UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS

Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel

Programa de Pós-Graduação em Fitossanidade

Dissertação

Nematoides entomopatogênicos e sua compatibilidade com inseticidas químicos no controle de *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae)

Maguintontz Cedney Jean-Baptiste

Pelotas, 2020

Maguintontz Cedney Jean-Baptiste

Nematoides entomopatogênicos e sua compatibilidade com inseticidas químicos no controle de *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae)

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Fitossanidade da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Fitossanidade (Área de conhecimento: Entomologia Agrícola)

Orientador: Dr. Flávio Roberto Mello Garcia

Coorientadora: Drª. Andressa Lima de Brida

Coorientador: Dr. Daniel Bernardi

Pelotas, 2020

Universidade Federal de Pelotas / Sistema de Bibliotecas
Catalogação na Publicação

J43n Jean-Baptiste, Maguintontz Cedney

Nematoides entomopatogênicos e sua compatibilidade com inseticidas químicos no controle de *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae) / Maguintontz Cedney Jean-Baptiste ; Flávio Roberto Mello Garcia, orientador ; Andressa Lima de Brida, Daniel Bernardi, coorientadores. — Pelotas, 2020.

58 f.

Dissertação (Mestrado) — Programa de Pós-Graduação em Fitossanidade, Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, 2020.

1. *Heterorhabditis*. 2. *Steinernema*. 3. Praga de frutíferas. 4. Inseticidas químicos. I. Garcia, Flávio Roberto Mello, orient. II. Brida, Andressa Lima de, coorient. III. Bernardi, Daniel, coorient. IV. Título.

CDD : 636.2

Elaborada por Gabriela Machado Lopes CRB: 10/1842

Banca examinadora:

Prof. Dr. Flávio Roberto Mello Garcia (orientador)

Doutor em Zoologia pela Pontíícia Universidade Católica do Rio Grandedo do Sul

Profª. Drª. Andressa Lima de Brida

Doutora em Agronomia pela Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho

Dr. Cesar Bauer Gomes

Doutor em Agronomia pela Universidade Federal de Viçosa

Dr. Jader Ribeiro Pinto

Doutor em Fitossanidade pela Universidade Federal de Pelotas

Aos meus pais Pleurima e Marie-Claude e a minha tia Analouise, pelo carinho, atenção, incentivo e suporte constante.

DEDICO E OFEREÇO

Agradecimentos

A Deus pela vida pela proteção e por esta oportunidade por seu amor e por direcionar-me sempre ao melhor caminho.

Agradecimento especial ao meu orientador Dr. Flávio Roberto Mello Garcia, aos meus coorientadores Drª. Andressa Lima de Brida e Dr. Daniel Bernardi, pela confiança, oportunidade, privilégio de fazer parte de seus laboratórios (LABEI) e (LABIO) e de trabalhar sob sua orientação. Nunca poderei agradecer vocês o suficiente pela chance que me destes.

A CAPES-OAS pela bolsa de estudos e a Universidade Federal de Pelotas (UFPel).

Ao coordonador do Programa de Pós-Graduação Fitossanidade Moisés João Zotti.

Ao Dr. Luis Garrigós Leite e Drª. Silvia Renata Siciliano Wilcken pelo fornecimento dos nematoides entomopatogênicos e doutorando Juliano de Bastos Pazini, pela disponibilização dos inseticidas químicos.

Aos meus pais Peurima Jean-Baptiste e Marie-Claude Joseph por afeição e assistência moral, sempre transmitindo força e coragem e minha tia Ana-Louise Joseph que com incentivo em todos os momentos difíceis me fez sempre acreditar que iria valer à pena.

Aos meus irmãos, minhas primas e amigos pelo apoio e presença cotidiana.

A todos os meus amigos e colegas Maicon Machado, Ericma Avila Dos Santos, Javier Antonio Contreras.

Aos colegas de Laboratório de Ecologia dos Insetos (LABEI).

A doutoranda Liliane Nachtigall Martins por seu apoio na criação e manutenção de espécimes de *Ceratitis capitata.*

A todos os professores UFPel, especialmente aqueles do PPGFs por ter participado na minha formação no Brasil.

Para todos aqueles que participaram de uma forma ou de outra na minha vida acadêmica escolar e na realização deste trabalho.

Muito obrigado todos!

Resumo

JEAN-BAPTISTE, Maguintontz Cedney. **Nematoides entomopatogênicos e sua compatibilidade com inseticidas químicos no controle de *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae)**. Orientador: Flávio Roberto Mello Garcia. 2020. 58f. Dissertação (Mestrado) Programa de Pós-graduação em Fitossanidade. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

Ceratitis capitata (Wiedemann, 1824), é considerada como uma das principais pragas da fruticultura mundial devido os danos diretos e indiretos nos frutos. Dentre as estratégias para manejo, o controle biológico com a utilização nematoides entomopatogênicos (NEPs) isolado ou associado com produtos fitossanitários, pode auxiliar no manejo deste inseto. O objetivo do estudo foi avaliar a eficiência de nematoides entomopatogênicos (NEPs) sobre pupas de *C. capitata* e a sua compatibilidade com diferentes inseticidas químicos registrados para o manejo da praga. Para tanto, foram realizados cinco bioensaios em delineamento inteiramente casualizado. No primeiro, foi avaliada a patogenicidade de seis isolados de *Heterorhabditis bacteriophora* HB, *Heterorhabditis amazonensis* IBCB-n24*, Steinernema carpocapsae* IBCB-n02, *Steinernema rarum* PAM-25, *Steinernema glaseri* IBCB-n47, *Steinernema brazilense* IBCB-n06. No segundo, foram determinados as concentrações letais dos isolados mais ativos (*H. bacteriophora* HB e *S. brazilense* IBCB-n06) sobre pupas de *C. capitata*, a partir das diferentes concentrações de 0 (controle), 200, 400, 600, 800, 1000, 1200, 1400, 1600 e 1800 JIs/mL. No terceiro foi estudada a compatibilidade dos isolados *H. bacteriophora* HB e *S. brazilense* IBCB-n06 com dez inseticidas quimicos comerciais®, Malathion®, Vertimec®, Decis®, Azamax®, Actara®, Delegate®, Imidan®, Mospilan® e Rimon®, utilizados no controle da espécie mediante as avaliações dos parâmetros de viabilidade e infectividade dos JIs sobre pupas. No quarto bioensaio, foi avaliado a longevidade de adultos de *C. capitata* após infecção de *H. bacteriophora* HB (600 JIs/mL) e *S. brazilense* IBCB-n06 (1000 JIs/mL) com inseticidas mais compatíveis. Todos os bioensaios foram realizados em laboratório em BODs a 25 ± 1 ºC e UR 70 ± 10%, fotoperiodo de 12 horas. Os isolados *H. bacteriophora* HB *e S. brazilense* IBCB-n06, na concentração de 1000JIs/mL, apresentaram a maior patogenicidade sobre pupas de *C. capitata* com taxa de mortalidade de 70 e 80%, respectivamente. As concentrações de 600 e 1000 JIs/mL ocasionaram as mortalidades de 58 e 74% de pupas infectadas por nematoides, com virulência de 317,77 e 917,08 Jls, respectivamente. Os inseticidas Malathion®, Delegate®, Imidan®, Mospilan® e Rimon® foram considerados compatíveis com nematoides *H. bacteriophora* HB (600 JIs/mL) e *S. brazilense* IBCB-n06 (1000 JIs/mL) por não afetarem a viabilidade e a infectividade dos nematoides (viabilidade superior a 95% e infectividade acima de 70%), proporcionando mortalidade de pupas de *C. capitata* acima de 80% em todas as misturas (isolado de nematoide + inseticida). O isolado *H. bacteriophora* HB em mistura com o insetida Mospilan®, proporcionou o maoir número de JIs (aproximadamente 141,5 JIs). Da mesma forma, ao avaliar a longevidade de adultos

de *C. capitata*, foi verificado que a sobrevivência dos insetos foi igual ou infeiror à três dias. Frente aos resultados, conclui-se que os isolados *H. bacteriophora* HB *e S. brazilense* IBCB-n06 apresentam elevada patogenicidade sobre pupas de *C. capitata,* por causar elevada mortalidade ou afetar negativamente o desenvolvimento da espécie. Além disso, os inseticidas Malathion®, Delegate®, Imidan®, Mospilan® e Rimon® são compatíveis com os nematoides *H. bacteriophora* HB (600 JIs/mL) *e S. brazilense* IBCB-n06 (1000 JIs/mL) o que é de suma importância para viabilizar programas que visam o manejo integrado de *C. capitata.*

Palavras-chave: *Heterorhabditis. Steinernema*. Praga de frutíferas. Inseticidas químicos.

Abstract

JEAN-BAPTISTE, Maguintontz Cedney. **Nematoides entomopatogênicos e sua compatibilidade com inseticidas químicos no controle de *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae)**. Advisor: Flávio Roberto Mello Garcia. 2020. 58f. Dissertation (Master's) Graduate Program in Plant Health. Federal University of Pelotas, Pelotas.

Ceratitis capitata (Wiedemann, 1824), is considered to be one of the main pests of fruit production worldwide due to the direct and indirect damage to the fruits. Among the management strategies, biological control with the use of entomopathogenic nematodes (EPNs) isolated or associated with phytosanitary products, can help in the management of this insect.The objective of the study was to evaluate the efficiency *Heterorhabditis bacteriophora* HB and *Steinernema brazilense* IBCB-n06 one pupae of *C. capitata* and their compatibility with different chemical insecticides registered for the management of the pest. Therefore, five bioassays were carried out in a completely randomized design. In the first, the pathogenicity of six isolates belonging to the species *Heterorhabditis bacteriophora* HB, *Heterorhabditis amazonensis* IBCB-n24, *Steinernema carpocapsae* IBCB-n02, *Steinernema rarum* PAM-25, *Steinernema glaseri* IBCB-n47, *Steinernema brazilense* IBCB n-06 were evaluated. In the second, the lethal concentrations of the most active isolates (*H. bacteriophora* HB and *S. brasilense* IBCB-n06) one pupae of *C. capitata* were determined based on the different concentrations of 0 (control), 200, 400, 600 , 800, 1000, 1200, 1400, 1600 and 1800 IJs/mL. In the third, the compatibility of the *H. bacteriophora* HB and *S. brasilense* IBCB-n06 isolates was studied with ten commercial chemical Karate Zeon®, Malathion®, Vertimec®, Decis®, Azamax®, Actara®, Delegate®, Imidan®, Mospilan® and Rimon® used in the control of the species through the evaluations of the parameters of viability and infectivity of the IJs on pupae. In the fourt, the longevity of adults of *C. capitata* after infection of *H. bacteriophora* HB (600 IJs/mL) and *S. brazilense* IBCB-n06 (1000 IJs/mL) with more compatible insecticides was evaluated. All bioassays were performed in the laboratory in BODs at 25 ± 1ºC and UR 70 ± 10%, 12 hour photoperiod. The isolated *H. bacteriophora* HB and *S. brazilense* IBCB-n06 at a concentration of 1000 IJs/mL showed the greatest pathogenicity on pupae of *C. capitata* with a mortality rate of 70 and 80%, respectively. The concentrations of 600 and 1000 IJs/mL caused the mortality of 58 and 74% of pupae infected by nematodes, with virulence of 317.77 and 917.08 IJs, respectively. The Malathion®, Delegate®, Imidan®, Mospilan® and Rimon® were considered compatible with *H. bacteriophora* HB and *S. brazilense* IBCB-n06 nematodes because they did not affect nematode viability and infectivity (viability greater than 95% and infectivity above 70%), providing mortality of *C. capitata* pupae above 80% in all mixtures (nematode + insecticide isolate). However, the *H. bacteriophora* HB isolate in admixture with insecticides Mospilan®, proportioned the largest number of IJs (approximately 141.5 IJs). Similarly, when evaluating the longevity of *C. capitata* adults, it was verified that the insect survival was equal or inferior to three days. Based on the results, it is concluded that the isolates and *H. bacteriophora* HB, *S. brazilense* IBCB-n06 have high pathogenicity on pupae of *C. capitata*, or to cause high mortality adversely affect the development of the species. As well as, the insecticides Malathion®, Delegate®, Imidan®, Mospilan® and Rimon® are compatible with the nematodes *H. bacteriophora* HB

(600 IJs/mL) and *S. brazilense* IBCB-n06 (1000 IJs/mL), which is of paramount importance to enable programs to integrated management of *C. capitata*.

Keywords: *Heterorhabditis. Steinernema*. Pest of fruit. Chemical insecticides.

Lista de Tabelas

Tabela 1- Composição de dieta artificial utilizada para criaçaõ de lagartas de de *Galleria mellonella* (Lepidoptera:Pyralidae) em laboratório..... ..22

Tabela 2- Isolados nativos e exóticos de NEPs (Rhabditida: Heterorhabditidae e Steinernematidae) uilizados nos experimentos 23

Tabela 3- Composição da dieta atificial utilizada para a criação de *Ceratitis capitata* (Diptera:Tephritidae)..... 24

Tabela 4- Produtos fitossanitários usados no estudo de compatibilidade com *Heterorhabditis bacteriophora HB* e *Steinernema brazilense* IBCB-n06 29

Tabela 5- Mortalidade (%) (Média ± erro padrão) de pupas de *Ceratitis capitata* quando exposta a diferentes isolados de NEPs na dosagem de 1000 JIs/mL..... 33

Tabela 6- Mortalidade [(%) (Média ± erro padrão)] número médio de juvenis infectantes emergidos (Média ± erro padrão) de *Ceratitis capitata* exposta na fase de pupa à isolados de *Heterorhabditis bacteriophora* HB e *Steinernema brazilense* IBCB-n06 em diferentes concentrações..... 34

Tabela 7- Viabilidade e infectividade (Média ± erro padrão) de (JIs) *Heterorhabditis bacteriophora* HB após exposição aos produtos fitossanitários (protocolo IOBC/ WPRS modificado)..... 36

Tabela 8- Viabilidade e infectividade (Média ± erro padrão) de (JIs) *Steinernema brazilense* IBCB-n06 após exposição aos produtos fitossanitários (protocolo IOBC/WPRS modificado)..... 37

Tabela 9- Mortalidade e número médio de (JI) emergidos (Média ± erro padrão) de *Ceratitis capitata* exposta na fase de pupa à combinações de isolados de *Heterorhabditis bacteriophora* HB e *Steinernema brazilense* IBCB-n06 com inseticidas químicos..... 38

Tabela 10- Longevidade (dias) (Média ± erro padrão) e número médio de (JIS) emergidos por adultos de *Ceratitis capitata* infectados e não infectados de (JIs) de *Heterorhabditis bacteriophora* HB, e de *Steinernema brazilense* IBCBn06 e em à combinação com inseticidas químicos..... 40

Sumário

1 Introdução 14

2 Nematoides entomopatogênicos (Nematoda: Rhabtida) e sua compatibilidade com inseticidas químicos no controle de *Ceratitis capitata* (Wiedemann,1824) (Diptera: Tephritidae) 20

2.1 Introdução 20

2.2 Material e métodos 22

2.2.1 Criação de *Galleria mellonella* (Linnaeus, 1758) (Lepidoptera: Pyralidae) .. 22

2.2.2 Obtenção e multiplicação de isolados de NEPs 23

2.2.4 Patogenicidade de islolados de NEPs sobre pupas de *Ceratitis capitata* 25

2.2.5 Determinação de concentrações letais de *Heterorhabditis bacteriophora* HB como *Steinernema brazilense* IBCB-n06 a pupas de *Ceratitis capitata* 26

2.2.6 Compatibilidade de *Heterorhabdiitis bacteriophora* HB e *Steinernema* 26

brazilense IBCB-n06 a inseticidas químicos 26

2.2.7 Efieciência de *Heterorhabditis bacteriophora* HB e *Steinernema brazilense* IBCB-n06 em combinações com inseticidas sobre pupas *Ceratitis capitata* 30

2.2.8 Longevidade de adultos de *Ceratitis capitata* pós-infecção de JIs de *Heterorhabditis bacteriophora* HB e *Steinernema brazilense* IBCB-n06 em combinações dos inseticidas 32

2.3 Resultados 32

2.3.1 Patogenicidade de isolados de NEPs sobre pupas de *Ceratitis capitata* 32

2.3.2 Determinação de concentrações letais de *Heterorhabditis bacteriophora* HB como *Steinernema brazilense* IBCB-n06 a pupas de *Ceratitis capitata* 33

2.3.3 Compatibilidade de *Heterorhabditis bacteriophora* HB e *Steinernema* 35

brazilense IBCB-n06 a inseticidas químicos 35

2.3.4 Efieciência de *Heterorhabditis bacteriophora* HB e *Steinernema brazilense* IBCB-n06 em combinações com inseticidas sobre pupas Ceratitis capitata..... 37

2.3.5 Longevidade média (Dias) de adultos e número médio de juvenis infectantes (JIs) de *Ceratits capitata* pós-infecção de JIs de *Heterorhabditis bacteriophora* HB e *Steinernema brazilense* IBCB-n06 em combinações os inseticidas 38

2.4 Discussão..... 41

3 Considerações finais..... 47

4 Referências..... 47

1 Introdução

As moscas-das-frutas (Diptera:Tephritidae) estão entre as principais espécies de insetos-praga da fruticultura mundial e constituem um problema fitossanitário por serem distribuídos em áreas tropicais e subtropicais. Além disso, são um dos maiores grupos de insetos fitófagos que causam perdas economicamente significativas em fruteiras devido aos danos diretos à fruticultura ocasionados pelas fêmeas, sejam por suas características de ovipositar no epicarpo e mesocarpo das frutas ou por comportamento alimentar das larvas provocando apodrecimento interno e inviabilizam o consumo ou uso industrial dos frutos (COSTA *et al*., 2019). Tradicionalmente, a ocorrênçia de infestação inviabilizam a exportação de frutos *in natura* devidos as restruições quarentenárias por países onde essas espécies não estão registradas (NÚÑEZ, 2003; ZUCCHI *et al*., 2004; REYES *et al*., 2019).

