papéis filtro. Foram colocadas 10 larvas de terceiro instar por placa e foi aplicado 1ml de suspensão aquosa de 100 JI/inseto. A avaliação ocorreu em 5 dias consecutivos e foram feitas 15 repetições. Os isolados testados foram: UEL07; UEL08; M13; CER21; UENP2; UENP3; MC01; GL (Alho); NEPET; RSC05. Os dados foram testados quanto a normalidade e a homocedasticidade, e em seguida submetidos a modelos lineares generalizados (GLM) seguidos pelo teste de Tukey a 5%. Todos os isolados avaliados foram patogênicos as larvas de *C. capitata*. O isolado CER21 foi o que teve melhor desempenho, causando a maior percentagem de morte. Já os isolados UEL07 e M13 foram os que alcançaram menor percentagem de morte.

**Palavras-chave:** Moscas-das-frutas, Controle microbiano, Patogenicidade

## ABSTRAC

Fruit flies, belonging to the Tephritidae family, are considered significant pests in various crops such as guava, mango, papaya, citrus, and other fruit-bearing plants. In Brazil, the most economically and quarantinely relevant species are found in the genera *Anastrepha* Schiner and *Ceratitis* MacLeay, with *C. capitata* being the sole species of the genus found in Brazil. These flies cause damage that affects the quality and commercial value of fruits, primarily altering their texture and appearance. To control these insects, chemical methods are frequently employed, involving toxic baits or large-scale spraying. Thus, microbial control emerges as an additional strategy to combat fruit flies, through the application of entomopathogenic nematodes (EPN) from the genera *Steinernema* (Rhabditida: Steinernematidae) and *Heterorhabditis* (Rhabditida: Heterorhabditidae). Therefore, the objective of this study was to evaluate the use of native entomopathogenic nematodes in controlling *C. capitata*. For the execution of the experiment, 5 cm Petri dishes lined with 2 filter papers were used. Ten third instar larvae were placed per plate, and 1 ml of an aqueous suspension of 100 IJs/insect was applied. Evaluation occurred over 5 consecutive days with 15 repetitions. The tested isolates were: Uel07; Uel08; M13; CER21; UENP2; UENP3; MC01; GL (Garlic); NEPET; RSC05. The data were tested for normality and homoscedasticity, and subsequently subjected to generalized linear models (GLM) followed by Tukey's test at 5%. All evaluated isolates were pathogenic to *C. capitata* larvae. Isolate CER21 performed the best, causing the highest percentage of mortality. On the other hand, isolates UEL07 and M13 achieved the lowest percentage of mortality.

Keywords: fruit flies, microbial control, pathogenicity

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1: Gaiola de criação de <i>C. capitata</i> .....	16
Figura 2: Isolados utilizados no experimento.....	19
Figura 3: Nematoides presentes no interior da larva infectada após a dissecação .....	20
Figura 4: Mortalidade de larvas de <i>C. capitata</i> infectadas por diferentes isolados nativos de nematoides entomopatogênicos.....	21
Figura 5: Análise de sobrevivência das larvas de <i>C. capitata</i> expostas aos isolados .....	22

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Composição da dieta artificial consumida pelas larvas de <i>C. capitata</i> .....	17
Tabela 2: Composição da dieta artificial consumida pelas lagartas de <i>G. mellonella</i> .....	18

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	8
<b>2. HIPÓTESES</b> .....	10
<b>2.1. Geral</b> .....	10
<b>2.2. Específicos</b> .....	10
<b>3. OBJETIVO</b> .....	11
<b>3.1. Geral</b> .....	11
<b>3.2. Específicos</b> .....	11
<b>4. REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	12
<b>5. MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	16
<b>6. RESULTADO E DISCUSSÃO</b> .....	21
<b>7. CONCLUSÃO</b> .....	24
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	25

## 1. INTRODUÇÃO

*Ceratitits capitata* (Diptera: Tephritidae), conhecida como mosca do Mediterrâneo, é uma praga altamente destrutiva que afeta uma ampla variedade de frutíferas em todo o mundo. Esta praga polífaga, é reconhecida principalmente por sua capacidade de causar danos às culturas, levando à perda de produção e qualidade dos frutos (Gonzaga et al., 2023). Com base nos trabalhos científicos dos últimos anos, é evidente que estratégias de controle alternativo ao controle químico dessa praga tem mostrado resultados positivos que contribuem para sustentabilidade da produção de produtos agrícolas (Silva et al., 2019). Além de que, o controle químico atinge apenas os insetos adultos, e não as fases de larva que fica protegida dentro do fruto, e a fase de pupa que fica no solo.

O sucesso para disseminação da *C. capitata* ocorre devido à sua alta taxa de reprodutividade, sua adaptabilidade a diferentes ambientes e também sua capacidade de infestar várias espécies de hospedeiros. Em relação as perdas econômicas causadas pela mosca-das-frutas, há variações em função da infestação, porém a urgência de encontrar soluções eficazes para o manejo adequado faz-se presente em todos os casos (Contreras-Miranda et al., 2023). No Brasil, essas perdas de produção, custos de controle, e também a comercialização, são prejuízos calculados em aproximadamente R\$ 180 milhões de reais por ano (Nava, 2019).

Além do aspecto econômico, *C. capitata* também tem implicações ambientais, uma vez que o uso excessivo de inseticidas para o controle da praga pode causar impactos negativos em ecossistemas agrícolas e na saúde humana. Esses impactos, estão diretamente relacionados com o mal manejo desses produtos, e com a falta de instrução de produtores que não tem acesso a informações de manejo adequado. Os impactos gerados podem ser, contaminação de cursos d'água e contaminação de solo (Lopes; Albuquerque, 2018).

Neste contexto, pesquisas tem desempenhado um papel importante na busca por métodos de controle e manejo sustentáveis para *C. capitata*. Estudos recentes se concentraram em uma variedade de abordagens, incluindo o uso de feromônios, óleos essenciais, técnica do inseto estéril e utilização de inimigos naturais com predadores, parasitoides e entomopatógenos (Barboza et al., 2023; Contreras-Miranda et al., 2023; Paranhos et al., 2019; Marques, 2023).

