

EFEITO DE PRODUTOS QUÍMICOS ESTERILIZANTES  
SOBRE *Ceratitis capitata* (WIEDEMANN, 1824) (DIPTERA:  
TEPHRITIDAE), SEUS SIMBIONTES E O  
PREDADOR *Chrysoperla externa* (HAGEN, 1861)  
(NEUROPTERA: CHRYSOPIDAE)

CARLOS ALBERTO PÉREZ

Orientador: Dr. OCTÁVIO NAKANO

Dissertação apresentada à Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", da Universidade de São Paulo, para obtenção do título de Mestre em Ciências Biológicas - Área de concentração: Entomologia.

PIRACICABA  
Estado de São Paulo - Brasil  
Outubro, 1983

*Aos meus pais  
e irmãos*  
DEDICO

Ao Dr. OCTÁVIO NAKANO

*Professor Titular, Chefe do Depto. de Entomologia  
da Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz"  
da Universidade de São Paulo.*

*pela amizade, estímulo e  
preciosa orientação no  
transcorrer da minha formação  
profissional.*

*minha profunda gratidão.*

A G R A D E C I M E N T O S

- À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pela oportunidade oferecida para treinamento ao nível de Pós-Graduação;
- Ao Dr. Brasília Seraphin de Oliveira Junior, Chefe da Seção de Meios de Cultura do Instituto Biológico de São Paulo, pela amizade, apoio e orientação deste trabalho no estudo do bioquimismo bacteriano;
- Aos Professores do Departamento de Entomologia da Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", da Universidade de São Paulo, pela amizade, esforço e dedicação na formação científica;
- Ao Instituto Biológico de São Paulo na pessoa do Dr. Nelson Suplicy Filho e colaboradores da Seção de Meios de Cultura por ter possibilitado a execução de parte deste trabalho;
- Aos Eng<sup>os</sup> Agr<sup>os</sup> Maria Denise Dorizzoti, M.S. Silvio Bertolotti e Elias Melotto pelo estímulo e apoio recebidos, o meu sincero reconhecimento;
- Aos Professores Gilberto Casadei de Batista e José R.P. Parra pelas valiosas sugestões e atenção dedicada;
- Ao Ph.D. Allen L. Steinhauer, prof. Chefe do Departamento de Entomologia da Universidade de Maryland pelo auxílio na versão do resumo.
- Ao Dr. Francisco Ivaldo O. Melo, da EMBRAPA, pela amizade e valiosa orientação na análise estatística;

Aos Eng<sup>os</sup> Florestal e Agrônomos Roberto Alonso Silveira, Quel-  
zia M.S. Melo, Daniel R. Soza e Amaury D. Paulo, pela ami-  
zade, apoio e estímulo desde o início do curso de Pós-Gra-  
duação.

Ao Ph.D. Norman D. Penny do INPA pela determinação do preda-  
dor utilizado.

Aos funcionários da Biblioteca - ESALQ, em especial ao Sr.  
Luiz Carlos Veríssimo pela amizade e colaboração.

ã M.S. Maria das Graças Ongarelli do Setor de Microscopia  
Eletrônica do Centro de Energia Nuclear na Agricultura (CE-  
NA), pela colaboração na obtenção das fotomicrografiãs.

## ÍNDICE

	Página
LISTA DE QUADROS .....	ix
LISTA DE FIGURAS .....	xiv
RESUMO .....	xvi
SUMMARY .....	xix
1. INTRODUÇÃO .....	1
2. REVISÃO DE LITERATURA .....	5
2.1. Flutuação de moscas-das-frutas .....	5
2.2. Conceitos de quimioesterilização .....	7
2.3. Uso de quimioesterilizantes na supressão de insetos .....	13
2.4. Simbiontes, ecologia e funções nos insetos ..	19
2.4.1. Origem das associações simbióticas ...	20
2.4.2. Localização e mecanismos de transmissão dos simbiontes nos insetos .....	21
2.4.3. Especificidade dos simbiontes .....	25
2.4.4. Importância dos simbiontes na síntese de nutrientes nos insetos .....	25
2.4.5. Eliminação de microrganismos simbiontes dos insetos - efeitos.....	26
2.4.6. Participação dos simbiontes na fisiologia dos insetos .....	28
3. MATERIAL E MÉTODOS .....	29
3.1. Estudo de esterilidade sexual .....	29
3.1.1. Materiais .....	29
3.1.1.1. Espécies de insetos utilizadas	29
3.1.1.2. Dietas utilizadas .....	29
3.1.1.3. Substâncias quimioesterilizantes experimentadas .....	32
3.1.1.4. Gaiolas utilizadas para confinamento e testes com adultos de <i>C. capitata</i> e <i>C. externa</i> .	34