Dentre os tefritídeos de importância econômica destacam-se os gêneros *Anastrepha* Schiner 1868, *Bactrocera* Macquart 1835, *Ceratitis* MacLeay 1829 (KORNEYEV, 1999), sendo que o gênero *Anastrepha* possui seis espécies de importância econômica, onde incluem-se *Anastrepha fraterculus*, *Anastrepha grandis*, *Anastrepha obliqua*, *Anastrepha pseudoparallela, Anastrepha striata* e *Anastrepha sororcula* (Diptera: Tephritidae) (ZUCCHI, 2007). Entretanto, o gênero *Ceratitis* MacLeay 1829 é representado por uma espécie principalemente de occorência África Tropical destacando-se *Ceratitis capitata* (Wiedmann, 1824) (Diptera: Tephritidae) (DE MEYER, 2000). Na região Neotropical a mosca do mediterrâneo conhecida como *C. capitata* (Wiedmann,1824) é a espécie mais conhecida como praga introduzida que está entro os insetos frugívoros mais importantes em frutas comerciais, mais cosmopolita e altamente polífaga devido de sua facilidade adaptativa a climas bastante diversos, grande diversidade de hospedeiros, alta capacidade reproditiva e facilidade de dispersão (GODY; PACHECHO; MALAVASI, 2011; JESUS-BARROS *et al*., 2012; SILVA *et al*., 2019).

No Brasil, esta espécie foi registrada no início do século XX mais precisamente no ano de 1901 no estado de São Paulo (ZUCCHI, 2001). Por ser uma espécie multivoltina, é capaz de encontrar hospedeiros durante todo o ano (ZUCCHI, 2000). Contudo, *C. capitata* ocasiona grandes perdas nas atividades hortifrutícolas no Brasil, devido ao fato de ser uma espécie altamente polífaga com registro de

infestação aproximadamebte 374 espécies de espécies de plantas pertencentes a aproximadamente 79 famílias (ALVARENGA e*t al*., 2007). Sua ocorrência é relatada em praticamente todos os estados brasileiros, com destaque as regiões Sul, Sudeste e Nordeste (MALAVASI *et al*., 1980; SILVA; LEMOS; ZUCCHI, 2011). De mesma forma, há registro de *C. capitata* em alguns países da África (por exemplo Argélia, 1858; Tunísia,1885; África do sul, 1889; Egito, 1904; Madagascar, 1915), na Europa (Austrália, 1898; Tasmânia 1900), na América central e Sul (Brasil, 1901; Argentina, 1905; Paraguai, 1951; Costa Rica, 1955; Péru 1956; Equador 1976; Chile, 1963; Panamá, 1963; Salvador, 1975; Guatemala, 1975; México,1977; República Dominicana, 2015), Estados Unidos (Flórida 1929; Texas, 1966; Califórnia, 1975; Hawahii,1910), e no Oriente Próximo (Líbano, 1904; Palestina, 1904) (OEPP/EPPO, 1989; HERNANDEZ-ORTIZ; GUILLÉN-AGUILAR; LÓPEZ, 2010).

A importância econômica das moscas-das-frutas pode variar segundo o país, a região, o hospedeiro e a época do ano. Além dos danos diretos causados pela espécie, o dano indireto, ainda pode ser considerado o mais prejudicial, pois está relacionada ao custo de medidas regulatórias requeridas para exportar frutas frescas para países que a consideram praga quarentenária, tais como os Estados Unidos da América (EUA), o Japão e outros da Ásia (VIRGINO *et al*., 2015). As perdas anuais causadas por *C. capitata* chegam a 2 bilhões de dólares e, somente no Brasil esse valor é de aproximadamente 200 milhões de dólares, envolvendo perdas de frutos e custos alfandegários com o comércio internacional tornando o controle efetivo das moscas-das-frutas uma necessidade global (SILVA *et al*., 2019). Em pomares não tratados, a perda de frutos registrada pode alcançar a 100%, dependendo da espécie cultivada (HERNANDES, 2013).

Tradicionalemente, o controle de moscas-das-frutas tem sido realizado por meio de métodos culturais, métodos mecânicos, técnica do inseto estéril e com produtos fitossantários em aplicação seletiva e por cobertura e/ou na forma de isca tóxica (NASCIMENTO; CARVALHO, 2000; HÄRTER *et al*., 2010). Entretanto outros métodos de controle tais como armadilhas de captura (RAGA; SOUZA-FILHO, 2000), parasitoides conjunta com predadores têm sido utilizados (REYES *et al*., 2000).

O grande sucesso da aplicação de inseticidas sintéticos no controle de pragas agrícolas alcançado a partir da década 1940, onde relegou as pesquisas sobre inimigos naturais a plano secundário. Entretanto, sua rejeição pela sociedade vem aumentando, devido aos seus efeitos negativos sobre os organismos não-alvo, à contaminação das águas, aos resíduos encontrados em alimentos e ao desenvolvimento de resistência em insetos praga, tem conduzido à crescente busca de agentes de controle ecologicamente apropriadas, utilizando microrganismos benéficos que possam eficazmente substituir os produtos fitossanitários (MINAS *et al*., 2011). Dentro deste contexto, uma das alternativas de controle é a utilização de nematoides entomopatogênicos (NEPs), com destaque aos gêneros *Steinernema* e *Heterorhabditis* (GREWAL *et al*., 2001; MAGNABOSCO, 2019). Esta alternativa de manejo mostra-se promissora para o controle de *C. capitata*, sendo que o estágio pupal da espécie ocorre no solo (ZUCCHI, 2000).

Os NEPs pertencem a Ordem Rhabditida (Nematoda: Steinernentea) das famílias Heterorhabditidae e Steinernematidae, são considerados excelentes agentes de controle biológico, demonstrando maior potencialidade em insetos-praga de solo e de ambientes crípticos (ROHDE *et al*., 2012). O ciclo de vida de Steinernematidae tem início quando o juvenil infectante (JI) penetra no inseto pelas aberturas naturais (boca, ânus e espiráculos) ou diretamente através da cutícula (POINAR; GREWAL, 2012), onde libera a bactéria simbiôtica *Xenorhabdus spp*. (Thomas; Poinar, 1979), que se multiplica rapidamente matando o hospedeiro por septicemia no prazo de 24 a 48 horas. Os tecidos do inseto em decomposição servem de alimento para os nematoides, os quais no interior de inseto atinge a fase adulta, e se reproduzem. A fêmea deposita seus ovos, de onde eclodem os juvenis, que da mesma forma sofrem maturação, e reprodução, reiniciando o ciclo até a depredação de cadáver de inseto. Quando a fonte alimentar se esgota os juvenis de segundo estágio de desenvolvimento regurgitam algumas bacérias e abandonam o cadáver do inseto a procura de um novo hospedeiro (POINAR, 1990; ADAMS; NGUYEN, 2002). As fases do ciclo de vida de Steinernematidae inclui o estágio de ovo, quatro ínstares de juvenis e o adulto (SUBRAMANIAN; MUTHULAKSHMI, 2016).

Por outro lado, a família Heterhorabditidae possui um gênero *Heterorhabditis*, apresentando ciclo de vida mais complexo, podendo apresentar hermafrodismo e

afimixa (JOHINGK; EHLERS, 1999). Os NEPs desta família infectam o inseto através da cutícula por meio de um dente corneo (BEDING; MOLYEUX,1982). Ao penetrar, o nematoide libera no interior do inseto a bactéria simbiôtica *Photorhabdus spp.* (Boemare Louise; Kuhl, 1983), causando a morte do hospederio e servindo de alimento aos nematoides. Juvenis de gênero *Heterorhabditis* apresentam comportamento do tipo “cruiser”, pois vagam pela água intersticial do solo até encontrar um inseto, por meio de dióxido de carbono liberado pelo hospedeiro, conseguem localizá-lo e realizar a infecção (GRIFFIN *et al*., 2005; POINAR; GREWAL, 2012).

Os NEPs são encontrados em todos os continentes (exceto na Antártica) e em algumas ilhas, e têm sido utilizados na América do Norte, Europa, Ásia e Austrália para o controle de pragas no solo em diferentes ecossistemas (GREWAL *et al*., 2012). Algumas espécies são consideradas cosmopolitas como *S. carpocapsae*, *S. feltiae* (Filipjev, 1934), *H. bacteriophora* (Poinar, 1976) e *H. indica* (Poinar *et al*.,1992) (BARBOSA-NEGRISOLI *et al*., 2009).

No Brasil, o primeiro registro de NEPs foi de *Neoaplectana glaseri* (Steiner, 1929) (sinônimo júnior de *Steinernema glaseri*) em ovo de *Migdolus fryanulus* (Coleoptera: Cerambycidae) besouro da cana-de-açúcar, encontrado na Usina Amália em Santa Rosa de Viterbo, no Estado de São Paulo (PIZANO *et al.,* 1985). Além disso, *Heterorhabditis sp*. foi relatado em citros no Estado de São Paulo (PAIVA; GARCIA; AGUILLERA, 2003) e *Heterorhabditis baujardi* (Phan; Subbotin; Nguyen; Moens, 2003) no Estado de Rondônia (PHAN *et al.,* 2003; DEL VALLE, 2005). *H. amazonensis* (Andaló, 2006) descrita no Brasil a partir de isolados de amostras de solos do Estado do Amazonas (ANDALÓ; NGUYEN; MOINO JUNIOR, 2006). *Steinernema brazilense* (Nguyen, 2010) foi descrita em amostras de solo do Estado do Mato Grosso (NGUYEN *et al.,* 2010). *S. brazilense*, *Steinernema diaprepesi n. sp*. *S. glaseri*, *Steinernema rarum* (De Doucet, 1986), *H. amazonensis*, *H. indica*, *Metarhabditis rainai*, *Oscheios tipulae* (Lam; Webster, 1971) foram relatadas em áreas agrícolas e vegetação nativa em diferentes regiões brasileiras (ROSA *et al.,* 2013). *S. australe* (Edgington, Buddie, Tymo, Hunt, Nguyen, France, Merino e More), *S. diaprepsi* (Nguyen e Duncan), *S. faltiae* Filipjev, 1934, *S. glaseri* (Steiner, 1929), *S. puertoricense* (Roman e Figueroa, 1994), *S. rarum* (DE DUCET, 1986) e *S. riobrave* (Cabanillas, Poinar e Raulston, 1994), *H. bacteriophora* (Poinar,

1976), *H. baujardi* (Phan *et al*., 2003), *Deladenus siricidicola* (Nematoda: Neotylenchidae) foi registrado para o controle biológico de *Sirex noctilio* (Hymenoptera: Siricidae), praga de *Pinus SPP* (IEDE et al., 1999) e *H. indica* Poinar *et al*., 1992) foram registradas (DOLINSKI *et al*,. 2017; BRIDA *et al*., 2018).

Diversos trabalhos comprovam eficiência de NEPs e vários deles têm relatados resultados de controle satisfatórios, tanto em condições de laboratório, em casa de vegetação quanto no campo sobre diferentes espécies de mosca-das-frutas (Diptera:Tephritidae) como: *A. suspensa* (BEAVERS; CALKINS, 1984), *A. ludens* (TOLEDO *et al*., 2005, 2006), *A. fraterculus* (BARBOSA-NEGRISOLI JR. *et al*., 2009), *Batrocera zonata* (Diptera: Tephritidae) (ATTALLA; FATMA; EWEIS, 2002), *B. Oleae* (Diptera: Tephritidae) (SIRJANI; LEWIS KAYA, 2009), *Dacus cucubitacae* e *D. dorsalis* (Diptera: Trypetidae) (LINDEGREN; VAIL, 1986; LINDEGREN, 1990), *Rhagoletis indifferens* (Diptera: Tephritidae) (STARK; LACEY, 1999; YEE; LACEY, 2003), *R. cerasi* (Diptera: Tephritidae) (KOOPPLER; PETERS; VOGT, 2003), *C. capitata* (ROHDE *et al*., 2012) e *Drosophila suzukii* (Diptera: Drosophilidae) (BRIDA, *et al*., 2019).

No brasil, o certificado de registro de agrotóxicos e afins é conhecido por Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), um dos órgãos competentes pelo registro os produtos utilizados para o controle de moscas-das-frutas e das pragas agrícolas de diferentes culturas. Alguns produtos de gupos químicos registrados no MAPA, empregados para o controle da mosca-das-frutas têm sido os piretróides, neonicotinóides, espinosinas e organosfosforados são utilizados para o controle de mosca *C. capitata* com ênfase em pomares citros (AGROFIT, 2019). Por enquanto, não havendo até o momento produto bio a base de NEPs registrados pela comercialização contra esse inseto no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). Somente o bio Bacteriophora *Heterorhabditis bacteriophora* cepa En01, tem sido testado como um dos alvos biológico o bicudo-da-cana *Sphenophorus levis* (Lepidoptera:Pyralidae), única cepa do *bacteriophora* do produto biológico à base de nematoides entomopatogênicos que foi registrado no na (MAPA, 2017, LEITE *et al*., 2016).

No manejo integrado de pragas (MIP), em estratégia envolvendo o uso de NEPs e produtos fitossanitários químicos é importante conhecer o grau em que estes nematoides podem ser afetados pelos produtos (GORDON *et al*., 1996). Os

NEPs podem atuar de forma sinérgica em misturas e podem ser incorporados como uma parte impotante de MIP. Assim com essa característica, os NEPs podem ser usados para preservar a presença desses agentes em ambientes onde já ocorram, principalmente, em áreas onde ainda tem a prevalencia da utilização de inseticidas químicos (ALVES *et al*., 1998, NEGRISOLI, JR *et al*., 2008, (SUNANDA *et al*., 2014).

Em estudos relizados, os juvenis infectantes (JIs) são compatíveis com a maioria dos defensivos químicos e fertilizantes inorgânicos quando expostos a eles por curtos períodos (ISHIBASHI 1993; KOPPENHÖFER; GREWAL, 2005). Por exemple, *Steinernema carpocapsae* (Weiser, 1955) e *Heterorhabditis bacteriophora* (Poinar, 1976) podem sobreviver quando expostos a vários tipos de agrotóxicos químicos (KOPPENHÖFER; KAYA, 1998; KOPPENHÖFER *et al*., 2000). Em alguns casos, o produto pode ter efeito nematostático, mas, quando removido por lavagem, os nematóides voltam ao comportamento normal (KAYA, 1990).