Dentre os entomopatógenos, o uso de nematoides entomopatogênicos (NEP), tem importante destaque em função da especificidade com o hospedeiro. Os mais utilizados pertencem aos gêneros *Steinernema* (Rhabditida: Steinernematidae) e *Heterorhabditis* (Rhabditida: Heterorhabditidae) (Andaló et al., 2019), e são uma estratégia eficaz, uma vez que, têm a capacidade de infectar e causar a morte das larvas de *C. capitata* quando estas saem dos frutos e entram no solo para passarem para fase de pupa (Santos et al., 2011).

Os NEP são facilmente encontrados no solo na fase conhecida como Juvenil Infectante (JI), que é a terceira fase do seu ciclo de vida. Neste estágio, eles possuem vida livre e podem entrar nos hospedeiros através de aberturas naturais, como a boca, o ânus e os espiráculos. Eles trazem consigo bactérias simbiotes do gênero *Xenorhabdus*, em espécies da família Steinernematidae, e do gênero *Photorhabdus*, em espécies da família Heterorhabditidae. Essas bactérias simbiotes são liberadas na hemocele do hospedeiro, levando-o a morte (Leite, 2016).

A patogenicidade dos NEP em larvas de moscas-das-frutas já foi comprovada, mas ainda há a necessidade de pesquisas para avaliar o uso desses nematoides, bem como quais hospedeiros são mais suscetíveis e qual a melhor dose de aplicação. Além disso, tem-se a necessidade de focar estudos em isolados nativos, pois sua adaptação as condições locais é que irá garantir a eficiência do controle e também sua sobrevivência após a interação com o alvo (Rohde, 2007). Além disso, o uso de NEP nativos é favorecido justamente pela adaptação de um longo período as condições do local em que serão utilizados.

## **2. HIPÓTESES**

### **2.1. Geral**

Todos os isolados nativos avaliados são patogênicos para as larvas de terceiro instar de *C. capitata*

### **2.2. Específicos**

- a) Pelo menos um isolado possui alta virulência para ser utilizado no controle.
- b) Os isolados infectam em curto período de tempo as lavras de terceiro instar de *C. capitata*.
- c) Há diferença na taxa de mortalidade entre os dois gêneros de nematóides testados.

### **3. OBJETIVO**

#### **3.1. Geral**

Testar a patogenicidade de isolados de NEP nativos do Brasil em larvas de terceiro instar de *C. capitata* em condições de laboratório

#### **3.2. Específicos**

- a) Identificar o isolado com maior virulência a larvas de terceiro instar de *C. capitata*.
- b) Determinar o tempo letal (TL<sub>50</sub>) dos isolados a larvas de terceiro instar de *C. capitata*.
- c) Comparar a virulência entre os dois gêneros de nematoides testados.

## 4. REVISÃO DE LITERATURA

### Fruticultura

A fruticultura é uma das principais atividades agrícolas do Brasil, contribuindo significativamente para a economia do país e para o abastecimento do mercado interno e externo. Com uma grande diversidade de climas e solos favoráveis, o Brasil se destaca na produção de uma ampla variedade de frutas, desde as tropicais, como a banana e o abacaxi, até as de clima temperado, como maçãs e uvas (Oliveira; Henkes, 2023). Além disso, a fruticultura tem papel crucial na geração de empregos e no desenvolvimento sustentável de diversas regiões do país (Vitor; Santana, 2023).

Apesar de seu potencial, a fruticultura brasileira enfrenta algumas limitações que impactam sua produtividade e competitividade no mercado global. Uma das principais limitações está relacionada à infraestrutura logística que dificulta a produção e eleva os custos de transporte. Além disso, a falta de investimento em tecnologia e capacitação dos produtores também é um desafio, pois impede a adoção de práticas mais eficientes e sustentáveis (Borba et al., 2023).

Outro ponto crítico é a questão fitossanitária, principalmente as pragas, que afetam as plantações e reduzem a qualidade dos frutos, acarretando em prejuízos irreversíveis. Entre essas pragas, uma das principais é a *C. capitata*, que além de causar um dano direto nos frutos, também causa danos indiretos, como a queda de frutos antecipadamente.

### *Ceratitis capitata*

A mosca-das-frutas, *C. capitata*, é uma praga de grande importância devido aos prejuízos que causa nas frutíferas. Originária da região do Mediterrâneo, essa mosca se disseminou para diversas regiões do mundo, onde encontrou condições favoráveis para se estabelecer. No Brasil, a mosca-das-frutas se tornou um desafio desde sua chegada por volta de 1901 causando grande preocupação aos produtores de citros (Victor et al., 2022).

As principais culturas afetadas pela mosca-das-frutas no Brasil incluem a manga, a goiaba, o maracujá, a laranja, o limão, a maçã e o pêssego, entre outras frutíferas. A fêmea deposita seus ovos dentro dos frutos, onde as larvas se desenvolvem, causando injúrias diretas à polpa, alterando sua textura e aparência devido a sua alimentação, e assim comprometendo a qualidade e o valor comercial do produto. Ao ovipositar, a fêmea

faz uma pequena abertura no fruto que possibilita a entrada de microrganismos que irão acelerar o processo de degradação e apodrecimento (Pereira & Júnior, 2017).

O manejo adequado dos pomares, como a eliminação de frutos caídos, e a realização de monitoramento constante para identificação precoce da praga, fazem parte do planejamento do Manejo Integrado de Pragas, que devem ser adotadas para um controle eficiente (Marques, 2023). , O controle químico ainda é o principal método empregado, por meio da aplicação de inseticidas registrados de acordo com a frutífera e o problema. Pode-se fazer o uso de pulverizações em área total, visando o controle dos adultos que estão dentro do pomar, ou também atrativos de iscas tóxicas (Raga et al., 2016).