	Página
3.1.2. Métodos .....	37
3.1.2.1. Delineamento experimental ...	37
3.1.2.2. Tratamentos - dosagens .....	39
3.1.2.3. Instalação e execução dos ex- perimentos com <i>C. capitata</i> ..	41
3.1.2.3.1. Ensaios instalados	43
3.2. Estudo de simbioses .....	51
3.2.1. Exame em microscopia eletrônica .....	52
3.2.2. Exame citobacterioscópico .....	55
3.2.3. Tratamentos de <i>C. capitata</i> para obten- ção de aposimbiose .....	56
3.2.4. Obtenção do substrato visceral para o estudo bacteriológico .....	57
3.2.4.1. Adultos .....	57
3.2.4.2. Larvas .....	58
3.2.5. Meios de cultura utilizados para iso- lamento dos microrganismos .....	59
3.2.6. Identificação bioquímica dos microrga- nismos .....	60
3.2.7. Inoculação do substrato no meio de cul- tura e incubação .....	60
3.2.8. Interpretação dos microrganismos pro- liferados .....	61
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	63
4.1. Estudo de esterilidade de insetos .....	63
4.1.1. Ensaio I e II .....	66
4.1.2. Ensaio III .....	67
4.1.3. Ensaio IV .....	68
4.1.4. Ensaio V .....	69
4.1.5. Ensaio VI a X .....	71
4.1.6. Ensaio XI .....	72

	Página
4.1.7. Ensaio XII .....	75
4.1.8. Ensaio XIII .....	76
4.1.9. Ensaio XIV .....	77
4.1.10. Ensaio com <i>C. externa</i> .....	78
4.2. Simbiontes .....	81
4.2.1. Exame através de microscopia eletrônica .....	81
4.2.2. Exame citobacterioscópico .....	81
4.2.3. Tratamento de <i>C. capitata</i> para obtenção de aposimbiose .....	84
4.2.4. Germes isolados de substrato de larvas e adultos .....	87
4.2.5. Bioquimismo bacteriano dos microrganismos detectados .....	94
4.2.6. Considerações gerais .....	97
5. CONCLUSÕES .....	100
6. LITERATURA CITADA .....	105
7. APÊNDICE .....	118
APÊNDICE 1 .....	119
APÊNDICE 2 .....	129
APÊNDICE 3 .....	132



## LISTA DE QUADROS

QUADRO Nº		Página
I	Tendências populacionais teóricas de uma determinada praga sujeita a: A) nenhum tratamento; B) aplicação de inseticidas convencionais em gerações sucessivas; C) aplicação de quimioesterilizantes em gerações sucessivas .....	9
II	Tendências populacionais da aplicação da técnica de supressão por quimioesterilização x liberação de insetos estéreis ..	11
III	Tratamentos a que foram submetidos adultos de <i>C. capitata</i> através de dieta artificial, porcentagem média ajustada de eclosão e teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. T = 24 $\pm$ 2)C e U.R. = 70 $\pm$ 5%. ESALQ, Piracicaba-SP, 1981 a 1983 .	63
IV	Análise de variância conjunta para o estudo da viabilidade da oviposição de <i>C. capitata</i> . ESALQ, Piracicaba-SP, 1981 a 1983 .....	66
V	Tempo letal cinquenta (TL <sub>50</sub> ) observado em fêmeas (♀) e machos (♂) alimentados com dieta contendo esterilizantes. T = 24 $\pm$ 2)C e U.R. = 70 $\pm$ 5%. ESALQ, Piracicaba, SP, novembro e dezembro de 1982.	75

## QUADRO Nº

## Página

## APÊNDICE 3

I	Postura diária de 5 fêmeas de <i>C. capitata</i> alimentadas com dieta artificial contendo substâncias esterilizantes em várias dosagens, porcentagem de eclosão e total de ovos e de larvas eclodidas. T = $24 \pm 2^\circ\text{C}$ e U.R. = $70 \pm 5\%$ . ESALQ, Piracicaba-SP, dezembro de 1981 .....	133
II	Porcentagem de larvas de <i>C. capitata</i> procedentes de ovos de adultos alimentados com dieta contendo substâncias esterilizantes, transformadas em pupas e de pupas transformadas em adultos. T = $24 \pm 2^\circ\text{C}$ e U.R. = $70 \pm 5\%$ . ESALQ, Piracicaba - SP, dezembro de 1981. ....	134
III	Total de larvas de <i>C. capitata</i> , procedentes de ovos de adultos alimentados com dieta contendo substâncias esterilizantes, transformadas em adultos e porcentagem de adultos obtidos. T = $24 \pm 2^\circ\text{C}$ e U.R. = $70 \pm 5\%$ . ESALQ, Piracicaba-SP, dezembro de 1981 .....	135
IV	Postura diária de 5 fêmeas de <i>C. capitata</i> alimentadas com dieta artificial contendo substâncias esterilizantes em várias dosagens, porcentagem de eclosão e total de larvas eclodidas. T = $24 \pm 2^\circ\text{C}$ e U.R. = $70 \pm 5\%$ . ESALQ, Piracicaba, SP, fevereiro de 1981 .....	136