Além de controle moscas-das-frutas, vários estudos foram realizados por NEPs e em compatibilidade aos produtos fitossanitários em vários países para controlar pragas agrícolas relacionadas às várias culturas tais como: *Diaprepes abbreviatus* (L.,1758) (Coleoptera: Curculionidae) em citros na Flórida (EUA) (SCHROEDER, 1990; NGUYEN; DUNCAN, 2002); *Cosmopolites sordidus* (Germar, 1824) (Coleoptera: Curculionidae) em bananeira no Porto Rico (FIGUEROA,1990); *Elasmopalpus lignosellus* (Zeller,1848) (Lepidoptera: Pyralidae) em milho (MAGNABOSCO, 2019); *Sphenophorus levi*e e *Leucothyreus sp*. (Coleoptera: Dryophthoridae) em cana-de-açúcar (LEITE *et al*., 2012) no Brasil; cochonilha-da-raiz de cafeeiro, *Dysmicoccus texensis* (Tinsley,1900) (Hemiptera: Pseudococcidae) (ANDALÓ *et al*.; 2004; ALVES *et al*., 2009a); Fungus Gnats *Bradysia sp.* (Diptera: Sciaridae) (TAVARES *et al*., 2012), *Sphenophorus levis* (Vaurie, 1978) (Coleoptera: Curculionidae) em cana-de-açúcar quando o inseticida foi avaliado na dose de 125 g p.c./ha (TAVARES *et al*., 2009).

Dessa forma, a aplicação de NEPs sinergicamente com alguns inseticidas químicos seletivos em sub-dosagens podem favorecer o manejo de *C. capitata* e sustentar um programa de controle de pragas como é preconizado nos programas de integração. Frente a isso, a avaliação da eficiência de NEPs sobre pupas de *C. capitata* é de grande importância para o manejo da praga. Sendo assim, os

objetivos do presente trabalho foram: (i) avaliar a patogenicidade e virulência de diferentes isolados de NEPs sobre pupas de *C. capitata* em diferentes concentrações; e (ii) a compatibilidade dos isolados *S. brazilense* IBCB-n06 (Nguyen, 2010)*, H. bacteriophora* HB (Poinar, 1976), em mistura com inseticidas químicos registrados para o manejo da praga sobre a fase de pupa de *C. capitata*.

2 Nematoides entomopatogênicos (Nematoda: Rhabtida) e sua compatibilidade com inseticidas químicos no controle de *Ceratitis capitata* (Wiedemann,1824) (Diptera: Tephritidae)

2.1 Introdução

A mosca-do-mediterrâneo, *Ceratitis capitata* (Wiedemann, 1824) (Diptera: Tephritidae) é uma importante praga da fruticultura mundial, devido os danos diretos e indiretos nos frutos (MALAVASI, 2009). Os danos ocorrem em função de oviposição das fêmeas em frutos maduros, facilitando assim a infecção por microorganismos (CARVALHO, 2005). As larvas se alimentam da polpa dos frutos (SALDANHA; SILVA, 1999), onerando os custos de produção e gerando prejuízos consideráveis. Por se tratarem de pragas quarentenárias por outros países, também restringem a comercialização dos frutos no mercado internacional (LIQUIDO *et al*., 1991; SILVA *et al*., 2009; ADAIME *et al*, 2017).

Entre as alternativas de manejo desta mosca, o uso de nematoides entomopatogênicos (NEPs) dos gêneros *Steinernema* e *Heterorhabditis* (Rhabditida: Steinernematidae e Heterorhabditidae), têm se mostrado promissores (NGUYEN; DUNCAN, 2002; TOLEDO *et al*., 2005, 2006; SIRJANI; LEWIS; KAYA, 2009), pois além da grande eficiência, facilidade na aplicação e adaptação à diferentes ambientes, podem ser estabelecidos de maneira permanente no ambiente, devido a capacidade de auto renovação sobre o cadáver do inseto hospedeiro (GUTIÉRREZ; GONZÁLEZ, 2010). Diferentes espécies e isolados de NEPs apresentam requisitos térmicos distintos, e podem ter a sobrevivência, reprodução, desenvolvimento e virulência afetados quando expostos à temperaturas extremas (MINAS *et al*., 2011). Estes nematoides possuem grande potencial para infectar insetos que apresentam pelo menos uma fase de vida no solo, são inofensivos ao meio ambiente e a outros seres vivos, sendo um ótimo recurso para uso como um componente do Manejo Integrado de Pragas (MIP) (GEORGIS *et al*., 2006, SHAPIRO-ILAN *et al*., 2006).

Além disso, estes organismos dessenvolvem associações mutualisticas com bactérias, ocasionando a morte do hospedeiro por septicemia no prazo de 24 a 48 horas após a infecção (GEORGIS; POINNAR, 1983).

Estudos jà foram desenvolvidos em laboratório e em campo para determinar a eficácia de diferentes espécies de NEPs em diferentes estágios de desenvolvimento de *C. capitata*, principalmente respostas a suscetibilidade do inseto, em pupas que estão no solo (LABORDA *et al*., 2003; ROHDE *et al*., 2010).

Os NEPs constituírem uma parte importante do Manejo Integrado de Pragas (MIP), sendo assim devem ser empregados com produtos fitossanitários seletivos MAGNABOSCO, 2019). Também é enfatizado que os Juvenis Infectantes (JIs) de NEPs são tolerantes a exposições a fertilizantes, herbicidas, fungicidas, inseticidas e acaricidas. Existem alguns casos em que seu desempenho foi aumentado quando associado a esses produtos (KOPPENHÖFER *et al*., 2002). Assim, o potencial de inseticida e NEPs à um inseto em particular depende de vários fatores e de especificidade do nematóide e da patogenicidade de suas bactérias simbióticas e do ambiente. Por isso, a adoção de produtos seletivos aos NEPs são fundamentais, pois possibilitará maior eficiência na conservação do entomopatógeno no agroecossistema com objetivo de manter a capacidade infectante e reprodutiva desses nematoides, incrementando o controle biológico (MONTEIRO et al., 2014).

Dessa forma a aplicação cunjunta de inseticidas químicos registrados pode atuar sinergisticamente a eficácia dos NEPs para auxilio de manejar *C. capitata* (TAVARES *et al*., 2009; SOUZA *et al*., 2012), por outro lado o uso inadequado de produtos químicos pode interferir na capacidade infectante e reprodutiva de NEPs, influenciando negativamente a eficácia de controle. No Brasil, até momento, não havendo produtos bio a base de NEPs registrados pela comercilaização no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) para o controle de moscas-das-frutas. Neste caso, a condição de realização de trabalho nessa linha de pesquisa pode resultar em informações importantes no estabelecimento de práticas de manejo desta mosca, também como, gerar conhecimento sobre a manipulação de produtos químicos registrados, que venham a contribuir para o controle das moscas-das-frutas e demais pragas, também o nivél de agressividade de NEPs por sua capacidade de infecção e de multiplicação dentro pupas de *C. capitata.* Neste sentido, a utilização de inseticidas químicos seletivos e NEPs aprilacados conjuntas

tornam-se fundamental, sendo conhecidas alguns inseticidas químicos e NEPs que já apresentaram sucessos.

Nesse sentido, foi realizado esse estudo com objetivo de avaliar a eficiência *Heterorhabditis bacteriophora* HB e *Steinernema brazilense* IBCB-n06 sobre pupas de *C. capitata* e a compatibilidade com diferentes inseticidas químicos registrados para o manejo da praga.

2.2 Material e métodos

2.2.1 Criação de *Galleria mellonella* (Linnaeus, 1758) (Lepidoptera: Pyralidae)

Para multiplicação de isolado de NEPs, uma criação de *Galleria mellonela* (Linnaeus, 1758) (Lepidoptera: Pyralidae) foi realizada no laboratório de Ecologia de Insetos (LABEI) do Departamento de Ecologia, Zoologia e Genética (DEZG) do Instituto de Biologia da Universidade Federal de Pelotas (UFPEL), segundo a metodologia proposta por (WOODRING; KAYA, 1988). Os adultos de *G. mellonella* foram mantidos em frascos de vidro contendo mel com algodão, em seu interior, e, folha de papéis sanfonados, para oviposição das fêmeas. Os papéis contendo os ovos eram retirados dois dias por semana e transferidos para fracos vidros com uma folha de papel filtro e dieta artificial (Tabela 1) para servir como alimento para as lagartas neonatas. A criação foi mantida em B.O.D (Temperatura de 30 ± 1 ºC, com umidade relativa de 70 ± 10 %).

Tabela 1- Composição de dieta artificial utilizada para criaçaõ de lagartas de *Galleria mellonella* (Lepidoptera:Pyralidae) em laboratório

Nº	Ingredientes	Quantidade
1	Cera de abelha	472 g
2	Soja	160 g
3	Glicerina	416 g
4	Fubá de milho	385
5	Leite em pó desnatodo	96 g
6	Leverdura de cerveja	188 g
7	Glicerina	416 g
8	Água	300 mL

Fonte: (WOODRING; KAYA 1988).

2.2.2 Obtenção e multiplicação de isolados de NEPs

Os isolados utilizados nos experimentos foram obtidos da Coleção do Banco de Nematoides Entomopatógenos “Oldemar Cardim Abreu” do Instituto Biológico, São Paulo, onde permaneceram armazenados em suspensão aquosa, sob condições controladas a 18 ± 1 ºC, com umidade relativa de 70 ± 10 %, Fotofase: escotofase (0:24 horas), seguindo a metodologia proposta por (WOODRING; KAYA, 1988) (Tabela 2). A multiplicação foi feita pelo método *in vivo* utilizando-se lagartas de quinto instar de *G. mellonella*. Para isso, foram utilizadas cinco lagartas por placas de Petri de 9 cm diâmetro com duas folhas de papel filtro umedecidas com 1,5 mL de suspensão com 500 juvenil/placa, disponibilizando 100 juvenil/lagarta. Posteriormente, as placas foram vedadas com papel filme PVC e mantidas em B.O.D (Temperatura de 25 ± 1 ºC). Decorrido três dias após a inoculação dos nematoides, as lagartas mortas foram transferidas para armadilha de White (WHITE, 1927) e armazenadas em B.O.D (Temperatura de 25 ± 1 ºC, umidade relativa de 70 ± 10 *%, Fotofase: escotofase (0:24 horas) por um período de três a 15 dias; periodo necessário para ocorrer a produção de juvenis infectantes (JIs). Após o surgimento dos JIs que abandonaram os cadáveres de *G. mellonella*, os mesmos foram recolhidos com auxilio de água destilada, onde permaneceram armazenados em suspensão aquosa, sob condições controladas em B.O.D (Temperatura de 25 ± 1 ºC, com umidade relativa de 70 ± 10 %, Fotofase: escotofase (0:24 horas) por um período de três a 15 dias antes de serem usados em cada experimento, conforme a metodologia proposta por Negrisol Júnior *et al.* (2008).

Tabela 2- Isolados nativos e exóticos de NEPs (Rhabditida: Heterorhabditidae e Steinernematidae) utilizados nos experimentos

Isolados	Espécie	Procedência
HB	*Heterorhabditis bacteriophora*	New Jersey,USA
IBCB-n24	*Heterorhabditis amazonensis*	Desconhecido
IBCB-n02	*Steinernema carpocapsae*	Florida-EUA
PAM-n25	*Steinernema rarum*	Mogi GUAÇU-SP
IBCB-n47	*Steinernema glaseri*	Araras-SP
IBCB-n06	*Steinernema brazilense*	Porto Murtinho.MS

2.2.3 Criação e multiplicação de *Ceratitis capitata*

A criação e manutenção de *C. capitata* foram realizadas no Laboratório de Biologia de Insetos (LABIO) do Departamento de Fitossanidade da Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel (FAEM) - Universidade Federal de Pelotas (UFPEL), em condições controladas de temperatura de 25 ± 1 ºC, umidade relativa (UR) de 70 ± 10% e fotofase de 12 horas. Os insetos utilizados nos experimentos foram provenientes da criação de manutenção do LABIO, onde são mantidos em sala climatizada (Temperatura: 25 ± 2 ºC, umidade relativa do ar: 70 ± 10 % e fotofase: 12 horas). Insetos adultos foram mantidos em gaiolas plásticas (57 cm x 39 cm x 37 cm) e alimentados com dieta sólida à base de açúcar refinado, germe de trigo e levedura de cerveja na proporção de 3:1:1, respectivamente, a qual é fornecida em caixas Gerbox (11,5 cm x 11,5 cm x 3,5 cm) (NUNES *et al*., 2013) (Tabela 3). O fornecimento de água foi realizado através de frascos (250 mL) e papel toalha (via capilaridade). A metodologia para a obtenção dos ovos, processo de aeração e inoculação foi a mesma proposta por Gonçalves *et al*. (2013) e Kamiya (2010). Foram inoculados aproximadamente 9.200 ovos/recipiente (0,5 mL de água + solução) em 300 mL de dieta artificial (Tabela 3). A dieta utilizada para o desenvolvimento larval, bem como o processo de coleta das larvas e o condicionamento das pré-pupas e pupas em vermiculita foram os mesmos propostos por Salles (1992) e Nunes *et al*. (2013).

Tabela 3- Composição da dieta atificial utilizada para a criação de *Ceratitis capitata* (Diptera:Tephritidae)

Nº	Componentes	Quantidade
	Dieta artificial fornecida para adultos	
1	Açúcar mascavo	90,0 g
2	Gérmen de trigo	30,0 g
3	Leverdura de Bionis® YENS	15,0 g
4	Leverdura de Bionis® YEMF	15,0 g

Tabela 3- Composição da dieta atificial utilizada para a criação de *Ceratitis capitata* (Diptera:Tephritidae) (contunuação)

	Dieta artificial fornecida para larvas	
1	Água	1500 mL
2	Acúcar	150,0 g
3	Leverdura	150,0 g
4	Gérmen de trigo	150,0 g
5	Benzoate	2,50 mL
6	Nipagin	20 mL
7	Ácido clorídrico	15 mL

Fonte : (SALLES, 1992 ; NUNES *et al*., 2013)

2.2.4 Patogenicidade de islolados de NEPs sobre pupas de *Ceratitis capitata*

No presente trabalho, foi avaliado a patogenicidade de seis isolados de NEPs sendo as epécies *H. bacteriophora* HB, *H. amazonensis* IBCB-n24*, S. carpocapsae* IBCB-n02, *S. rarum* PAM-25, *S. glaseri* IBCB-n47, *S. brazilense* IBCB-n06 em pupas de *C. capitata* (Tabela 2). O biosensaio foi realizado em delineamento inteiramente casualizado (DIC), com sete tratamentos e dez repetições por tratamento. As unidades experimentais (EU) foram constituídas por recipiente de plástico (50 mL) contendo 100 g de areia seca e esterilizada em autoclave com 10% de umidade. Feito isso, em cada EU foram enterradas cerca 1, 0 cm na areia 10 pupas (48 horas de idade) de *C. capitata* . Posteriormente, foi inoculado 1mL da suspensão do cada isolado na concentração de 1000 Juvenis Infectantes (JIs) com auxilio de uma pipeta serológica graduada de 1/10 (5m L) na supefície de areia de cada recipiente de plastico (50 mL). Como tratamento testemunha, foi adicionado apenas água (10 mL por EU) sem a presença de nematoides. Após a inoculaçãos dos NEPs, as EU foram vedadas com as tampas previamente perfuradas (aproximadamente 1 mm de diâmetro) para aeração. Em seguida, foram mantidas em B.O.D (Temperatura de 25 ± 1°C, sem luz, com umidade relativa de 70 ± 10 %. O parametro biológico avaliado foi mortalidade. As avaliações de pupas mortas foram feitas diariamente até o surgimento de adultos. Os dados de mortalidade foram submetidos à análise de variância ANOVA, utilizando-se o teste Shapiro-Wilk como teste de normalidade e, posteriormente, as médias foram comparadas entre si

pelo teste de Scott-Knott ($p \leq 0,05$), utilizando-se o programa estatístico Rstudio, versão 3.5.3 (DEVELOPMENT CORE TEAM, 2019).