. Embora esse tipo de controle seja bastante utilizado, não deve ser o único, visto que este limita-se em matar apenas os adultos que estão no interior do pomar (Raga & Sato, 2016). Assim, é fundamental que essas práticas sejam realizadas com responsabilidade, seguindo as recomendações técnicas e respeitando os períodos de carência e as boas práticas agrícolas, a fim de garantir a eficácia do controle e a segurança alimentar e do meio ambiente (Raga et al., 2016).

Com isso, *C. capitata* representa um desafio para a fruticultura brasileira, exigindo a adoção de medidas integradas e sustentáveis para minimizar seus impactos. O manejo adequado, com o uso do controle biológico são essenciais para garantir a sanidade dos pomares e a qualidade dos frutos, contribuindo para a manutenção do mercado nacional e internacional.

### **Controle biológico**

O controle biológico de insetos desempenha um papel importante no manejo sustentável de pragas agrícolas, minimizando a dependência de inseticidas químicos e preservando o equilíbrio dos ecossistemas. Essa estratégia envolve a utilização de organismos vivos, como predadores, parasitoides e entomopatógenos, para o controle dos insetos pragas (Robson; Di, 2016). Para o uso de entomopatógenos, destacam-se o complexo NEP-bactéria, bactérias, fungos e nematoides que afetam os insetos-alvo. (VIDAL QUIST, 2010; BISSOLLI, 2023; da Silva et al., 2019).

Dentre os métodos de controle biológico, destaca-se o uso de predadores naturais, como os ácaros e tesourinhas, que desempenham um papel fundamental na

regulação das populações de insetos nas lavouras e pomares (Santos, 2018). Esses predadores atuam como agentes de controle porque alimentam-se das pragas e impedem o aumento de suas populações. Já os parasitoides depositam seus ovos nas pragas, dando origem a larvas que matam o hospedeiro, interrompendo seu ciclo de vida. No controle de moscas-das-frutas o parasitoide *Diachasmimorpha longicaudata* (Hymenoptera: Braconidae) é o mais utilizado em função de sua especificidade e facilidade de criação massal (Mingoti et al., 2023).

O controle biológico também pode se beneficiar da introdução de inimigos naturais exóticos em áreas onde as pragas são invasivas e não possuem inimigos naturais locais (Mingoti et al., 2023). Contudo, é fundamental realizar essa prática com cautela, considerando os potenciais impactos ecológicos.

A técnica do inseto estéril também é utilizada para o controle de mosca-das-frutas, que consiste em criar uma grande quantidade do inseto praga, esterilizá-los e liberá-los no campo para que cruzem com os insetos selvagens. Porém os frutos continuam a serem danificados pelas fêmeas (Paranhos et al., 2008).

Diante disso, o controle biológico de insetos destaca-se como uma ferramenta eficiente para o manejo de pragas agrícolas. Para um melhor desempenho de controle, os agricultores devem realizar previamente uma estratégia de manejo integrado de pragas adaptado as suas áreas e disponibilidade de recursos (Blank et al., 2022). Para isso, pode-se fazer o uso de entomopatógenos, utilizando nematoides entomopatogênicos nativos.

### **Nematoides Entomopatogênicos**

O controle microbiano representa uma estratégia complementar para o controle de moscas-das-frutas, a partir da aplicação de nematoides entomopatogênicos (NEP) pertencentes aos gêneros *Steinernema* e *Heterorhabditis*. Os NEP são uma ótima opção a ser incorporado no manejo de *C. capitata*, pois infectam as larvas de moscas-das-frutas quando elas saem do fruto para empupar no solo (Leite, 2016.).

O ciclo de desenvolvimento dos NEP apresenta três fases: ovo, juvenil e adulto. Durante a fase juvenil, os nematoides passam por quatro estádios, conhecidos como J1, J2, J3 ou J4, sendo J1 o estágio infectante. Um aspecto em que se diferem às famílias, é a primeira geração, na qual os heterorhabdítideos dão origem apenas a fêmeas

hermafroditas que produzirão os demais estádios, somente a partir da segunda geração é que serão produzidos machos e fêmeas (Alves, 1998).

Quanto à localização dos NEP nos ambientes, podem ser facilmente encontrados no solo no terceiro estágio de seu ciclo de vida, conhecida como Juvenil Infectante (JI), que é o J3 fora do cadáver do hospedeiro com a bactéria. Esses, penetram em seus hospedeiros através das aberturas naturais (aparelho bucal, ânus e espiráculos) e os pertencentes à família Heterorhabditidae são capazes de penetrar nos hospedeiros pelo tegumento, levando em seu intestino bactéria simbiote do gênero *Photorhabdus*, enquanto as espécies da família Steinernematidae carregam bactérias do gênero *Xenorhabdus*, que são liberadas, por meio de regurgitação, na hemocele provocando a morte do hospedeiro por septicemia. Essa associação também é benéfica para a bactéria, visto que, os nematoides oferecem abrigo e transporte para as mesmas fora do corpo do inseto até que um novo hospedeiro seja encontrado (Leite, 2016).

O papel das bactérias nessa simbiose é justamente tornar os nutrientes do hospedeiro disponíveis para os nematoides. Além disso, essas bactérias produzem substâncias antibióticas que inibem o crescimento de outras bactérias e também produzem um pigmento, que é característico de cada gênero, que facilita na identificação sendo Steinernematidae uma variação de bege até bege escuro, e Heterorhabditis uma variação entre vermelho e laranja escuro (Mráček; Spitzer, 1983).

Assim que os recursos acabam, os J3 pegam as células bacterianas. Alojamos no sistema digestório, saem do cadáver e vão em busca de novos hospedeiros para iniciar o ciclo novamente (Dolinski; Lacey, 2007; Labaude; Griffin, 2018; Lacey et al., 2015). Os nematoides quando estão em busca de um novo hospedeiro, se orientam por voláteis ou sinais dissolvidos na água que são liberados por plantas ou até mesmo pelo próprio inseto (Guide et al., 2019). Sendo assim, quando se utiliza nematoides entomopatogênicos nativos, a adaptação e longevidade entre o mesmo e o solo é mais favorável.