## QUADRO Nº

## Página

V	Porcentagem de larvas de <i>C. capitata</i> procedentes de ovos de adultos alimentados com dieta contendo substâncias esterilizantes, transformadas em pupas e de pupas transformadas em adultos. T = $24 \pm 2^\circ\text{C}$ e U.R. = $70 \pm 5\%$ . ESALQ, Piracicaba - SP, fevereiro de 1982 .....	137
VI	Total de larvas de <i>C. capitata</i> , procedentes de ovos de adultos alimentados com dieta contendo substâncias esterilizantes, transformadas em adultos e porcentagem de adultos obtidos. T= $24 \pm 2^\circ\text{C}$ e U.R.= $70 \pm 5\%$ . ESALQ, Piracicaba-SP, fevereiro de 1982 .....	138
VII	Porcentagem de eclosão de larvas de <i>C. capitata</i> procedentes de fêmeas x machos alimentados com dieta contendo esterilizantes. T = $24 \pm 2^\circ\text{C}$ e U.R. = $70 \pm 5\%$ . ESALQ, Piracicaba, SP, abril e maio de 1982 .....	139
VIII	Porcentagem de eclosão de larvas de <i>C. capitata</i> procedentes de fêmeas x machos alimentados com dieta contendo esterilizantes. T = $24 \pm 2^\circ\text{C}$ e U.R. = $70 \pm 5\%$ . ESALQ Piracicaba-SP, maio de 1982 .....	140

## QUADRO Nº

## Página

IX	Porcentagem de eclosão de larvas de <i>C. capitata</i> procedentes de fêmeas x machos alimentados com dieta contendo esterilizantes. T = $24 \pm 2 \text{ } ^\circ\text{C}$ e U.R. = $70 \pm 5\%$ , ESALQ Piracicaba-SP, maio e junho de 1982 ....	141
X	Porcentagem de eclosão de larvas de <i>C. capitata</i> procedentes de fêmeas x machos alimentados com dieta contendo esterilizantes. T = $24 \pm 2 \text{ } ^\circ\text{C}$ e U.R. = $70 \pm 5\%$ . ESALQ Piracicaba-SP, novembro e dezembro de 1982 .....	142
XI	Porcentagem de mortalidade acumulada de fêmeas e machos, alimentados com dieta contendo substâncias esterilizantes, durante 30 dias de observação. T = $24 \pm 2 \text{ } ^\circ\text{C}$ e U.R. = $70 \pm 5\%$ . ESALQ, Piracicaba - SP, novembro de 1982 .....	143
XII	Porcentagem de eclosão de larvas de <i>C. capitata</i> procedentes de fêmeas alimentadas com dieta contendo esterilizantes x machos alimentados com dieta normal. T = $24 \pm 2 \text{ } ^\circ\text{C}$ e U.R. = $70 \pm 5\%$ . ESALQ, Piracicaba-SP, janeiro de 1983 .....	144
XIII	Porcentagem de mortalidade acumulada de fêmeas alimentadas com substâncias esterilizantes durante 30 dias de observação. T= $24 \pm 2 \text{ } ^\circ\text{C}$ e U.R.= $70 \pm 5\%$ . ESALQ, Piracicaba SP, janeiro de 1983 .....	145

## QUADRO Nº

## Página

XIV	Porcentagem de eclosão de larvas de <i>C. capitata</i> procedentes de fêmeas alimentadas com dieta normal x machos alimentados com substâncias esterilizantes. T = $24 \pm 2^\circ\text{C}$ e U.R. = $70 \pm 5\%$ . ESALQ, Piracicaba-SP, dezembro de 1982 e janeiro de 1983 .....	146
XV	Porcentagem de mortalidade acumulada de fêmeas alimentadas com dieta normal x machos alimentados com substâncias esterilizantes. T = $24 \pm 2^\circ\text{C}$ e U.R. = $70 \pm 5\%$ . ESALQ Piracicaba-SP, janeiro de 1983 .....	147
XVI	Porcentagem de eclosão de larvas de <i>C. capitata</i> procedentes de fêmeas e machos alimentados com dieta contendo esterilizantes. T = $24 \pm 2^\circ\text{C}$ e U.R. = $70 \pm 5\%$ . ESALQ Piracicaba-SP, janeiro de 1983. ....	148
XVII	Porcentagem de mortalidade acumulada de fêmeas e machos alimentados com dietas contendo esterilizantes. T = $24 \pm 2^\circ\text{C}$ e U.R. = $70 \pm 5\%$ . ESALQ, Piracicaba, SP, janeiro de 1983 .....	149