2.2.5 Determinação de concentrações letais de *Heterorhabditis bacteriophora* HB como *Steinernema brazilense* IBCB-n06 a pupas de *Ceratitis capitata*

Foram utilizadas os isolados *H. bacteriophora* HB e *S. brazilense* IBCB-n06 que apresentaram melhor taxa de mortalidade em pupas de *C. capitata* no teste de patogenicidade. Para tanto, 10 pupas (48 horas de idade) de *C. capitata* foram colocadas em recipientes plásticos (50 mL) contendo 100g de areia fina esterilizada, conforme descrito anteriormente. As suspensões dos isolados *H. bacteriophora* H B e *S. brazilense* IBCB-n06 foram inoculados e padronizados nas concentrações de 200, 400, 600, 800, 1000, 1200, 1400, 1600, 1800 JIs/mL. A inoculação dos NEPs e a manutenção do bioensaio foram realizadas conforme descrito anteriormente. As avaliações de mortalidade pupal de *C. capitata* foram realizadas diariamente até o surgimento de adultos. Durante as avaliações, os cadáveres de pupas foram transferidos individualmente em placas de Petri (5 cm de dimêtro) dissecados com auxilio de uma pinça entomológica (40 x 0,50 mm). Feito isso, foi verificado a causa da mortalidade pupal, a quantificação do número de JIs emergidos, utilizando microscópio estereoscopio. Os dados de mortalidade e número de JIs foram submetidos à análise de variância ANOVA, utilizando-se o teste Shapiro-Wilk como teste de normalidade e, posteriormente, as médias, foram comparadas entre si pelo teste de Scott-Knott ($p \leq 0,05$), utilizando-se o programa estatístico Rstudio, versão 3.5.3 (DEVELOPMENT CORE TEAM, 2019).

2.2.6 Compatibilidade de *Heterorhabdiitis bacteriophora* HB e *Steinernema* brazilense IBCB-n06 a inseticidas químicos

Para tanto foram utilizados as concentrações de *H. bacteriophora* HB (600 JIs/mL) e *S. brazilense* IBCB-n06 (1000JIs/mL) que manfestaram maior virulência sobre pupas de *C. capitata* em bioensaios anteriores. Para avaliar a compatibilidade foi avaliado a viabilidade de JIs dos nematoides e infectividade (pupas mortas) quando em misturas com caldas produtos fitossanitários.

As caldas dos produtos Karate zeon® 50 CS, Malation® 1000 EC, Vertimec® 18 EC, Decis® 25 EC, Azamax® 12 EC, Actara® 250 WG, Delegate® 250 WG,

Imidan® 500 WP, Mospilan® 725 WG e Rimon® 100 EC utilizados, são preparados no Laboratório de Manejo Integrado de Pragas (LabMIP). Produtos autorizados e registrados no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) para o manejo de moscas-das-frutas com ânfase *C. capitata* no Brasil (AGROFIT, MAPA, 2019) (Tabela 4).

Os bioensaios foram realizados, utilizando-se o protocolo modificado da IOBC/WPRS (VAINIO, 1992), seguindo-se a metodologia proposta por por Negrisol Júnior; Barbosa; Moino Júnior (2008), com modificações. Primeiramente, foram preparadas caldas de 1000 mL de cada um dos produtos, na concentração de dose recomendada de uso do produto comercial, conforme indicação do fabricante (AGROFIT, 2019). Posteriormente, foi retirada alíquota de 1mL de suspensão de cada produto e colocada em cinco tubos de vidro (8 cm) por tratamento. Feito isso, foram adicionados 2.500 JIs em 1mL de água destilada e agitados. Os tubos foram fechados na parte superior com filme PVC, a fim de evitar a evaporação da mistura durante o período de armazenamento. Os tubos foram acondicionados em B.O.D á temperatura de 25 ºC, 80% UR, fotoperiodo de 12 horas. Como o controle foi adicionado alicotas sem a presença de inseticida e apenas água destilada e a presença dos NEPs.

A viabilidade de JIs dos nematoides foi avaliada 48 horas após a exposição aos produtos. Para tanto, foi retirada uma alíquota de 0,1mL da suspenção e observado 100 JIs em microscópio estereoscópico, para a determinação da mortalidade. Foram considerados mortos aqueles que não responderam á estimulação com estilete.

Para a avaliação de infectividade de nematoides, os tubos foram completados com água destilada (3 mL) e deixados para decantar por meia hora na geladeira. Posteriormente, o sobrenadante (cerca de 3 mL) foi descartado, passada em peneira de 500 mesh por três vezes, obtendo-se os JIs sem os produtos e posteriormente, reajustou-se ao volume inicial de 2 mL. Após a última lavagem 0,2mL (cerca de 100 JIs) foram retirados do fundo de cada tubo e pipetados em cinco placas de Petri (9 cm de diâmetro) com 10 pupas (48 horas de idade) de *C. capitata* com papel filtro. As placas foram mantidas em câmara climatizada em B.O.D (Temperatura de 22 ºC, 80 % UR, fotoperiodo de 12 horas).

Decorrido oito dias após a inoculação (DAÍ) dos NEPs, foi avaliada a mortalidade pupal de *C. capitata*. Os dados viabilidade de JIs das espécies NEPs e mortalidade de pupas foram determinadas e submetidas à análise de variância ANOVA e as médias, comparadas entre si pelo teste de Scott-Knott ($p \leq 0,05$), utilizando-se o programa estatístico Rstudio, versão 3.5.3 (DEVELOPMENT CORE TEAM, 2019). Os valores de mortalidade dos nematoides foram corrigidos pela fórmula de Abbott (1925).

$$Mc\ \% = (Mt\ \%-Mc\ \%\ X\ 100)/(100 - Mc\ \%)$$

Mc % = porcentagem mortalidade corrigida, Mt% = porcentagem de mortalidade no tratamento, Mc % = porcentagem de mortalidade na testemunha (no controle).

A infectividade foi obtida pela porcentagem de mortalidade de pupas de *C. capitata*. A redução de infectividade no tratamento em comparação com o controle foi obtida pela fórmula.

$$\text{Rinf}\,\% = \left(1 - \frac{\text{It}\,\%}{\text{Ic}\,\%}\right) \times 100$$

Rinf% = porcentagem de redução da infectividade no tratamento, It% = porcentagem de mortalidade nos tratamentos, Ic% = porcentagem de mortalidade no controle.

Tabela 4- Produtos fitossanitários usados no estudo de compatibilidade com *Heterorhabditis bacteriophora HB* e *Steinernema brazilense* IBCB-n06

Ingrediente Ativo	Grupo químico	Marca comercial*	Dose registrada[a] [g.a.i.$L^{-1;}$ g a.i. Kg^{-1}]	C.T.[b]	A. C.[c]	Concentração[d] [Formulação]	Classe[e]
lambda-cialotrina	Piretróide [3A]	Karate Zeon	1,0	III	II	50 [CS]	I
malationa	Organofosforado [1B] **	Malathion	2,0	I	II	1000 [EC]	I
avermectina	Avermectina*	Vertimec	0,02	III	II	18 [EC]	A/I/N
deltametrina	Piretróide [3A] **	Decis	1,0	I	I	25 [EC]	I
azadiractina	Tetranortriterpenóides	Azamax	1,2	III	IV	12 [EC]	A/I
tiametoxam	Nicotinóide [4A]	Actara	25	III	III	250 [WG]	I
espinetoram	Espinosinas**	Delegate	0,05	III	II	250 [WG]	I
fosmete	Organofosforado**	Imidan	75	I	III	500 [WP]	I
acetamiprido	Neonicotinóide [4A] * *	Mospilan	0,065	III	II	725 [WG]	I/B
novaluron	Benzoilureia*	Rimon	0,04	I	II	100 [EC]	I/B

Fonte: Sistema de Agrotóxicos Fitossaintários (AGROFIT/MAPA, 2019); **Inseticidas autorizados no Ministério da Agricultuta, Pecuária e Abastecimento (MAPA) para o controle de moscas-das-frutas com ênfase *C. capitata*, [+]Grupo químico desconhecido; [a]Concentração em g a.i./kg ou mL de produto comercial (c.p.) /100L de água [CE = concentrado emulsionável; SC = concentrado de suspensão; WG = grânulos dispersáveis em água, WP = Pó Molhável]; [b]Dose registrada para o controle de Moscas-dasfrutas em g ou mL de a.i. (ingrediente ativo) ou p.c. (produto comercila)/100 de água; [c]Classificação Toxicológica:I, [d]Classe ambiental;[e]Classe:I = inseticida; A/IN = acaricida/inseticida/nematicida; A/I = acaricida/inseticida; I/B = inseticida/bacteriostático.

Para obtenção do efeito dos tratamentos sobre a infectividade dos Neps sobre pupas de *C. capitata* foi utilizada a fórmula modificada de Peters, Poullot (2004), baseando-se no protocolo da Organização Internacional para o Controle Biológico e Integrado de Animais e Plantas Nocivas (International Organization for Biological and Integrated Control of Noxious Animals and Plants-IOBC), por meio da fórmula:

$$E\ \% = 100 - (100 - Mc\ \% - Rinf\ \%)$$

E % = efeito sobre a infectividade, Mc % = porcentagem de mortalidade corrigida conforme Abbott (1925), Rinf % = porcentagem de redução da infectividade no tratamento.

Foi atribuído valor zero (0) para o cálculo de E % quando os fatores Mc %, Rinf % apresentaram valor negativo. Com base no valor de efeito do inseticida (E%), os produtos foram classificados conforme os padrões da IOBC/WPRS para testes de laboratório sendo: classe 1 = não tóxico (E < 30 %), 2 = levemente tóxico (30 % ≤ E ≤ 79 %), 3 = moderadamente tóxico (80 % ≤ E ≤ 99 %), 4 = tóxico (E > 99 %) (BAKKER *et al*., 1992).

2.2.7 Efieciência de *Heterorhabditis bacteriophora* HB e *Steinernema brazilense* IBCB-n06 em combinações com inseticidas sobre pupas *Ceratitis capitata*

Para esse experimento, foram utilizados os produtos Malathion®, Delegate®, Imidan®, Mospilan® e Rimon® que manifestaram maior compatibilidade com as concentrações de nematoides *H. bacteriophora* HB (600JIs/mL) e *S. brazilense* IBCB-n06 (1000 JIs/mL) que proporcionaram maior maior virulência sobre pupas de *C. capitata*. O experimento foi realizado em delineamento inteiramente casualizado (DIC), com dezesseis tratamentos: *H. bacteriphora* HB (600 JIs/mL); *S. brazilense* IBCB-n06 (1000 JIs/mL); Malathion® (1000 EC); Delegate® (250 WG); Imidan® (500 WP); Mospilan® (725 WG); Rimon® (100 EC); *H. bacteriphora* HB (600 JIs/mL) + malathion® (1000 EC); *H. bacteriphora* HB (600 JIs/mL) + Delegate® (250 WG); *H. bacteriphora* HB (600 JIs/mL) + Imidan® (500 WP); *H. bacteriphora* HB (600JIs/mL) + Mospilan® (725 WG); *S. brazilense* IBCB-n06 (1000 JIs/mL) + Malathion® (1000 EC); *S. brazilense* IBCB-n06 (1000 JIs/mL) + Delegate® (250 WG); *S. brazilense* IBCB-n06 (100 0JIs/mL) + Imidan® (500 WP); *S. brazilense* IBCB-n06 (1000 JIs/mL)

+ Rimon® (100 EC); e testemunha (água destilada). Cada EU foi constituída por recipiente plástico (50 mL) contendo 100 g de areia seca e autoclavada com 10% de umidade, sendo 10 pupas (48 horas de idade). Para a mistura de nematoides com inseticidas selecionadas, foi preparada uma solução para cada EU na proporção 1: 3: 1, sendo uma aliquota de 1mL de produtos foi retirada, com auxílio de pipeta serológica graduada de 1/10 (5m L) e colocada em tubos de vidro de Borosilicato 50 mL aos quais foram adicionados 2 mL de água destilada e 1mL de suspensão de nematoides padronizada na concentração de 600 e 1000 JIs/mL dos nematoides *H. bacteriophora* HB e *S. brazilense* IBCBn06 respectivamente. Portanto, a solução de nematoides e inseticidas utilizados isoladamente foi feita na proporção 1 e 1: 3, sendo 1mL de suspensão de nematoides padronizada na concentração de 600 e 1000JIs/mL de *H. bacteriophora* HB, *S. brazilense* IBCB-n06 e 1mL de inseticida adicionada com 3 mL de água destilada respectivamente. A escolha de sub-dose de 1/3 da dosagem de produtos, de acordo com dose aplicada em campo com objetivo de garantir o menor impácto dos efeitos dos inseticidas sobre nematoides, e consequentemente, permitir um efeito sinérgico das combinações.

Os nematoides foram misturados com inseticidas e agitados, em seguida foram inoculadas por recipiente (50 mL) as suspensões de cada solução preparada com auxilio de uma pipeta serológica graduada de 1/10 (5m L) na supefície do solo. No controle foi inoculado 10 mL de água destilada. Os recipientes foram fechados com tampas perfuradas para permitir aeração, e acondicionados em B.O.D (Temperatura 25 ± 1 ºC, sem luz, com umidade relativa 70 ± 10%. As avaliações foram feitas diariamente até o surgimento de adultos, sendo, os cadáveres de pupas foram transferidos individualmente em placas de Petri (5 cm de dimêtro), e foram dissecados com uma pinça entomológica (40 x 0.50 mm) para confirmar a causa de mortalidade e quantificar o número de JIs emergidos, utilizando microscópio estereoscopio, pois, a medida que se passa o tempo mais JIs são produzidos no interior do hospedeiro.

Os dados de mortalidade pupal e de número de JIs emergidos por pupa foram submetidos à análise de variância ANOVA, utilizando-se o teste Shapiro-Wilk como teste de normalidade e, posteriormente, as médias foram comparadas entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$), utilizando-se o programa estatístico Rstudio, versão 3.5.3 (DEVELOPMENT CORE TEAM, 2019).

2.2.8 Longevidade de adultos de *Ceratitis capitata* pós-infecção de JIs de *Heterorhabditis bacteriophora* HB e *Steinernema brazilense* IBCB-n06 em combinações dos inseticidas

Nesse último bioensaio, foi realizado a longevidade de adultos de *C. capitata* após infecção de *H. bacteriophora* HB e *S. brazilense* IBCB-n06 e inseticidas. Adultos que emergirem após o tratamento, foram transferidos para gaiolas, consistindo em vasos plásticos de 500 mL com fundo forrado com tecido voil (5 cm de diâmetro), e foram mantidos em B.O.D a 25 ± 1 ºC e UR 70 ± 10 %. A alimentação dos insetos adultos foi seguida pela metodologia proposta por Nunes *et al*. (2013), com uma dieta sólida a base de: açúcar rafinado, extrato de leverdura e germem de trigo, na proporção 3: 1: 1 e água destilada (2 mL) fornecida em algodão umedecido. Foram trocados cada três dias a dieta e água destilada. As avaliações foram realizados diariamente, os adultos mortos foram lavados em água destilada e armazenados individualmente em placas de petri (5 cm de diâmetro) e foram dissecados com uma pinça entomológica (40 x 0,50 mm) para confirmar a causa de mortalidade, quantificar o número de JIs determinados no interior do hospedeiro, utilizando microscópio estereoscopio, pois, a medida que se passa o tempo mais JIs são produzidos no interior do hospedeiro.

Os dados de longevidade de adultos e de número de JIs emergidos foram submetidos à análise de variância ANOVA, utilizando-se o teste Shapiro-Wilk como teste de normalidade e, posteriormente, as médias foram comparadas entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$), utilizando-se o programa estatístico Rstudio, versão 3.5.3 (DEVELOPMENT CORE TEAM, 2019).

2.3 Resultados

2.3.1 Patogenicidade de isolados de NEPs sobre pupas de *Ceratitis capitata*

As pupas de *C. capitata* foram suscetíveis a todos isolados das espécies de NEPs testados na concentração de 1000 JIs, causando mortalidade variam entre 35 e 80 % (Tabela 6). Os isolados *H. bacteriphora* HB e *S. brazilense* IBCB-n06 foram os mais virulentos, com 80 e 78 % de mortalidade, respectivamente ($F = 37,82$; $df = 6, 63$; $P < 0,0001$) (Tabela 5).