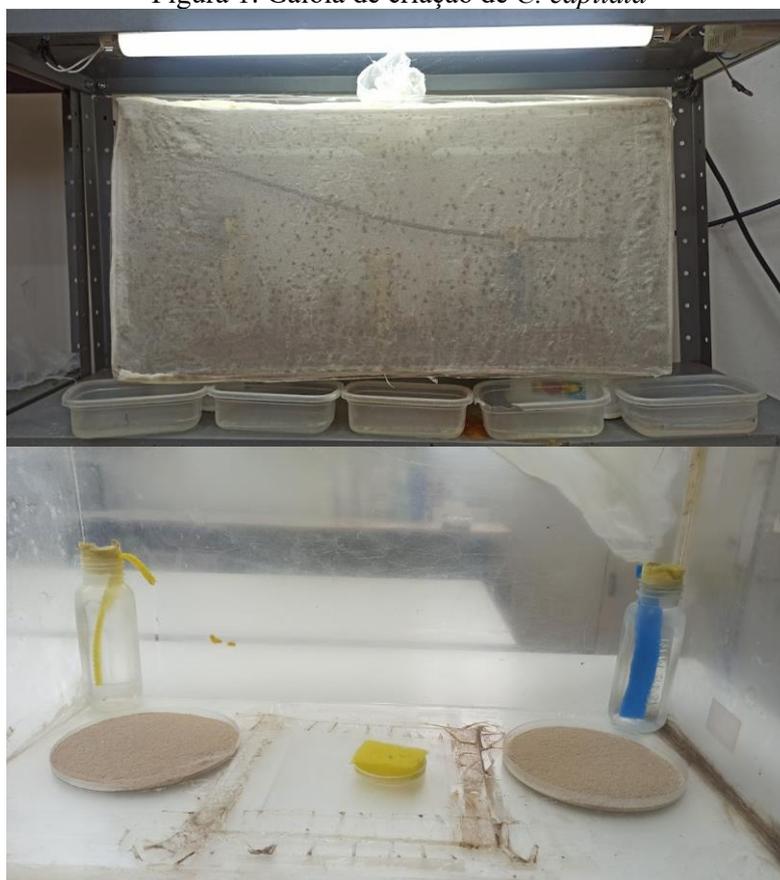
## 5. MATERIAL E MÉTODOS

Todas as criações foram realizadas e mantidas no Laboratório de Patologia e Controle Microbiano de Insetos do Departamento de Entomologia da Universidade Federal de Lavras – (DEN/ESAL/UFLA).

### Criação de *Ceratitis capitata*

Os adultos são mantidos em gaiolas de acrílico (60x31x30 cm) com uma das faces revestida com tecido *voil*, onde as moscas fazem a postura. Na face superior foi feito um furo de aproximadamente 20cm e foi colocado um pedaço de *voil* em forma de manga para facilitar a manipulação no dentro da gaiola (Figura 1).

Figura 1: Gaiola de criação de *C. capitata*



No interior da gaiola, foram colocadas garrafas plásticas de 250 mL com água destilada e fita absorvente (Spontex®) como bebedouro para as moscas adultas, além de três placas de Petri (9x1,5cm): duas com alimento (mistura de levedo de cerveja e açúcar cristal na proporção de 1:4) e uma com esponja contendo solução de mel a 30% como fonte de proteína.

Do lado de fora da gaiola, na parte superior foi colocada uma lâmpada de LED/gaiola para atrair as moscas para ovipositarem no *voil*. Já na parte inferior, foram colocadas vasilhas de plástico (20x5x3,5cm), mantidas com água para contenção dos ovos. A coleta dos ovos foi realizada a cada 24 horas passando o pincel suavemente sobre o *voil* para que os ovos caíssem na vasilha com água. O líquido contendo os ovos foi colocado em Becker, onde os ovos decantavam, e com o auxílio de uma seringa foi recolhido 0,7 mL de suspensão de ovos. Os ovos coletados foram colocados em recipientes contendo 250 gramas de dieta artificial fechados com papel alumínio, evitando a dessecação de ovos. A dieta artificial utilizada foi adaptada de Albajes e Santiago-Álvarez (1980), e seus componentes estão detalhados na Tabela 1.

Tabela 1: Composição da dieta artificial consumida pelas larvas de *C. capitata*

COMPONENTES	QUANTIDADES
Áçúcar	308g
Água	1.700ml
Benzoato de sódio	11g
Farelo de trigo	1.100g
Levedura de cerveja	159,7g
Metilparaben (nipagin)	12,32g
Propilparabeno sódico	12,32g

### Manutenção dos NEP

Para a manutenção do banco de nematoides entomopatogênicos, foram utilizadas lagartas de *Galleria mellonella* (Lepidoptera: Pyralidae) para multiplicação dos mesmos. As mariposas foram colocados em recipientes de vidro com tampa plástica de rosca, contendo em seu interior folhas de papel dobradas em formato de sanfona para postura. Uma semana depois os adultos foram descartados e o papel contendo os ovos foram transferidos para potes plásticos. Esses potes foram forrados com folhas de papel e foi colocado tecido *voil* na parte superior e em seguida foi fechado com tampa sem furos. Foi fornecida dieta artificial adaptada de Dolinski (2005), os componentes estão detalhaos na Tabela 2.

Tabela 2: Composição da dieta artificial consumida pelas lagartas de *G. mellonella*

COMPONENTES	QUANTIDADES
Farelo de trigo	200g
Farinha de trigo	200g
Gérmen de trigo	200g
Glicerina	130g
Leite em pó desnatado	400g
Levedura de cerveja	120g
Mel	240g

Quando as lagartas atingiram o terceiro ínstar, foram movidas para um recipiente plástico diferente, o qual possuía tampa com pequenos furos, estando revestido com folhas de papel. A dieta foi disponibilizada conforme necessário, seguindo até a conclusão de seu desenvolvimento ou até serem destinadas à multiplicação dos NEP. Os adultos emergidos foram coletados e, por meio de um tubo de vidro, transferidos para potes de vidro com tampa, visando a manutenção da criação. A manutenção ocorreu em dias intercalados, com a devida higienização dos recipientes.