Tabela 5- Mortalidade (%) (Média ± erro padrão) de pupas de *Ceratitis capitata* quando exposta a diferentes isolados de NEPs na dosagem de 1000 JIs/mL

Espécies/Isolados	Mortalidade (%)[1]
Heterorhabditis bacteriophora HB	80 ± 2,58 a
Steinernema brazilense IBCB-n06	78 ± 3,88 a
Steinernema rarum PM-25	60 ± 3,65 b
Steinernema carpocapsae IBCB-n02	43 ± 7,06 c
Heterorhabditis amazonensis IBCB -n24	35 ± 4,53 c
Steinernema glaseri IBCB-n47	35 ± 6,00 c
Controle	0,00 ± 0,00 d

[1]Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem estatisticamente pelo teste Scott-Knott (p≤ 0,05)

2.3.2 Determinação de concentrações letais de *Heterorhabditis bacteriophora* HB como *Steinernema brazilense* IBCB-n06 a pupas de *Ceratitis capitata*

As concentrações do isolado *H. bacteriphora* HB causaram mortalidade (com infecção de NEPs) de pupas até 64% (F= 21,62; df = 9, 90; *P* < 0,0001). Em seguida, a concentração 1200 JI/mL causou 40,00% de mortalidade e maior virulência de 564,97 JIs/pupa (F = 5651,3955; df = 9, 90; *P* < 0,0001). Entretanto, todas as concentrações de isolado *S. brazilense* IBCB n06 causaram mortalidade (com infecção de NEPs) de pupas até 78% (F = 21,62; df = 9, 90; *P* < 0, 0001), sendo que este isolado mostrou maior virulência 1575,89 JIs/mL quando aplicado em maior concentração, ou seja, numa concentração de 1800JIs/mL. Ocorreu diferença significativa entre os diferentes tratamentos, quando comparados o controle, no que se refere às pupas mortas com infecção de nematoides. Isso significa que *H. bacteriophora* HB causou mortalidade dos insetos nas doses testadas, havendo diferença significativa entre elas. Verificou-se que *S. brazilense* IBCB-n06 foi causado a maoir mortalidade (78%), na concentração 180 JIs/pupa, deferido dos demais tratamentos, no que se refere às pupas mortas com infecção de nematoide. De acordo com o resultado, as concentração 600 JIs/mL dos isolados *H bacteriophora* HB e 1000 JIs/mL de *S. brazilense* IBCB-n06 mostraram os mais adequados para serem utilizados no controle de *C. capitata*, devido suas maoires taxas de mortalidade menores concentrações (Tabela 6).

Tabela 6- Mortalidade [(%) (Média ± erro padrão)] número médio de juvenis infectantes emergidos (Média ± erro padrão) de *Ceratitis capitata* exposta na fase de pupa à isolados de *Heterorhabditis bacteriophora* HB e *Steinernema brazilense* IBCB-n06 em diferentes concentrações

	Heterorhabditis bacteriophora HB.			*Steinernema brasilense* IBCB n06		
Conc. (Jis/mL)	Mortalidade (%)		Núm. médio de JIs emergidos/pupa[3]	Mortalidade (%)		Núm. médio de JIs emergidos/pupa[3]
	Com infecção de Neps[1]	Sem infecção de Neps[2]		Com infecção de Neps[1]	Sem infecção de Neps[2]	
0	0,00 ± 0,00 d	0,00 ± 0,00 c	---	0,00 ± 0,00 d	0,00 ± 0,00 c	---
200	31,00 ± 1,00 c	7,00 ± 3,34 b	44,49 ± 0,91 i	34 ± 4,26 c	10,00 ± 3,94 a	2817,57 ± 2,94 a
400	35,00 ± 3,72 b	4,00 ± 2,21 b	76,00 ± 0,35 b	39 ± 4,06 c	14,00 ± 4,00 a	743,91 ± 8,74 d
600	58,00 ± 4,66 a	12,00 ± 3,88 a	317,77 ± 0,20 c	44 ± 4,98 c	8,00 ± 3,88 a	266,54 ± 4,18 f
800	47,00 ± 5,78 b	7,00 ± 2,13 b	118,07 ± 0,18 f	50 ± 3,33 b	12,00 ± 2,90 a	432,68 ± 2,88 e
1000	51,00 ± 4,81a	9,00 ± 2,33 a	55,53 ± 0,63 h	74 ± 2,66 a	6,00 ± 3,34 b	917,08 ± 2,21 c
1200	40,00 ± 2,98 b	5,00 ± 1,66 b	564,97 ± 0,53 a	57 ± 5,58 b	14,00 ± 3,39 a	204,56 ± 6,17 g
1400	64,00 ± 6,53 a	11,00 ± 3,14 a	277,35 ± 0,17 d	58 ± 7,11 b	12,00 ± 2,90 a	74,56 ± 3,38 h
1600	54,00 ± 4,00 a	15,00 ± 2,23 a	130,13 ± 1,14 e	65 ± 5,21 b	11,00 ± 4,33 a	115,40 ± 4,27 h
1800	62,00 ± 6,11 a	11,00 ± 4,06 a	347,13 ± 0,47 b	78 ± 3,88 a	7,00 ± 2,13 b	1575,89 ± 26,24 b

*Médias seguidas de mesma letra nas colunas não diferem estatisticamente pelo teste Scott-Knott ($p \leq 0,05$); [1]Pupas de *Ceratitis capitata* infectadas por nematoides; [2]Pupas *Ceratitis capitata* mortas sem infecção de nematoides; [3]Número médio de JIs emergidos por pupa infectada por nematoides.

2.3.3 Compatibilidade de *Heterorhabditis bacteriophora* HB e *Steinernema brazilense* IBCB-n06 a inseticidas químicos

Os testes de compatibilidade foram divididos em dois ensaios, viabilidade e infectividade. No teste de viabilidade, a maioria dos produtos testados mantidou mais de 90% dos JIs vivos, com exceção Vertimec®, Rimon®, Actara® e Azamax® que causaram 47,6; 20,00; 15,20 e 15% de mortalidade de JIs de *H. bacteriophora* HB respectivamente (Tabela 7). Já para este teste, pouco mais de aproxima 15% de mortalidade dos JIs registrada par *S. brazilense* IBCB-n06 foi com azadiractina (Tabela 8).

Em relação à infectividade, foi observada mortalidade superior a 70 % em *H. bacteriophora* HB em comparação de *S. brazilense* IBCB-n06 (50%). Os produtos que mais afetaram *H. bacteriophora* HB foram Azamax® (52 %), Vertimec® (54 %), Actara® (54%), de mortalidade de pupas. Entretanto, no caso de *S. brazilense* IBCB-n06, a baixa infectividade registrada, foi verificada com os produtos Mospilan®, Vertimec®, Actara®, apresentando 56%, 56%, 52% e 50% de mortalidade de pupas (Tabela 8).

De acordo com a sugestão de classificação de Peters, Poullot (2004), baseado sobre protocolo IOBC/WPRS modificado, os inseticidas Karate Zeon®, Malathion®, Decis®, Delegate®, Imidan®, Mospilan® e Rimon® resultem em uma efíciência (E%) de mortalidade abaixo de 30% na avaliação de infectividade de *H. bacteriophora* HB *e S. brazilense* IBCB-n06 testados em pupas de *C. capitata*, não diferiram estátisticamente entre si, considerados não tóxicos e compatíveis com estes isolados, e podem ser utilizados em aplicações sinérgicos, deferenciendo-se significativamente de Azamax® e Vertimec® dos isolado *H. bacteriophora* HB ($F = 12,12$; $df = 10, 44$; $P = 2, 808$) e *S. brazilense* IBCB-n06 ($F = 7,86$; $df = 10, 44$; $P = 8,17$), oito dias após a inoculação (DAÍ) e testemunha (nematoide sem exposição ao produtos) (Tabela 7, 8).

Tabela 7- Viabilidade e infectividade (Média ± erro padrão) de (JIs) *Heterorhabditis bacteriophora* HB após exposição aos produtos fitossanitários (protocolo IOBC/ WPRS modificado)

Produtos	Viabilidade[a]	Infectividade[a]	Mc%[b]	Rinf%[c]	E%[d]	Classe IOBC[e]
Controle	100,00 ± 0,00a	92,00 ± 3,74 a	0,00	0,00	0,00	1
Karate Zeon	96,20 ± 0,66 a	90,00 ± 6,32 a	3,80	2,17	5,97	1
Malathion	99,80 ± 0,02 a	86,00 ± 5,09 a	0,20	6,52	6,72	1
Vertimex	52,40 ± 4,88 c	54,00 ± 8,71 b	47,60	41,30	88,90	3
Decis	93,40 ± 3,28 a	94,00 ± 4,00 a	6,6	0,00	4,42	1
Azamax	85,00 ± 3,16 b	52,00 ± 5,83 b	15,00	43,47	58,47	2
Actara	80,00 ± 0,77 a	54,00 ± 5,09 b	20,00	41,30	61,30	2
Delegate	99,20 ± 0, 58 a	88,00 ± 3,74 a	0,80	4.34	5,14	1
Imidan	100,00 ± 0,00a	90,00 ± 6,32 a	0,00	2,17	2,17	1
Mospilan	97,20 ± 0,96 a	72,00 ± 6,78 b	2,80	21,73	24,53	1
Rimon	84,80 ± 7,16 b	56,00 ± 6,78 b	15,20	39,13	54,33	2

[a]Médias ± erro padrão seguidas de mesma letra nas colunas não diferem estatisticamente pelo teste Scott-Knott (p≤ 0,05); [b]Mc% = Mortalidade corrigida; [c]Rinf% = Redução da infectividade; [d]E% = Efeito do inseticida; [e]IOBC/WPRS classe 1 = não tóxico (E < 30 %), 2 = levemente tóxico (30 % ≤ E ≤ 79 %), 3 = moderadamente tóxico (80 % ≤ E ≤ 99 %), 4 = tóxico (E > 99 %).

Azamax® e Rimon®, quando expostos aos Juvenis infectantes de *H. bacteriphora* HB, apresentaram índices semelhantes de mortalidade 15 e 15,20%, respectivamente. Além disso, este quando exposto aos Vertimec®, Actara® mostrou-se mais sensível com a mesma infectividade de 54 % e uma redução de viabilidade de 47,60 % e 20,00 % respectivamente, que diferem de *S. brazilense* IBCB-n06, sendo apresentado ligeiramente mais sensível com uma infectividade de 52%, 50% e uma redução de viabilidade de 14,40% e 3,00% respectivamente (Tabela 7, 8).

Tabela 8- Viabilidade e infectividade (Média ± erro padrão) de (JIs) *Steinernema brazilense* IBCB-n06 após exposição aos produtos fitossanitários (protocolo IOBC/WPRS modificado)

Produtos	Viabilidade[a]	Infectividade[a]	Mc%[b]	Rinf[c]	E%[d]	Classe IOBC[e]
Controle	100,00 ±0,00 a	84,00 ± 6,78 ab	0,00	0,00	0,00	1
Karate Zeon	90,60 ± 7,67 a	94,00 ± 4,00 a	9,40	0,00	0,00	1
Malathion	88,00 ± 2,66 b	92,00 ± 5,83 a	12,00	0,00	7,23	1
Vertimex	85,60 ± 7,33 b	52,00 ± 5,83 c	14,40	38,09	52,49	2
Decis	94,20 ± 2,90 a	80,00 ± 7,07 ab	5,80	4,76	10,56	1
Azamax	82,60 ± 9,2 b	56,00 ± 5,09 c	17,40	33,33	50,73	2
Actara	97,00 ± 1,34 a	50,00 ± 7,07 c	3,00	40,47	43,47	2
Delegate	94,60 ± 1,34 a	82,00 ± 5,83 ab	5,40	2,38	7,78	1
Imidan	96,80 ± 0,73 a	78,00 ± 4,89 ab	3,20	7,14	10,34	1
Mospilan	99,40 ± 3,49 a	56,00 ± 5,09 c	3,20	33,33	36,53	2
Rimon	93,40 ± 0,40 a	74,00 ± 4,00 b	0,60	14,38	14,88	1

[a]Médias ± erro padrão seguidas de mesma letra nas colunas não diferem estatisticamente pelo teste Scott-Knott (p≤ 0,05); [b]Mc% = Mortalidade corrigida; [c]Rinf% = Redução da infectividade; [d]E% = Efeito do inseticida; [e]IOBC/WPRS classe 1 = não tóxico (E < 30 %), 2 = levemente tóxico (30 % ≤ E ≤ 79 %), 3 = moderadamente tóxico (80 % ≤ E ≤ 99 %), 4 = tóxico (E > 99 %).

2.3.4 Efieciência de *Heterorhabditis bacteriophora* HB e *Steinernema brazilense* IBCB-n06 em combinações com inseticidas sobre pupas Ceratitis capitata

Foi avaliado o efeito de associação de *H. bacteriophora* HB (600 JIs/mL) e *S. brazilense* IBCB-n06 (1000 JIs/mL) com inseticidas Malathion®, Delegate®, Imidan®, Mospilan® e Rimon® sobre pupas de *C. capitata*. Os tratamentos contendo nematoides e inseticidas testados separadamente proporcionaram mortalidade do inseto superior ou igual à 70%, foram inferiores e não foram significativas quando comparados as misturas dos inseticidas com isolados *H. bacteriophora* HB (600 JIs/mL) e *S. brazilense* IBCB-n06 (1000 JIs/mL) ($F= 37,45$; $df = 15, 144$; $P < 0,0001$). A mistura de isolado *H. bacteriophora* HB com os inseticidas apresentou mortalidade ≈ 10% mais do que o isolado *S. brazilense* IBCB-n06. Contudo, *H. bacteriophora* HB foi mais virulente com mistura aos inseticidas por apresentado maior número médio de JIs, diferriram singnificativamente em comparação de *S. brazilense* IBCB-n06 com a mistura dos inseticidas ($F = 16,93$; $df = 9, 90$; $P = 2,48$) (Tabela 9).

Tabela 9- Mortalidade e número médio de (JI) emergidos (Média ± erro padrão) de *Ceratitis capitata* exposta na fase de pupa à combinações de isolados de *Heterorhabditis bacteriophora* HB e *Steinernema brazilense* IBCB-n06 com inseticidas químicos

Tratamento	Mortalidade[1]	Núm. médio de JIs produzidos/pupas
Conrtrole	0.00 ± 0.00 d	-
Malathiona	80,00 ± 2,98 bc	-
Delagate	80,00 ± 3,59 bc	-
Imidan	92,00 ± 2,00 ab	-
Mosppilan	80,00 ± 3,65 bc	-
Rimon	70,00 ± 2,98 c	-
Heterorhabditis bacteriophora HB	95,00 ± 3,07 ab	888,26 ± 17,07a
Steinernema brazilense IBCB-n06	77,00 ± 3,95 bc	94,36 ± 40,14 b
H. bacteriophora HB + malathion	84,00 ± 4,54 ab	1037,60 ± 403,22 b
H. bacteriophora HB + delegate	93,00 ± 2,13 ab	1047,78 ± 1,69 a
H. bacteriophora HB + imidan	97,00 ± 2,13 a	1297,50 ± 95,50 a
H. bacteriophora HB + Mospilan	94,00 ± 2,21ab	787,50 ± 19,93 a
S. brazilense IBCB-n06 + rimon	82,00 ± 4,42 bc	29,29 ± 1,16 c
S. brazilense IBCB-n06 + delegate	89,00 ± 3,14 ab	105,93 ± 14,14 b
S.brazilense IBCB-n06 + malathion	80,00 ± 7,30 bc	100,82 ± 3,45 b
S. brazilense IBCBC-n06 + imidan	82,00 ± 4,42 bc	96,36 ± 26,24 b

[1]Médias ± EP seguidas de mesma letra nas colunas não diferem estatisticamente pelo teste Tukey ($p< 0,05$)

2.3.5 Longevidade média (Dias) de adultos e número médio de juvenis infectantes (JIs) de *Ceratits capitata* pós-infecção de JIs de *Heterorhabditis bacteriophora* HB e *Steinernema brazilense* IBCB-n06 em combinações os inseticidas

Não houve diferenças significativas na longevidade dos insetos infectados com nematoides. Os insetos infectados com *H. bacteriophora* HB e *S. brazilense* IBCB-n06 testados separadamente e com a mistura de inseticidas apresentaram longevidade que variou de 2,5 e 3,0 dias ($F = 1,30$; $df = 9, 90$; $P = 0,34$). O número médio de JIs emergdos por insetos infectados por nematoides variou entre 3,80 e 141,5 JIs/insetos ($F = 83,40$; $df = 9, 90$; $P < 0,0001$), sendo a maior número médio de JIs decorre na mistura *H. bacteriophora* HB + Mospilan® (Tabela 10).

Contudo, os adultos que emergirem do controle apresentaram a maior longevidade 31dias. Nos tratamentos inseticidas e com mistura de nematoides, os insetos não infectados por nematoides apresentaram uma longevidade média que variou entre 3,16 e 21,0 dias (F = 16,01; df = 14, 135; *P* = 3,24). *H. bacteriophora* HB + Mospilan®, *H. bacteriophora* HB + Delegate®, *H. bacteriophora* HB + Malathion®, os insetos apresentaram longevidade menor (15; 4,50 e 8,33 dias), respectivamente, quando comparados com *S. brazilense* IBCB-n06 + Rimon®, *S. brazilense* IBCB-n06 + Delegate®, *S. brazilense* IBCB-n06 + Malathion® e *S. brazilense* IBCB-n06 + Imidan® (13,75; 21,00; 16,20; 13,38 dias), respectivamente (Tabela 10).

Tabela 10- Longevidade (dias) (Média ± erro padrão) e número médio de (JIS) emergidos por adultos de *Ceratitis capitata* infectados e não infectados de (JIs) de *Heterorhabditis bacteriophora* HB, e de *Steinernema brazilense* IBCBn06 e em à combinação com inseticidas químicos

Tratamento	Longevidade[1*] [Com nematoides]	Núm. Médio de Jis emergidos/ adultos[1*]	Longevidade [1*] [Sem nematoides]
Conrtrole	---	---	31,00 ± 0,80 a
Malathion	---	---	8,40 ± 1,77 cd
Delegate	---	---	8,00 ± 2,07 cd
Imidan	---	---	3,16 ± 0,16 de
Mospilan	---	---	8,33 ± 1,21 cd
Rimon			12,40 ± 1,49 bc
Heterorhabaditis bacteriophora HB	2,50 ± 0,50 a	34,05 ± 3,77 c	7,00 ± 0,00 de
Steinernema brazilense IBCB-n06	3,00 ± 0,00 a	63,05 ± 5,29 b	19,66 ± 2,37 ab
H. bacteriophora HB + malathion	2,50 ± 2,50 a	17,60 ± 2,83 cd	8,33 ± 1,81 cde
H. bacteriophora HB + delegate	2,00 ± 0,00 a	25,00 ± 11,30 cd	4,50 ± 1,93 de
H. bacteriophora HB + imidan	2,50 ± 0,50 a	23,10 ± 1,95 cd	**
H. bacteriophora HB + mospilan	2,50 ± 0,50 a	141,50 ± 4,21a	15,00 ± 3,60 bc
S. brazilense IBCB-n06 + rimon	3,00 ± 0,00 a	8,50 ± 1,90 de	13,75 ± 3,72 bc
S. brazilense IBCB-n06 + delegate	2,60 ± 0,00 a	10,30 ± 0,98 de	21,00 ± 2,00 ab
S.brazilense IBCB-n06 + malathion	3,00 ± 0,00 a	3,80 ± 1,95 e	16,20 ± 2,28 bc
S. brazilense IBCBC-n06 + imidan	3,00 ± 0,00 a	5,00 ± 0,96 de	13,88 ± 2,22 bc

[1]Mé1[1]Médias ± EP seguidas de mesma letra nas colunas não diferem estatisticamente pelo teste Tukey ($p < 0,05$).[1*,]Adultos provenientes pupas *Ceratitis capitata* infectados e não infectados por nematoides. **Dados não coletados

2.4 Discussão

O resultado do primeiro ensaio mostrou que os isolados de nematoides de gêneros *Heterorhabditis* e *Steinernema* testados são virulentos sobre as pupas de *C. capitata*, demonstrando o potencial de controle de moscas-das-frutas. Contudo, *H. bacteriophora* HB, *S. brazilense* IBCB-n06 e *Steinernema rarum* PM-25 mostraram mais eficientes por proporcionaram valores de motalidade mais destacados em relação às outros. Um maior número isolados pertencem ao gênero *Steinernema* comparado com aos *Heterorhabditis* foram testados. As diferenças na patogenicidade do gênero *Steinernema* podem ser explicada por algumas variações nas estratégias de busca do hospedeiro ou a partir da entrada do JIs no inseto com base no princípio de que a penetração se dá através da boca ou dos espiráculos do organismo invadido (GEDEN *et al*., 1985; LEWIS *et al*., 2006). Por outro lado, a elevada virulência de *H. bacteriophora* HB contra pupas *C. capitata* pode estar justificada pela a presença de um dente córneo que ajuda na penetração via cutícula do inseto hospedeiro (SHAPIRO-IIAN *et al*., 2008)

Alguns autores registraram baixa suscetibilidade da fase de pupa *C. capitata*, *Anastrepha suspensa* (Loew, 1862) (Diptera: Tephritidae) e *Ragholetis indifferens* (Curran, 1932) (Diptera: Tephritidae) às diferentes isolados e espéces de NEPs dos gêneros *Steinernema* e *Heterorhabditis* (BEAVERS; CALKINS, 1984; YEE; LACEY, 2003; ROHDE *et al*., 2012). Rohde *et al*. (2013), avaliaram *S. carpocapsae* e *Heterorhabditis sp*. a pupas de *C. capitata*, obtendo mortalidade variando entre 35 e 44% em um dia de desenvolvimento. Por outro lado, Silva *et al*. (2010) afirmaram no seu estudo conduzido em laboratório que pupas de *C. capitata* são suscetíveis à ação de certos isolados de *Heterorhabditis* e *Steinernema*, alcancaram a mortalidade até 53,8%. Assim, mais trabalhos foram realisados para as moscas de gêneros da mesma família Tephritidae, os resultados já foram diferentes. Por exemplo, Attala *et al*. (2002), avaliou a patogenicidade de *S. carpocarpsae*, *S. riobrave* e *H. bacteriphora* sobre pupas de *Bactrocera zonata,* obtiveram taxas de mortalidade de 16,67%, 93,70% e 91% respectivamente. Portanto, Kooppler *et al*. (2003), avaliaram *S. carpocarpsea* e *S. feltiae* a *Rhagoletis cerasi*, obtendo mortalidade de 70%.

Na condição de realização de trabalho, a constatação de diferenças de taxas de mortalidade de pupas de *C. capitata* infectadas pelos JIs dos nematoides *H. bacteriophora HB* e *S. brazilense* IBCB-n06 nas concentrações testadas evidencia que as concentrações 600 e 1000 JIs/mL foram satisfatórios para causar a mortalidade máxima em laboratório. A maior das pupas mortas sem infecção de nematoides foi encontrada na maior concentração utilizada. Comparando a mortalidade de pupas registradas por infecção dos nematoides em todas as concentrações, observa-se que *S. brazilense* IBCB-n06 causa pelo menos 70% de mortalidade em uma concentração menor, quando comparada a concentração de *H. bacteriophora* HB, necessária para causar 62% da mortalidade.

A dosagem de JIs é de grande importância, pois quanto maior o número de JIs produzidos, maiores serão as chances de hospedeiro ser infectado. Entretanto, Burgues; Thompson (1971) em seus experimentos mostraram que existe uma forte relação entre a dosagem de JIs e a mortalidade do hospedeiro. Em trabalho realizado com *Anastrepha ludens* (Loew, 1873) utilizando *H. bacteriophora e H. marelatus,* Patterson; Lacey (1999) encontraram uma mortalidade entre 40 e 72%, respectivamente, utilizando 6300 JIs/mL. Da mesma forma, Saunders; Webster (2000) encontraram mortalidade entre 10 e 30% em pupas de um Díptera (*Anthomyidae*). Neste trabalho, as dosagens mais eficientes foram padronizadas nas concentrações 600JIs/mL e 1000JIs/mL por *H. bacteriophora* HB e *S. brazilense* IBCB-n06 respectivamente. As variações significativas observadas na mortaltidade e entre o número de JIs produzidos por pupas de mosca infectadas por nematoides em relação as dosagens aplicadas, podem explicar por o estádio e tempo de exposição de JIs emitidas para buscar o hospedeiro no solo, de mesmo que a presença das bactérias é fundamental para a recuperação de um grande número de JIs tanto no cadáver do inseto, quanto no meio artificial de substrato utilizado (GREWAL; COLS., 1997; STRAUCH; EHLERS, 2003).

Os resultados deste trabalho mostram que o aumento de dosagem não é iilimitado, pois, acima de dosagens 600 JIs/mL e 1000 JIs/mL, a mortalidade não proporcionaram diferenças significativas. Isso provavelmente se deu devido à competição intraespecífica de JIs dos nematoides para penetrar no cadáver do hospedeiro com aplicação de dosagem elevada. Neste caso, não há necessidade de aplicar grandes quantidades de nematoides para se obter um resultado

satisfatório. Contudo, poucos estudos são realizados, avaliando efeito dos NEPs contra a fase de pupa de moscas-das-frutas, tendo esses trabalhos apresentaram resultados contraditórios em relação à sua suscetibilidade. Dessa forma, Rohde (2012) avaliaram *Steinernema carpocapsae* e *Heterorhabditis sp.* RSC-01 contra larvas de *C. capitata* e obtiveram 99,49 e 68,88% de mortalidade do inseto na concentração de 274 e 293 JI/larva respectivamente. Por outro lado Garcia *et al*. (2008) obtiveram taxas elevadas de mortalidade de *Spodoptera frugiperda* (J.E.Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) com doses relativamente baixas de *Steinernema brazilense* IBCB-n06, sugerindo que algum fato possa ter contribuído para as grandes diferenças de mortalidade obtidas. O presente resultado de deste de trabalho corroborou os de Silva *et al*. (2010), que avaliaram o nematoide *S. brazilense* IBCB-n06 contra pupa *C. capitata* e obtiveram mortalidade de 50% na dosagem de 500JI/mL. Além disso, as diferenças na patogenicidade de NEPs podem ser atribuídas à especificidade, à morfologia, à origem e à variabilidade genética dos isolados, bem como à tolerância do hospedeiro (STUART *et al*., 2006).

Assim, no teste de concentrações letais, na inoculação da suspensão do isolado de NEPs, pode ter uma maior dispersão de JIs no solo, sendo uma quantidade deles capaz infectar o inseto hospedeiro. Esses fatores baseiam-se pelo fato que os nematoides (juvenis infectantes de terceiro estádio) são agentes de controle de vida livre no solo capazes de buscar e responsáveis pela infecção do inseto hospedeiro com a bactéria simbiótica específica no tubo digestivo por a penetração, atingindo o hemocelo, liberando essa bactéria que leva a morte do ospedeiro entre 24 e 48 horas (CICHE; ENSIGN, 2003).

Às vezes os nematoides confiam totalmente em seu simbionte bacteriano para matar o inseto, que normalmente é o caso de *Heterorhabditis spp*. (HAN; EHLERS, 2000), por outro lado, existem casos o simbionte bacteriano não parece contribuir para a virulência, mas os nematoides podem.

No teste de compatibilidades, os inseticidas Mospilan®, Delegate®, Karate Zeon®, Imidan®, Rimon®, Malathion® não foram tóxicos aos JIs de *H. bacteriophora* HB e *S. brazilense* IBCB-n06, pois, apresentaram infectividade elevada nas concentrações dos produtos, com exceção Rimon® que apresentou uma diminuição de infectividade de JIs de *S. brazilense* IBCB-n06 no segundo ensaio. Uma situação

similar ocorreu no trabalho de Negrisoli Jr (2008). A não toxicidade de produtos Decis® 25 EC e endosulfam® 350 EC aos JIs de *H. bacteriophora* e *S. carpocapsae*, por apresentaram uma alta infectividade em todas as concentrações dos produtos. Em outros trabalhos, o uso conjuntos de JIs com inseticidas químicos e fertilizantes inorgânicos mostrou compatível quando expostos por curtos períodos de 2-24 horas (KOPPENHÖFER; GREWAL, 2005). Assim, Magnabosco (2019), identificaram que os nematoides *H. amazonensis* GL e *H. amazonensis* MC01 foram compatíveis com baixas doses de produtos cruiser FS® 350, fortenza FS® 600 e Neenmax®. Da mesma forma, os nematoides *H.indica* IBCB-n05 e *S. brazilense* IBCB-n06 (60JIs/mL) testados na mistura de tiametoxam com subdose (250 g p.c./ha), de foram compatíveis mesmo princípio ativo do Cruiser 350 FS® (TAVARES *et al*., 2009).

Os resultados do teste de compatibilidade mostraram que Vertimec®, Azamax®, Actara® foram tóxicos aos JIs de ambos nematoides *H. bacteriophora* HB (600JIs/mL), *S. brazilense* IBCB-n06 (1000JIs/mL), mas os inseticidas Karate Zeon® e Malathion® causaram menos efeito de redução da viabilidade e nenhum efeito sobre infectividade de *S. brazilense* IBCB-n06, sendo considerados compatíveis. Por outro lado, em outros trabalhos de compatibilidade realizados por Koppenhofer; Kaya (1998); Nishimatsu; Jackson (1998), foram possíveis de constatar os efeitos sinérgicos de nematoides do gênero *Heterorhabditis*, usando extratos de plantas de nim identificados como inseticidas químicos para o controle de *Plutella xylostella* (Linnaeus, 1758) (Lepidoptera: Plutellidae) e *Bactrocera zonata* (Saunders,1841) (Diptera:Tephritidae). Rohde *et al*. (2013) constataram que a combinação dos nematoides *Heterorhabditis sp.* JPM4 e *S. carpocapsae* All, foram incompatíveis com extratos vegetais no controle de *C. capitata*, já que estes reduziram a viabilidade e infectividade dos nematoides em mais de 80%. Esta observação demostra que vários mecanismos oferecidos, um deles pode explicar o aumento ou a dimuinição da infectividade pelo fato que esses inseticidas podem afetar o sitema imunológico do inseto hospedeiro, o que se torna mais suscetível ao ataque dos nematoides.

Devido o efeito de diminuição sobre a infectividade de *H. bacteriophora* HB e *S. brazilense* IBCBn-06 contra pupas *C. capitata* e não sobre a vialbilidade, vários trabalhos pesquisados em artigos de compatibilidade foram apresentados dados

semelhantes, pois, Rovesti; Deseö (1991); Ishibashi; Takii (1993); Laznik *et al*. (2012) mostranram que em seus estudos de compatibilidade de inseticidas químicos com nematoides, os inseticidas químicos afetaram apenas as caraterísticas relacionadas o comportamento do nematoide, occasionando a inibição movimento, a dispersão e a atração de hospedeiro ou a capacidade reprodutiva e de desenvolvimento, de modo que, embora o nematoide está vivo não é capaz de causar a morte.

As misturas de *H. bacteriophora* HB (600 JIs/mL) e *S. brazilense* IBCB-n06 (1000 JIs/mL) inseticidas químicos Mospilan®, Malathion®, Imidan®, Delegate ® e Rimon® mostraram efeitos sinérgicos na mortalidade de pupas *C. capitata,* assim como já foi demostrado em teste de laboratório, quando se avaliaram mistura de diferentes concentrações de *H. indica* IBCB-n05 e *S. brazilense* IBCB-n06 com sub-doses dos inseticidas fipronil (Regent® 800WG), e tiametoxam (Actara® 250WG), obtendo-se mais de 74% de mortalidade de adultos do gorgulho da cana-de-açúcar *Sphenophorus levis* (Vaurie) (Coleoptera: Curculionidae) (TAVARES *et al*., 2009).

Neste estudo realizado em laboratório, baseado no protocolo modificado IOBC/WPRS, os inseticidas Karate Zeon®, Malathion®, Decis 25 EC®, Delegate®, Imidan®, Mospilan® e Rimon® testados podem ser considerados compatíveis com os isolados de *H. bacteriphora* HB e *S. brazilense* IBCB-n06, sendo que a combinação de NEPs com algumas inseticidas de grupos químcos neonicotinoides, organofosforados, piretróide, espinosinas e nicotinóide não afetam a infectividade e a patogenicidade dos NEPs, a infectividade e a patogenicidade da sua progênie (KOPPENHÖFER *et al*., 2000a,b; TAVARES *et al*., 2009; LEITE *et al*., 2012). Embora, Nishimatsu; Jackson (1998), verificaram que a dose inseticida, além da dose e espécies dos nematoides, podem determinar os efeitos combinados de nematóides + inseticida. Por outro lado, Leite *et al*. (2003) afirmaram que a diferença de produção de JIs pode descartar na limitações de espaço e alimento no cadaver de hospedeiro, acarretando na geração de um menor número de descendentes. Neste trabalho, as associações Imidan® + *H. bacteriophora* HB, *H. bacteriophora* HB + Delegate®, *H. bacteriophora* HB + Malathion®, *S. brazilense* IBCB-n06 + Malathion® e *H. bacteriophora* HB geraram a maior produção de JIs por pupa do inseto *C. capitata*, o que resulta um efeito sinérgico entre associação combinada dos nematoides com inseticidas, sendo as diferenças observadas

podem ser explicar na suscetibilidade dos nematoides e pupas *C. capitata* a inseticidas, mais precisamente na viabilidade e infectividade dos nematoides.