Para a multiplicação dos NEP, foram dispostas dez lagartas de *G. mellonella*, todas no sexto ínstar, em uma placa de Petri (9x1,5 cm) contendo dois papeis filtro (90 mm), sobre a qual foram aplicados 2 mL de uma suspensão aquosa com aproximadamente 200 JI/lagarta. Essas placas ficaram reservadas em uma câmara climatizada ( $25 \pm 1^\circ\text{C}$ , UR  $70 \pm 10\%$ , 12 horas de fotofase). Após 96 horas, as lagartas que morreram foram transferidas para placas de Petri (9x1,5 cm), revestidas com papel filtro (90 mm), excluindo a presença dos NEP, onde permaneceram para o desenvolvimento dos nematoides.

Passados sete dias, as lagartas foram movidas para uma armadilha de White modificada, composta por uma placa de Petri de plástico (9x1 cm) com um pedaço de material acrílico fixado no centro. Essa placa foi forrada com uma folha de papel filtro (90 mm) e 3 mL de água destilada foram adicionados. Os JI deixavam a cadáver do hospedeiro e migravam para a água destilada no fundo da armadilha.

A coleta dos NEP foi realizada por meio de uma proveta de 1000 mL, sobre a qual o conteúdo da armadilha de White foi despejado. O volume da proveta foi completado com água destilada. Essa suspensão permaneceu na proveta por 24 horas para

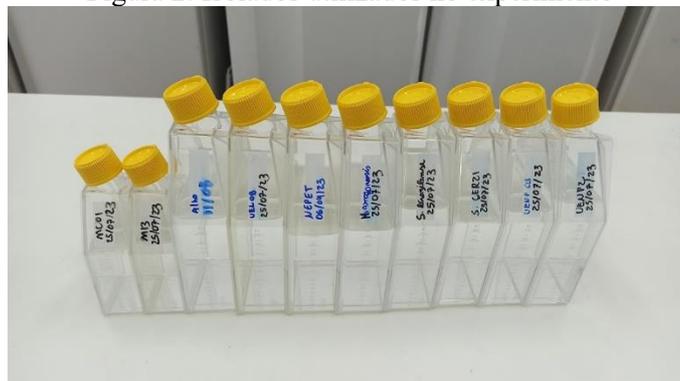
decantação e lavagem dos nematoides. Após esse período, o sobrenadante foi descartado, e a suspensão de NEP foi transferida para frascos de cultura de tecido com capacidade de 250 mL, sendo acrescentada água destilada até atingir o volume desejado. Esses frascos foram mantidos em uma câmara climatizada ( $16 \pm 1^\circ\text{C}$ , UR  $70 \pm 10\%$ , no escuro) por até uma semana, aguardando a montagem dos bioensaios.

## Bioensaio

Todas as etapas para a realização do bioensaio foram realizadas no Laboratório de Patologia e Controle Microbiano de Insetos do Departamento de Entomologia da Universidade Federal de Lavras – (DEN/ESAL/UFLA).

Para a execução deste trabalho foram utilizados os nematoides *H. amazonensis* isolados UEL07; UEL08; UENP2; MC01; GL (Alho); NEPET; RSC05; *Heterorhabditis* sp. M13, UENP3; e *Steinernema* sp. CER21 do banco de microrganismos entomopatogênicos do mesmo laboratório (Figura 2).

Figura 2: Isolados utilizados no experimento



Foram utilizadas 15 placas de Petri de 5 cm de diâmetro, contendo 3 papéis filtro; em cada placa foram colocadas 10 lavras de *C. Capitata* de terceiro instar. Em seguida foi aplicado 1mL de suspensão aquosa ,contendo NEP, na concentração de 100 JI/inseto.

O experimento foi conduzido em uma câmara climatizada, com temperatura mantida a  $25 \pm 1^\circ\text{C}$ , umidade relativa de  $70 \pm 10\%$  e um ciclo de luz de 12 horas. A avaliação foi realizada durante cinco dias após o início do experimento, e a confirmação da mortalidade foi obtida por meio da observação dos sintomas apresentados e dissecadas posteriormente (Figura 3).

Figura 3: Nematoides presentes no interior da larva infectada após a dissecação

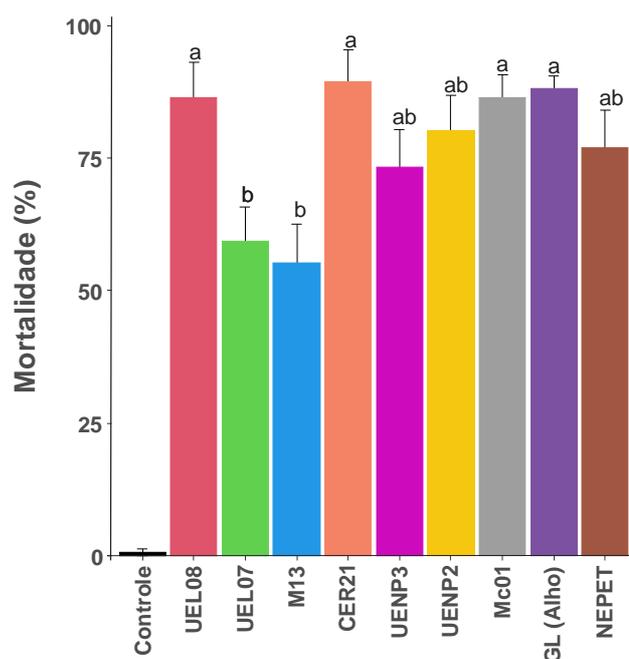


Para análise dos dados, esses foram submetidos ao teste quanto a normalidade e a homoscedasticidade. Após isso, foram submetidos a modelos lineares generalizados (GLM) seguidos pelo teste de Tukey a 5%.