Os nematoides, inseticidas químicos utilisados isoladamente e em mistura afetam a longevidade adultos emergidos quando aplicados posteriormente a pupas de *C. capitata*. Os insetos afectados por nematoides apresentaram uma duração média maior de três dias. Os tratamentos nematoides, inseticidas químicos e em mistura tenham afetados a longevidade dos adultos provenientes das pupas emergidas, comparada com a testemunha. Esse fato demostra que, mesmo os nematoides sendo aplicado na fase de pupa, pode afetar a longevidade dos adultos de *C. capitata.*

Ao testarem *H. bacteriophora* HB e *S. brazilense* IBCB-n06 sobre pupas de *C. capitata*, obtiveram altos índices de mortalidade pupal, porém os adultos provenientes das pupas emergidas tiveram baixa duração de longevidade. Alves (1998) relatou que a patogenicidade não deve ser verificada somente pela mortalidade na população de hospedeiro, mas também por diversos efeitos na fisiologia ou biologia dos insetos, entre eles a longevidade. Além da mortalidade de adultos verificada, a emergência de nematoides ou número de JIs emergidos em adultos de *C. capitata* após serem confirmados, comprovando que a morte foi causada pelo patógeno.

2.5 Conclusões

No teste de patogenicidade de diferentes isolados, os nematoides *H. bacteriophora* HB e *S. brazilense* IBCB-n06 apresentaram maior mortalidade de pupas *C. capitata*, sendo considerados mais virulentos.

As concentrações de JIs dos nematoides *H. bacteriophora* HB (600 JIs/mL) e *S. brazilense* IBCB-n06 (1000 JIs/mL) foram desproporcionadas a mortalidade de pupas de *C. capitata*, sendo indicativo de que as competições intra-específicas podem limitar a mortalidade com concentrações muito altas.

Baseado no protocolo modificado IOBC/WPRS (VAINIO, 1992), os inseticidas Mospilan®, Delegate®, Malation®, Imidan®, e Rimon® se mostraram compatíveis com *H. bacteriophora* HB (600 Jis/mL) e *S. brazilense* IBCB-n06 (1000 JIs/mL) causando uma redução de infectividade e produção dos JIs vivos.

A mistura inseticidas a base Malathion®, Delegate®, Imidan®, Mospilan® e Rimon® com os nematoides *H. bacteriophora* HB (600 JIs/mL) e *S. brazilense* IBCB-n06 (1000 JIs/mL), apresentaram maior taxas de mortalidade do que os prodtutos testados isoladamente. A redução de infectividade obsevada sobre as pupas *C. capitata* na mistura desses produtos com *S. brazilense* IBCB-n06 (1000 JIs/mL), mostrou que o este é mais sensível à exposição dos produtos, em relação de *H. bacteriophora* HB (600 JIs/mL).

Na longevidade dos adultos, o isolado *H. bacteriophora* HB em mistura com o insetida Mospilan® proporcionou o maoir número de JIs (aproximadamente 141,5 JIs).

3 Considerações finais

Com base nos resultados do presente trabalho, podemos observar a suscetibilidade de pupas de *C. capitata* em diferentes tratamentos, é possível que os isolados de nematoides *H. bacteriophora* HB e *S. brazilense* IBCBn-06 testados podem vir a contribuir para o manejo desta mosca, considerando esta, uma ferramenta estratégica de controle biológico para a regulação populacional destes insetos-praga, fazendo positivamente parte do Manejo Integrado de Pragas. Além do ponto positivo do uso destes entomopatogenos isolada ou o em combinação com os produtos químicos seletivos atuam de forma sinérgica em mistura e devem deve ser mais estudada em campo para que possa ser inserida com sucesso no controle de Manejo Integrado de Pragas (MIP).

4 Referências

ADAIME, R.; SANTOS. S. R.; AZEVEDO, T. S.; VASCONCELOS, S. A.; SOUSA, M. S. M.; SOUSA-FILHO, M. F. J.F. First Record of *Ceratitis capitata* (Wiedemann) (Diptera: Tephritidae) in the state of Acre, Brazil. **Entomo Brasilis**, v.10, n.3, p. 259-260, 2017.

ADAMS, B. J.; NGUYEM, K.B.Taxonomy and systematics. In: GAUGLER, R. (Ed). **Entomopathogenic nematology**, 2000. p. 1- 33.

AGROFIT. 2019. Sistema de agrotóxicos fitossanitários.http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons. Accessed 16 Maio 2019.

ALMENARA , D. P.; ROSSI, C.; NEVES, M. R. C.; WINTER, C. E. Nematoides Entomopatogênicos. **Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia em Entomologia Molecular**, v, 16, p. 4-5, 2012.

ALVARENGA, C. D.; SILVA, M. A.; LOPES, G. N.; LOPES, E. N.; BRITO, E. S.; QUERINO, R. B.; MATRANGOLO, C. A. Ocorrência de *Ceratitis capitata* Wied. (Diptera: Tephritidae) em frutos de mamoeiro em Minas Gerais. **Neotropical entomology**, v. 36, n. 5, p. 807-808, 2007.

ALVES, V. S.; MOINO JUNIOR, A.;SANTA-CECILIA, L.V.C, V. ANDALÓ, V.; SOUZA, G.C. Patogenicidade de nematoides entomopatogênicos à cochonilha da raiz do cafeeiro *Dysmicoccus texensis* (Tinsley) (Hemiptera: Pseudococcidae) em laboratório. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 76, n. 1, p. 67-73, 2009.

ALVES, S. B. Patologia e controle microbiano: vantagens e desvantagens. In: ALVES, S.B. **Controle Microbiano de insetos**, 2. Ed. Picaciba: FEALQ, 1998. v. 4, p. 21-37.

ANDALÓ, V., NGUYEN, K. B., MOINO JR., A. *Heterorhabditis amazonensis* n. sp. (Rhabditida: Heterorhabditidae) from Amazonas, Brazil. **Nematology**, v. 8, n.6, p. 853-867, 2006,

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

BARBOSA-NEGRISOLI, C. R.; GARCIA, M.S.; DOLINSKI, C.; NEGRISOLI JUNIOR, A. S.; BERNARDI, D.; NAVA, D. E. Efficacy of indigenous entomophathogenic nematodes (Rhabditida: Heterorhabditidae, Steinernematidae), fron Rio Grande do Sul, Brasil, againts *Anastrepha fraterculus* (Wied.) (Diptera: Tephritidae) in peach orchards. **Jornal of Invertebrate Pathology**, v. 102, n.1, p. 6-13, 2009.

BEAVERS, J. B.; CALKINS, C. O.; Susceptibility of *Anastrepha suspensa* (Diptera: Tephritidae), to *Steinernematid* and *Heterorhabditid* nematodes in laboratory studies. **Environnemental Entomolgy**, v. 13, n. 1, p.137-139, 1984.

BEDDING, R. A.; MOLYNEUX, A.S. Penetration of insecte cuticle by infctive juveniles of *Heterorhaditis spp*. (Heterorhabditidae: Nematode). **Nematologica**, v.28, n. 1, p. 324-355, 1982.

BRATTSTEN, L.B.; HOLYOKE, C.W.; LEEPER, J.R. Insecticide resistance: challenge to pest management and basic research. **Science**, v. 231, n.1, p.1125-1128, 1986.

BRIDA, A. L.; WILCKEN, R. S. S.; LEITE, L. G.; GARCIA, F. R. M. Virulence of entomopathogenic nematode to pupae and adults of *Drosophila suzukii* in laboratory. **Revista Científica Rural**, v. 21, n. 2, p. 126-138, 2019

BRIDA, A. L.; SCHMIDT, F. S.; DOLINSKI, C. A situação atual e as perspectivas de emprego de nematoides entomopatogênicos no manejo de insetos-praga na agricultura. **Cultivar** Grandes culturas, n. 230, p. 8-10, 2018.

BURGUES, H. D., Y THOMPSON, E. M. Stardardization and assay of microbial insecticides. In. BURGUES Y N. W. HUSEEY (Eds.). **Microbial control of insects and mites**, 1971. p. 591- 622.

CHASTON, J., GOODRICH-BLAIR, H. Common trends in mutualism revealed by model associations between invertebrates and bacteria. **FEMS Microbiology Reviews**, n. 34, p. 41-58, 2010.

CICHE, T. A.; STERNBERG, P. Postembryonic RNAi in *Heterorhabditis bacteriophora*: a nematode insect parasite and host for the insect pathogenic symbionts. **BMC Developmental Biology**, v. 7, n. 101, p.1-11, 2007.

COSTA, S. S.; SANTOS, J. M.; BROGLIO, S. M. F.; DIAS-PINI, N. S.; GÓMEZTORRES, M. Nuevos registros de moscas de la fruta (Diptera: Tephritidae) en el Estado de Alagoas, Brasil. **Revista Colombiana de Entomología**, v. 45, n. 1, p.1-6, 2019.

DE MEYER, M. Phylogeny of the genus *Ceratitis* (Dacinae: Ceratidini). In: ALUJA, M.; NORRBOM, A. L. (Ed.). **Fruit flies (Tephritidae)**: phylogeny and evolution of behavior, 2000. p. 409-428.

DEL VALLE, E. E. Avaliação de Metodologias de Seleção para Tolerância a Elevadas Temperaturas em *Heterorhabditis baujardi* (Nematoda: Rhabditida). **Nematologia Brasileira**, Piaracicaba, v. 29, n.2, p. 207-214, 2005.

DIAS, N. P.; SILVA, F. F.; ABREU, J. A.; PAZINI, J. B.; BOTTA, R. A. Nível de infestação de moscas-das-frutas em faixa de fronteira, no Rio Grande do Sul. **Revista Ceres**, v. 60, p. 589-593, 2013.

DOLINSKI, C.; MONTEIROB, C.; ANDALÓ, V.; LEITE, L. G. Studies on entomopathogenic nematodes in Brazil: past and future. **Nematoda**, v. 4, n.10, p.1-5, 2017.

FERRAZ, L. C. C. B., ET AL. Utilização de nematoides para o controle de pragas agrícolas e urbanas. In: ALVES, S.B.; LOPES, R.B. **Controle microbiano de pragas na América Latina**, 2008. p. 171-202.

FIGUEROA, W. Biocontrol of the banana root borer weevil, *Cosmopolites sordidus* (Germar) with Steinernematidae nematodes. **Journal of Agriculture of the University of Puerto Rico**, v. 74, n. 1, p. 15-19, 1990.

GARCIA, L.C., RAETANO, C. G.; LEITE, L.G. Application technology for the entomopathogenic nematodes *Heterorhabditis indica* and *Steinernema* sp. (Rhabditida: Heterorhabditidae: Steinernematidae) to control *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) in Corn. **Neotropical Entomology**, v. 37, n. 3, p. 305-311, 2008.

GEDEN, C.J.; AXTELL, R.C.; BROOKS, W.M. Susceptibility of the lesser mealworm, *Alphitobius diaperinus* (Coleoptera: Tenebrionidae) to the entomogenous nematodes*Steinernema feltiae*, *S. glaseri* (Steinernematidae) and *Heterorhabditis heliothidis* (Heterorhabditidae). **Journal of Entomological Science***,* v. 20, p. 331-339, 1985.

GODY, M. J. S.; PACHECO,W.S.P.; MALAVASI,A.Moscas-das-frutas quarentenárias para o Brasil. In: SILVA, R.A.; LEMOS, W.P.; ZUCCHI, R. A. (Eds) **Moscas-das-frutas na Amazônia brasileira: diversidade, hospedeiros e inimigos naturais**, 2011. 299p.

GREWAL, P. S. Formulation and application technology. In: GAUGLER, R (ed.) **Entomopathogenic nematology**, 2002. p. 265-287.

GREWAL, P. S.; CONSERVE, V. Mechanisms of specificity of association between the nematode *Steinernema scapterisci* and its symbiotic bacterium. **Parasitology**, v.114, p. 483-488, 1997.

GRIFFIN, C.T.; DOWNES, M.J.; BLOCK, W. Tests of Antarctic soils for insect parasitic nematodes. **Antarctic Science**, v. 2, n. 2, p. 221-222, 2005.

HAN, R.; EHLERS, R. U. Pathogenicity, development, and reproduction of *Heterorhabditis bacteriophora* and *Steinernema carpocapsae* under axenic in vivo conditions. **Journal of Invertebrate Pathology**, v.75, p. 55–58, 2000.

HÄRTER, W. da R.; GRÜTZMACHER, A. D.; NAVA, D. E.; GONÇALVES, R. da S.; BOTTON, M. Isca tóxica e disrupção sexual no controle da mosca da fruta sul americana e da mariposa oriental em pessegueiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 45, n. 3, p. 229-235, 2010.

HEAD, J.; WALTERS, K.F.A.; LANGTON, S. Compatibility of the nematode *Steinernema feltiae* and chemical insecticides for the control of the South American leafminer, *Liriomyza huidobrensis*. **Biocontrol**, v. 45, p. 345-353, 2000.

HERNANDES, J. L.; BLAIN, G. C. ; JÚNIOR, M. J. P. Controle de moscas-dasfrutas (Diptera: Tephritidae) em cultivo orgânico de ameixa pelo ensacamento dos frutos

com diferentes materiais. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 35, n. 4, p. 1209-1213, 2013.

HERNÁNDEZ-ORTIZ, V., J. GUILLÉN-AGUILAR E L. LÓPEZ. Taxonomia e identificação de moscas da fruta importância econômica na América. In: MONTOYA, P., J. TOLEDO E E. HERNÁNDEZ (Eds.). **Moscas da fruta: fundamentos e procedimentos para sua manejo**, 2010. p. 49-80.

ISHIBASHI, N.; TAKII, S. Effects of Insecticides on Movement, Nictation, and Infectivity of *Steinernema carpocapsae.* **Journal of Nematology**, v. 25, n. 2, p. 204-213, 1993.

JESUS-BARROS, C. R.; ADAIME, R.; OLIVEIRA, M. N.; SILVA, W. R.; COSTA-NETO, S. V.; SOUZA-FILHO, M. F. *Anastrepha* (Diptera: Tephritidae) Species, Their Hosts and Parasitoids (Hymenoptera: Braconidae) in Five Municipalities ofthe State of Amapá, Brazil. **Florida Entomologist**, v. 95, n. 3, p. 694-705, 2012.

JOHNIGK, S.A.; EHLERS, R.U. Juvenule development and life cycle of *Heterorhabditis bacteriophora* and *H. indica* (Nematoda: Heterorhabditidae). **Nematology**, v. 1 n· 1, p.717-726, 1999.

KENDE, H. Ethylene biosynthesis. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, v. 44, p. 283-307, 1993.

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

KOPPENHÖFER, A.M.; GREWAL, P.S.; Compatibility and interactions with agrochemicals and other biocontrol agents. In: GREWAL, P.S.; EHLERS, R.U.; SHAPIRO-ILAN, D.I. (Ed.) Nematodes as Biocontrol Agents. **CABI Publishing**, 2005. p. 363-382.

KOPPENHÖFER, A. M.; GREWAL, P.S.; KAYA, H.K.; Synergism of imidacloprid and entomopathogenic nematodes against white grubs: them mechanism. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v. 94, n. 3, p. 283-293, 2000a.

KOPPENHÖFER, A.M.; BROWN, I.M.; GAUGLER, R.; GREWAL,P.S.; KAYA, H.K.; KLEIN, M.G. ; Synergism of entomopathogenic nematodes and imidacloprid against white grubs: greenhouse and field evaluation. **Biological Control**, v. 19, n. 3, p. 245-252, 2000b.

KOPPENHÖFER, A.M.; KAYA, H. K. Synergism of imidacloprid and an entomopathogenic nematode: a novel approach to White Grub (Coleoptera: Scarabaeidae) control in turfgrass. **Journal of Economic Entomology**, v. 91, p. 618-623, 1998.

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

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

LAZNIK, Z.; VIDRIH, M.; TRDAN, S. The Effects of Different Fungicides on the Viability of Entomopathogenic Nematodes *Steinernema feltiae* (Filipjev), *S. carpocapsae* Weiser, and *Heterorhabditis downesi* Stock, Griffin & Burnell (Nemat oda: Rhabditida) under Laboratory Conditions. **Chilean Journal of Agricultural Research**, v.72, n.1, p. 62-67, 2012.

LEITE, L.G.; SILVEIRA E. Bioinseticida feito de microrganismos. **Sociedade Brasileira de Nematologia**.v.243, p.78-79, 2016.

LEITE, L. G.; TAVARES, F. M.; BOTELHO, P. S. M.; FILHO, A. B.; POLANCZYK, R. A.; SCHMIDT, F. S.; Eficiência de nematóides entomopatogênicos e inseticidas químicos contra *Sphenophorus levis* e *Leucothyreus sp.* em cana-de-açúcar. **Pesquisa Agropecuária Troprical**, v. 42, n. 1, p. 40-48, 2012.

LEITE, L. G.; MACHADO, L. A.; AGUILLERA, M. M.; RODRIGUES, R. C. D.; NEGRISOLI JR., A. S. Patogenicidade de *Steinernema spp*. e *Heterorhabditis sp*. (Nematoda: Rhabditida) à ninfas da cigarrinha da raiz da cana de-açucar, *Mahanarva fimbriolata*. **Revista Agricola**, v. 78, p.139-148, 2003.

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

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

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

LIQUIDO, N.J., SHINODA, L.A.; CUNNINGHAM, R.T. Host plants of the Mediterranean fruit fly (Diptera: Tephritidae): na annoted world review. **Entomological Society of America**, 1991. 52 p.

MAGNABOSCO, M. E. B.; ANDALÓ, V.; FARIA, L. S. NEMATOIDES Compatibilidade entre nematoides entomopatogênicos e produtos fitossanitários utilizados no tratamento de sementes de milho. **Ciência Agrária**, v. 40, n. 6, p. 248-2496, 2019.

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

MALAVASI, A. Biologia, ciclo de vida, relação com o hospedeiro, espécies importantes e biogeografia de tefritideos, In: MALAVASI, A.; VIRGÍNIO, J. [Eds.], **Biologia, Monitoramento e Controle de Moscas-das-frutas**, 2009. p.1-15.

MALAVASI, A.; MORGANTE, J. S. Biologia de moscas-das-frutas (Diptera:Tephritidae). II. Índice de infestação em diferentes hospedeiros e localidades. **Revista Brasileira de Biologia**, v. 40, n.1, p.17-24, 1980.

MINAS, R. S.; DOLINSKI, C.; CARVALHO, R. S.; SOUZA, R. M. Controle biológico da mosca-do-mediterrâneo *Ceratitis capitata* utilizando nematoides entomopatogênicos em laboratório biological control of fruit fly *Ceratitis capitata* using entomopathogenic nematodes in laboratory. **Scientia Agraria**, v.12, n.2, p.115-119, 2011.

MONTEIRO, C. M. de O; RENATA DA SILVA MATOS, R.S.; PRATA, M. C. A.; BATISTA, E. S.; PERINOTTO, W. M. S.; BITTENCOURT, V. R. E. P.; FURLONG, J.; CARVALHO,V. A. M. Compatibilidade de *Heterorhabditis amazonensis* (Rhabditida: Heterorhabditidae) isolado RSC-5 com diferentes carrapaticidas utilizados no controle de *Rhipicephalus microplus* (Acari: Ixodidae). **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 81, n. 1, p. 3-8, 2014.

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

NASCIMENTO, A. S.; CARVALHO, R. S. Manejo integrado de mosca-das-frutas. IN: MALAVASI, A. ZUCCHI, R. A. **Mosca-das-frutas de importância econômica no Brasil**, 2000. p .169-174.

NEGRISOLI JR., A.S., C.R.C. BARBOSA; A. MOINO JR. Comparação entre metodologias de avaliação da compatibilidade de produtos fitossanitários com nematóides entomopatogênicos (Nematoda: Rhabditida). **Nematologia Brasilleira**, v. 32. n. 1, p. 65-76, 2008.

NGUYEN, K. B.; DUNCAN, L, W. *Steinernema diaprepesi* n. sp. (Rhabditida: Steinernematidae), a Parasite of the Citrus Root Weevil *Diaprepes abbreviatus* (L) (Coleoptera: Curculionidae). **Journal of Nematology**, v. 34, n. 2, p.159-170, 2002.

NISHIMATSU, T.; JACKSON, J. J. Interaction of insecticides, entomopathogenic nematodes, and larvae of the Western Corn Root Worm (Coleoptera: Chrysomelidae). **Journal Economic Entomology**, n. 91, n. 2, p. 410-418, 1998.

NUNES, A.M.; COSTA,K. Z.; FAGGIONI, K.M.; COSTA, M,L.Z.; GONÇALVES, R.S.; WALDER, J.M.M.; GARCIA, M.S.; NAVA, D.E. Dietas artificiais para a criação de larvas e adultos de moscas-das-frutas Sul-americana. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 48, p.1309-1314, 2013.

NÚÑEZ-CAMPERO, S. R.; ALUJA, M.; RULL, J.; OVRUSKI, S. M. Comparative demography of three Neotropical larval-prepupal parasitoid species associated with *Anastrepha fraterculus* (Diptera: Tephritidae). **Biological Control**, v. 69, p. 8-17, 2014.

OEPP/EPPO. Data sheets on quarantine organism, *Ceratitis capitata*. **Bulletin OEPP/EPPO**, v. 11, n.1, p.1-7, 1989.

PAIVA, P. E. B.; GARCIA, J. F.; AGUILLERA, M. M. Ocorrência de nematoides entomopatogênico, *Heterorhabditis* Poinar, 1976, em área de citros no estado de SãoPaulo. **In: SIMPOSIO DE CONTROLE BIOLOGICO**, v. 8, 2003. **Anais.**..2003.

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

PETERS, A.; POULLOT, D. Side effects of surfactants and pesticides on entomopathogenic nematodes assessed using advanced IOBC guidelines. **IOBC / WPRS Bulletin**, v. 27, n. 6, p. 67-72, 2004.

PHAN, K. L. *et al. Heterorhabditis baujardi* n.sp. (Rhabditida: Heterorhabditidae) from Vietnam and morphometric data for *H. indica* populations. **Nematology,** v. 5, n. 3, p. 367-382, 2003.

PIZANO, M. A., AGUILERA, M. M., MONTEIRO, A. R., FERROY, L. C. C. B. Incidência de *Neoaplectana glaseri* Steiner, 1929 (Nematoda: Steinernematidae) parasitando ovo de *Migdolus fryanus* (Westwood, 1863) (Col: Cerambycidae). **Reunião da Sociedade Brasileira de Nematologia**, v. 9, p. 1, 1985.

POINAR, G. O.; GREWAL, P. S. History of entomopathogenic nematology. **Journal of Nematology**, v. 44, n. 2, p.153-161, 2012.

POINAR, G.O.JR. Taxonomy and biology of Steinernematidae and Heterorhabditidae. In: GAUGLER, R.; KAYA, H.K. (Eds.). **Entomopathogenic nematodes in biological control**, 1990. p. 23-62.

RAGA, A.; MACHADO, R. A.; DINARDO, W.; STRIKIS, P. C. Eficácia de atrativos alimentares na captura de moscas das frutas em pomar de citros. **Bragantia**, v. 65, n. 2, p. 337-345, 2006.

RAGA, A.; SOUZA-FILHO, M. F. Manejo e monitoramento de moscas –das-frutas. **Reunião Itinerante de Fitossanidade do Instituto Biológico**, v. 3, pp. 87-99, 2000.

REYES, J. D.; CENTENO, J. C. M.; OCHOA, G. V. Population fluctuation of fruit fllies (Diptera: Tephritidae) in Nicaragua, based on the phytosanitary surveillance system, 2017. **Scientific journal**, v. 19, n. 33, p. 66-71, 2019.

REYES, J.; SANTIAGO, G.; HERNANDEZ, P. The Mexican fruit fly eradication programme. In: TAN, K.H. (Ed.). **Area-Wide Control of Fruit Flies and Others Pests**, 2000. p. 377-380.

ROHDE, C.; JUNIOR, A. M.; MERTZ, N. R.; KRUPA, P.; RAMALHO, K. R. . O. Compatibilidade de nematóides entomopatogênicos e extratos vegetais aquosos visando o controle da mosca-das-frutas *Ceratitis capitata* (Wiedemann) (Diptera: Tephritidae). **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v. 34, n. 3, p. 1033-1042, 2013.

ROHDE, C.; JUNIOR, AM.; CARVALHO, F. D.; SILVA, M. A. T. Selection of entomopathogenic nematoides for control of the fruit fly *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae). **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v. 7, p. 797-802, 2012.

ROHDE, C.; MOINO JUNIOR, A.; SILVA, M. A. T.; CARVALHO, F. D.; FERREIRA, C. S. Influence of soil temperature and moisture on the infectivity] of entomopathogenic nematodes (Rhabditida Heterorhabiditidae e Steinernematidae) against larvae of *Ceratitis capitata* (Wiedemann) (Diptera: Tephritidae). **Neotropical Entomology**, v. 39, n. 4, p. 608- 611, 2011.

ROSA, J. M. O., *et al.* Caracterização de isolados brasileiros de nematoides entomopatogênicos. **In: CONGRESSO BRASILEIRO DE NEMATOLOGIA**, v. 31, 2013.

ROVESTI, L.; DESEÖ, K.V. Compatibility of chemical pesticides with the entomopathogenic nematodes *Heterorhabditis heliothidis*. **Nematologica**, v. 37, p.113-122, 1991.

SAUNDERS, J. E., WEBSTER, J. M. Laboratory test of susceptibility of some forest insect pest to *Heterorhabditis megidis* H90 (Nematoda). **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 76, p. 76-78, 2002.

SCHROEDER, W. J. Suppression of *Diaprepes abbreviatus* (Coleoptera: Curculionidae) adult emergence with soil application of entomopathogenic

nematodes (Nematoda: Rhabditida). **Florida Entomologist**, v. 73, n. 4, p. 680-683, 1990.

SHAPIRO-ILAN, D.; ROJAS,M. G.; MORALES-RAMOS, J. A.; LEWIS, E. E.;TEDDERS, W. L. Effects of host nutrition on virulence and fitness of entomopathogenic nematodes: Lipid and protein based supplements in *Tenebrio molitor* diets. **Journal of Nematology**, v. 40, p.13-19, 2008.

SILVA, A. C.; FILHO, A. B.; LEITE, L. G.; TAVARES; F. M.; RAGA, A.; SCHMIDT, F.S. Efeito de Nematoides Entomopatogênicos na Mortalidade da Moscado Mediterrâneo, *Ceratitis capitata*, e do Gorgulho-da-goiaba, *Conotrachelus psidii.* **Nematologia Brasileira**, v. 34, n.1, p. 31-40, 2010.

SILVA, M. E. S.; BARRETO, M. R.; WOCHNER. M.A.; SOUSA, M. S. M. ADAIME, R. Moscas-das-frutas (Diptera:Tephritidae), suas plantas hospedeiras e parasitoides (Hymenoptera: Braconidae) no norte do estado de Mato Grosso, Brasil. **Pesquisas Agrárias e Ambientais**, v. 7, n. 5, p. 513-519, 2019.

SILVA, R. da.; LEMOS, W. De P.; ZUCCHI, R. A. **Ocorrência e hospedeiros de *Ceratitis capitata* na Amazônia brasileira**, In: SILVA, R. A. da; LEMOS, W. de P.; ZUCCHI, R. A. (Ed.). Moscas-das-frutas na Amazônia brasileira: diversidade, hospedeiros e inimigos naturais, 2011. p. 199-215.

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

SOUZA, L.M.; MOINO JÚNIOR, A.; MERTZ, N. R.; SILVA, M. A. T.; SOARES, F. M.; BONETE, R.Z. FILHO. Nematoides entomopatogênicos e compatibilidade com imidaclopride visando ao controle de *Spodoptera frugiperda* em viveiro florestal. **Nematologia Brasileira**, v. 36, n. 2, p. 32-41, 2012.

SOUZA-FILHO, M. F. de; RAGA, A.; ZUCCHI, R. A. Moscas-das-frutas nos Estados brasileiros. p. 277-283. In: MALAVASI, A.; ZUCCHI, R. A. (Eds.). Moscas-das-frutas de importância econômica no Brasil: conhecimento básico e aplicado. **Editora Holos**, 2000. 327 p.

STARK, J. E. R.; LACEY, L. A. Susceptibility of western cherry fruit fly (Dipetera: Tephritidae) to five species of entomopathogenic nematoides in laboratory studies. **Journal of Invertabrate Pathology**, v. 74, n. 2, p. 206-208, 1999.

STRAUCH, O.; EHLERS, R. U. Food signal production of *Photorhabdus luminescens* inducing recovery of entomopathogenic nematodes *Heterorhabditis spp*. in liquid culture. **Applied Microbiology Biotechnology**, v. 50, p. 369-374, 2003.

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

SUBRAMANIAN S., MUTHULAKSHMI M. Entomopathogenic nematodes in Omkar, editor. (Ed.), Ecofriendly pest management for food security. **Elsevier**, 2016. p. 367-410.

SUNANDA, B.S.; JEYAKUMAR, P.; JACOB, V. V. Bioefficacy of different formulations of entomopathogenic nematode *Steinernema carpocapsae* against diamond back moth (*Plutella xylostella*) infesting cabbage (*Brassica oleracea* var. *capitata*). **Journal Biopest**, v. 7, n. 2, p. 210-215, 2014.

TAVARES, M. F.; FILHO, B. A.; LEITE, L G.; TAVARES, M. G. Avaliação de isolados de nematóides entomopatogênicos sobre a mosca-dos-fungos, *Bradysia mabiusi* (Diptera: Sciaridae), praga em estufas. **BioAssay**, v. 7, n. 9, p. 1-6, 2012.

TAVARES, F.M.; FILHO.; LEITE, L.G.; ALMEIDA, L.C.; GOULART, T.M. Efeitos sinérgicos de combinações entre nematóides entomopatogênicos (Nemata: Rhabditida) e inseticidas químicos na mortalidade de *Sphenophorus levis* (Vaurie) (Coleoptera: Curculionidae). **BioAssay**, v. 4, n. 7, p.1-10, 2009.

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

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

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

VIRGINO, J.F. ; GÓIMEZ, M.; PINTO, A. M.; ANIELY, G. G.; PARANHOS, B. J.; GAVA, C. A. T. CÁCERES, C.; WALDER, J. M. M. Male sexual competitiveness of two *Ceratitis capitata* strains, tsI Vienna 8 and OX3864 A transgenic, in field cage conditions. **Entomologia Experimental et Applicata**, v.164, p- 318-326, 2017.

WHITE, G.F. A method for obtaining infective nematode larvae from cultures. **Science**, v. 66, p. 302-303, 1927.

WOODRING, J. L.; KAYA, H. K. **Steinernematid and Heterorhabditid Nematodes: A Handbook of Biology and Techniques**. Southern Cooperative Series Bulletin, v. 331, 1988. 30p.

YEE, W.; LACEY, L. A. Stage-specifíc mortality of *Rhagoletis indiferens* (Diptera: Tephritidae) exposed to three species of steinernema nematoides. **Biological Control**, v. 27, n. 3, p. 349-356, 2003.

YEE, W.; LACEY, L. A. Stage-specifíc mortality of *Rhagoletis indiferens* (Diptera: Tephritidae) exposed to three species of *Steinernema* nematoides. **Biological Control**, v. 27, n. 3, p. 349-356, 2003.

ZUCCHI, R.A. Mosca-do-mediterrâneo, *Ceratitis capitata* (Wiedemann), p. 153-172. In: VILELA, E.F.; ZUCCHI, R. A. (Eds.). Pragas introduzidas no Brasil: insetos e ácaros, **FEALQ**, 2015. 908 p.

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

ZUCCHI, R.A.; MALAVASI, A.; NASCIMENTO, A.S.; WALDER, J. M. M.; Prejuízos das moscas-das-frutas na exportação de citros. **Visão Agrícola**, n. 2, p.73-77, 2004.

ZUCCHI, R. A. Diversidade, distribuição e hospedeiros do gênero *Anastrepha* no Brasil, p.77-100. In: HERNÁNDEZ-ORTIZ V (ed), os frutos voam na América Latina (Diptera: Tephritidae). **S e G Editores**, 2007. 167p

ZUCCHI, R. A. Taxonomia.in: MALAVASI, A.; ZUCCHI, R.A. (Ed.). Moscas-dasfrutas de importância econômica no Brasil: conhecimento básico e aplicado. **Holos**, 2000. p.13-24.