## 6. RESULTADO E DISCUSSÃO

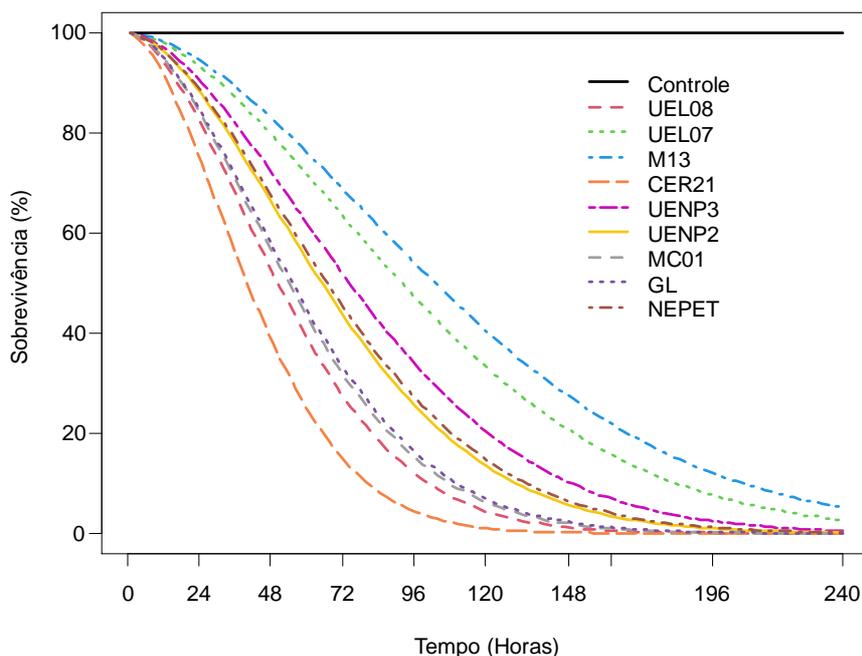
Todos os isolados avaliados foram patogênicos as larvas de *C. Capitata* ( $X^2=369,08$   $df=126$   $p<0,001$ ). O isolado CER21 foi o que teve melhor desempenho, causando a maior porcentagem de mortalidade larvas de *C. capitata*, alcançando 89,3%. Estatisticamente os isolados CER21, GL (Alho), UEL08, MC01, UENP2, NEPET e UENP3, foram semelhantes. Com exceção do CER21, todos são pertencentes ao gênero *Heterohabditis*. Além disso, não houve diferença na porcentagem de mortalidade quando comparado os dois gêneros. Já os isolados UEL07 e M13, foram os que alcançaram menor porcentagem de morte, 59,2% e 55,2% respectivamente, porém estatisticamente não se diferem dos isolados UENP3, NEPET e UENP2. Já em relação a testemunha, todos os tratamentos tiveram resultados satisfatórios, como visto na figura 4.

Figura 4: Mortalidade de larvas de *C. capitata* infectadas por diferentes isolados nativos de nematoides entomopatogênicos.



A análise de sobrevivência das larvas de *C. capitata* expostas aos isolados, mostrou que o  $TL_{50}$  do CER21 foi de 39,1 horas, diferenciando-se dos demais isolados ( $X^2 = 720,67$ ,  $df = 9$ ,  $p < 0,001$ ). Dentre os heterorhabdídios, o isolado UEL08 se destacou dos demais, com  $TL_{50}$  de 52,2 horas. Já os isolados M13 e UEL07 além de terem matado menos, demoraram mais tempo para matar, precisando de 85,8 e 78,4 horas respectivamente, com isso a análise de sobrevivência pode ser vista na figura 5.

Figura 5: Análise de sobrevivência das larvas de *C. capitata* expostas aos isolados



A mortalidade causada pelo gênero *Steinernema*, não teve diferença, quando comparada com a mortalidade do gênero *Heterohabditis*. A faixa média ideal de tempo gasto para matar o hospedeiro varia de 24 à 72h, para os dois gêneros, sendo assim, apenas os isolados UENP3, UEL07 e M13 tiveram resultados fora desse parâmetro, levando mais que 72 horas para matar o hospedeiro.

A utilização de isolados nativos é favorecida pela adaptação natural desses nematoides, sendo que, se caso utilizados em diferentes regiões com condições ambientais e climáticas diferentes daquelas do local de origem, podem não serem eficientes. Para isso, é importante testar não somente a capacidade dos isolados de matarem pragas agrícolas, mas também testar sua adaptabilidade aos locais que serão utilizados (Afiza 2022).

Os isolados UEL08, UEL07, M13, CER21, UENP3, UENP2, MC01, NEPET e GL (Alho) são nativos do Brasil (Fernandes et al., 2021; Guide et al., 2022). Porém, não significa que todos são adaptados à todas as regiões do país, e por isso deve-se fazer testes para verificar a eficiência do controle. Esse é o primeiro relato desses isolados em larvas de *C. capitata*, com exceção de GL (Alho) e NEPET que já tiveram sua patogenicidade registrada para esses tefritídeos (Souza, 2020).

A patogenicidade do complexo NEP-bactéria em outros hospedeiros e em diferentes concentrações já foi avaliada. Pesquisas já comprovaram que estes organismos,

possuem uma ampla gama de hospedeiros, incluindo aproximadamente 17 ordens e 135 famílias de insetos em diferentes estágios de vida (Rohde, 2007). No caso do uso para coleópteros, estudos demonstraram que os melhores resultados para *Rhynchophorus palmarum* foram causados por nematoides do gênero *Steinernema*. Para isso, foram utilizadas suspensões aquosas dos isolados *Steinernema carpocapsae*, *S. Feltiae* e *S. brasiliense* contendo 100JI/larva de *Rhynchophorus palmarum* (Patricia et al., 2018).

Em relação aos heterorhabditídeos, trabalhos abordam sobre a virulência e o tempo letal do isolado *Heterorhabditis* sp. Alho, mostrando que a maior taxa de mortalidade para larvas de *C. capitata* está entre 12 e 24 horas. Além disso, causou elevada mortalidade as larvas de acordo com as concentrações utilizadas.

Diante disso, vê-se que a possibilidade de utilizar isolados nativos é uma alternativa dentro do manejo integrado de pragas, e deve ser testada previamente no local que será utilizado para avaliar a adaptabilidade, sobrevivência e longevidade dos NEP. Para que assim, possa definir-se a dose da solução e também o número de aplicações necessárias para o controle efetivo de *C. capitata*.

## 7. CONCLUSÕES

Diante do exposto, concluiu-se que todos os isolados de nematoides entomopatogênicos são patogênicos às larvas de *C. capitata*, sendo o isolado CER21, *Steinernema*, o mais virulento, causando a maior percentagem de morte das larvas e assim, teve o melhor desempenho.

Também concluiu-se que os nematóides pertencentes ao gênero *Steinernema* leva menos tempo que o *Heterohabditis* para matar o hospedeiro, e que todos isolados com exceção do UENP3, UEL07 e M13, levaram menos de 72 horas para matar o hospedeiro.

## REFERÊNCIAS

- Andaló, V., Pablo, J., Acevedo, M., Santo, A., Júnior, N., & Dalbon, V. A. (2019). *Entomopathogenic Nematodes*. [https://doi.org/10.1007/978-3-030-24733-1\\_10](https://doi.org/10.1007/978-3-030-24733-1_10)
- Barboza, V. P., Paranhos, B. A. J., & Silva Junior, J. C. (2023). Influence of remating on sterile insect technique in *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae): a molecular approach. *Revista Caatinga*, 36(3), 553–560. <https://doi.org/10.1590/1983-21252023v36n308rc>
- Blank, F. J., Dorigon, L., Schmitz, A., & Gabriel, V. J. (2022). ESTRATÉGIAS DE CONTROLE DAS MOSCAS- DAS- FRUTAS, ESPÉCIES *Anastrepha fraterculus* E *Ceratitis capitata* EM POMARES DOMÉSTICOS. *Revista Conexão*. <https://revistas.uceff.edu.br/conexao/article/view/138>
- Borba, M. da C., Ramos, J. E. S., Barros, J. E. M., & Machado, J. A. D. (2023). A difusão de tecnologias no meio agrícola na Caatinga – a região de clima semiárido brasileiro. *Interações (Campo Grande)*, 24, 69–93. <https://doi.org/10.20435/INTER.V24I1.3767>
- Braga Silva, S., Sato, M., Raga, A., & Científico, P. (2019). *DIVULGAÇÃO CIENTÍFICA USO DE EXTRATOS NATURAIS NO CONTROLE DE INSETOS, COM ÊNFASE EM MOSCAS-DAS-FRUTAS (DIPTERA: TEPHRITIDAE)*. 1, 1–30. <https://doi.org/10.31368/1980-6221v80a10002>
- Contreras-Miranda, J. A., Piovesan, B., Bernardi, D., & Nava, D. E. (2023). Search hours for food attractant by *Anastrepha fraterculus* and *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae) adults in guava orchards. *Anais Da Academia Brasileira de Ciências*, 95(2), e20201880. <https://doi.org/10.1590/0001-3765202320201880>
- da Silva, A. C., Batista Filho, A., Leite, L. G., Tavares, F. M., Raga, A., Schmidt, F. S., por Luiz Carlos Ferraz Resumo -Silva, E. C., Batista Filho, A., Leite, L., Tavares, F., Raga, A., Schmidt, F., & -Silva, S. (n.d.). *Nematologia Brasileira Piracicaba (SP) Brasil Efeito de Nematoides Entomopatogênicos na Mortalidade da Mosca-do-Mediterrâneo, Ceratitis capitata, e do Gorgulho-da-goiaba, Conotrachelus psidii*.
- Dolinski, C., & Lacey, L. A. (2007). Microbial control of arthropod pests of tropical tree fruits. *Neotropical Entomology*, 36(2), 161–179. <https://doi.org/10.1590/S1519-566X2007000200001>
- Garrigós Leite, L. (n.d.). *TECNOLOGIA SUSTENTÁVEL NEMATÓIDES CONTRA INSETOS*.
- Gonzaga, K. S., de Brito, C. H., Salustino, A. da S., de Souza, M. Í. A., Santos, J. P. d. O., & Sousa, F. de A. R. d. M. (2023). Repellent activity of essential oils against mediterranean fly and their effects on postharvest quality in paluma guava. *Revista Caatinga*, 36(2), 280–290. <https://doi.org/10.1590/1983-21252023V36N205RC>
- Guide, B. A., Alves, V. S., Fernandes, T. A. P., Marcomini, M. C., Meneghin, A. M., & Neves, P. M. O. J. (2019). Patogenicidade e virulência de nematoides entomopatogênicos contra *Dichelops melacanthus* Dallas (Hemiptera: Pentatomidae). *Semina: Ciências Agrárias*, 40(4), 1417–1426. <https://doi.org/10.5433/1679-0359.2019v40n4p1417>
- Harbi, A., Beitia, F., Ferrara, F., Chermiti, B., & Sabater-Muñoz, B. (2018). Functional response of *Diachasmimorpha longicaudata* (Ashmead) over *Ceratitis capitata* (Wiedemann): Influence of temperature, fruit location and host density. *Crop Protection*, 109, 115–122. <https://doi.org/10.1016/J.CROPRO.2018.03.010>
- Labaude, S., & Griffin, C. T. (2018). Transmission Success of Entomopathogenic Nematodes Used in Pest Control. *Insects*, 9(2). <https://doi.org/10.3390/INSECTS9020072>
- Lacey, L. A., Grzywacz, D., Shapiro-Ilan, D. I., Frutos, R., Brownbridge, M., & Goettel, M. S. (2015). Insect pathogens as biological control agents: Back to the future. *Journal of*

*Invertebrate Pathology*, 132, 1–41. <https://doi.org/10.1016/J.JIP.2015.07.009>

- Marques, D. (2023). EFEITO DO ÓLEO ESSENCIAL DE CITRONELA E PRODUTO À BASE DE NEEM SOBRE PUPAS DE *Ceratitis capitata* (DIPTERA: TEPHRITIDAE). 2023.
- Mingoti, R., Peres, M. C., Pessoa, Y., Pereira, C. C., Marinho-Prado, J. S., Antonio, M., Gomes, F., De Aguiar, B., & Paranhos, G. (n.d.). ZONEAMENTOS TERRITORIAIS DE ÁREAS FAVORÁVEIS A *Diachasmimorpha longicaudata* VISANDO BIOCONTROLE DA PRAGA QUARENTENÁRIA AUSENTE *Anastrepha curvicauda*.
- Mráček, Z., & Spitzer, K. (1983). Interaction of the predators and parasitoids of the sawfly, *Cephalcia abietis* (Pamphilidae: Hymenoptera) with its nematode *Steinernema kraussei*. *Journal of Invertebrate Pathology*, 42(3), 397–399. [https://doi.org/10.1016/0022-2011\(83\)90181-7](https://doi.org/10.1016/0022-2011(83)90181-7)
- Oliveira, R. B. de, & Henkes, J. A. (2023). UMA ANÁLISE SOBRE PRODUÇÃO, COMERCIALIZAÇÃO E EXPORTAÇÃO DE MAÇÃS BRASILEIRAS: CENÁRIO ATUAL E DESAFIOS : AN ANALYSIS ON THE PRODUCTION, MARKETING AND EXPORT OF BRAZILIAN APPLES: CURRENT SCENARIO AND CHALLENGES. *Revista UNICREA - Revista Técnico Científica Da Universidade Corporativa Do CREA/SC*, 1(2), 252–272. <https://revistaunicrea.crea-sc.org.br/index.php/revistaunicrea/article/view/34>
- Paranhos, B. A. J., Souza do Nascimento, A., Rabelo Barbosa, F., Viana, R., Sampaio, R., Malavasi, A., Marcos Melges Walder, J., Agrônoma -Pesquisadora Embrapa Semi-Árido, E., & Agrônomo -Pesquisador, E. (2008). TÉCNICA DO INSETO ESTÉ-RIL: Nova Tecnologia para Combater a Mosca-das-Fru-tas, *Ceratitis capitata*, no Submédio do Vale do São Francisco Comunicado Técnico. *Comunicado Técnico* 137, 5.
- Paranhos, B. J., Nava, D. E., & Malavasi, A. (2019). Biological control of fruit flies in Brazil. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 54, e26037. <https://doi.org/10.1590/S1678-3921.PAB2019.V54.26037>
- Pereira, E., & Júnior, C. (n.d.). UNIVERSIDADE FEDERAL DO VALE DO SÃO FRANCISCO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA AGRÍCOLA ANÁLISE DA FLUTUAÇÃO POPULACIONAL DE *Ceratitis capitata* (DIPTERA: TEPHRITIDAE) EM TRÊS PROPRIEDADES NO MUNICÍPIO DE PETROLINA, PERNAMBUCO.
- Raga, A., Mário, <sup>1</sup> ;, & Sato, E. (n.d.). Instituto Biológico-APTA Controle Químico de Moscas-das-Frutas. Retrieved November 12, 2023, from [www.biológico.sp.gov.br](http://www.biológico.sp.gov.br)
- Raga, A., & Sato, M. E. (2016). Controle químico de moscas das frutas. *Bioscience Journal*, 32(4), 881–889.
- Robson, M., & Di, P. (n.d.). COMISSÃO ORGANIZADORA DO EVENTO.
- Rohde, C. (2007). AVALIAÇÃO DE NEMATÓIDES ENTOMOPATOGÊNICOS (RHABDITIDA) PARA O CONTROLE DA MOSCA-DAS-FRUTAS *Ceratitis capitata* (WIEDEMANN) (DIPTERA: TEPHRITIDAE).
- Santos de MINAS, R., DOLINSKI, C., Silva CARVALHO, R. da, & Moreira de SOUZA, R. (2011). CONTROLE BIOLÓGICO DA MOSCA-DO-MEDITERRÂNEO *Ceratitis capitata* UTILIZANDO NEMATÓIDES ENTOMOPATOGÊNICOS EM LABORATÓRIO. *Scientia Agraria*, 12(2). <https://doi.org/10.5380/RSA.V12I2.33822>
- Santos, M. (2018). DESCRIÇÃO DE NOVAS ESPÉCIES DE ÁCAROS EDÁFICOS DA FAMÍLIA RHODACARIDAE E PREDACÃO DE *Ceratitis capitata* (DIPTERA: TEPHRITIDAE) COM *Macrocheles roquensis* MENDES & LIZASO (ACARI: MACROCHELIDAE). *EPPO Bulletin*, 17(3), 87. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2338.1987.tb00059.x>

- Souza, M. (2020). *INTERAÇÃO DE NEMATOIDES ENTOMOPATOGÊNICOS COM O PARASITOIDE Diachasmimorpha longicaudata (HYMENOPTERA: BRACONIDAE) PARA O CONTROLE DE Ceratitis capitata (DIPTERA: TEPHRITIDAE)*.
- Victor, J., Alves Costa, T., Francisco De Souza-Filho, M., Borges, A. K., Matos, T., Ferreira Brito, C., Diniz Costa, M., & Adaime, R. (n.d.). Society and Development. *Research*. <https://doi.org/10.33448/rsd-v11i10.32879>
- VIDAL QUIST, J. C. (2010). Estrategias para la utilización de la bacteria entomopatógena *Bacillus thuringiensis* (Berliner) en el control de *Ceratitidis capitata* (Wiedemann) [Universitat Politècnica de València]. In *Riunet*. <https://doi.org/10.4995/Thesis/10251/8336>
- Vitor, J., & Santana, F. (n.d.). *Efeitos econômicos da fruticultura irrigada no Nordeste GOIÂNIA 2023*.