## LISTA DE FIGURAS

FIGURA Nº		Página
1a	Desenho esquemático da gaiola grande. Capacidade para 1500 moscas .....	35
1b	Desenho esquemático das gaiolas medianas e pequena. Capacidade para 20 e 10 insetos respectivamente .....	36
1c	Gaiola de papelão para acondicionamento de pupas .....	38
2	Triagem para diagnóstico de microrganismos gram-negativos (adaptado de COWAN & STEEL, 1970) .....	53
3	Triagem para diagnóstico de microrganismos gram-positivos (adaptado de COWAN & STEEL, 1970) .....	54
4	Efeito de substâncias esterilizantes em ovos de <i>C. externa</i> .....	80
5	Eletrofotomicrografia mostrando as bactérias encontradas no mesentero de <i>C. capitata</i> (18.236 x). A - Microrganismo com estrutura morfológica bacilar; B - Elemento esférico evidenciando estrutura morfológica dos cocos .....	82
6	Eletrofotomicrografia mostrando algumas das bactérias presentes no mesentero de <i>C. capitata</i> (36.472 x) .....	83

FIGURA Nº		Página
7	Antibiograma espectro <i>Pseudomonas</i> sp com polidiscos Lorian .....	85
8	Antibiograma espectro <i>Coliaerogenes</i> com polidiscos Lorian .....	86
9	Meio Ágar Simples. Cultura pura com numerosas colônias de <i>E. coli</i> isoladas .....	88
10	Meio Holt-Harris-Teague mostrando inúmeras colônias de bactérias inerentes a flora bacteriana do intestino de <i>C. capitata</i> .....	89
11	Meio Holt-Harris-Teague mostrando um número escasso de colônias isoladas de <i>E. coli</i> .....	90

**RESUMO**

Neste trabalho, pesquisou-se o emprego de substâncias esterilizantes sexuais em doses crescentes sobre *Ceratitis capitata* (Wied. 1824) (Diptera: Tephritidae) e o predador *Chrysoperia externa* (Hagen, 1861) (Neuroptera: Chrysodidae) e a participação de bactérias simbiotes existentes no interior do trato digestivo da *C. capitata* na degradação dessas substâncias.

Pelo método de próbitos foi estabelecido o tempo letal cinquenta (TL<sub>50</sub>) ocasionado pelas referidas substâncias em diversas dosagens para ambos os sexos de *C. capitata*. A mortalidade das fêmeas antes de 35 dias foi devida aos produtos testados: oxiclureto de cobre a 0,10% e 0,12% e avermectin 45 ppm com TL<sub>50</sub> aos 35,23; 19,49 e 19,50 dias respectivamente; de igual maneira para os machos com TL<sub>50</sub> 9,78; 7,32 e 6,9 dias respectivamente. O diflubenzuron testados nas dosagens entre 25 e 2000 ppm não mostrou efeito prejudicial às



moscas. O avermectin nas dosagens de 31 a 35 ppm foi o que a presentou os melhores resultados, proporcionando maior longevidade aos adultos de *C. capitata* e evitando com que as fêmeas, apesar de copuladas, efetuassem postura, característica importante num programa de quimioesterilização.

O oxicloreto de cobre a 0,1% conferiu esterilidade temporária às fêmeas de *C. capitata* com recuperação de 25 dias após o tratamento. Methoprene e pH-6044 mostraram-se pouco eficientes.

Quando machos tratados com avermectin 31,33, 35 e 37 ppm e oxicloreto de cobre 0,10% copularam fêmeas virgens não tratadas, verificou-se um notável aumento na longevidade das mesmas. Por outro lado, fêmeas alimentadas com substâncias esterilizantes durante 3 dias e acasaladas com machos não tratados, tiveram a mesma longevidade quando comparada com casais igualmente tratados.

Em adultos de *C. externa* o avermectin 35 ppm provocou anormalidades nos ovos como fragilidade do cório e redução do pedúnculo, a 30 ppm, ocasionou apenas uma redução de 30% na viabilidade dos ovos. O oxicloreto de cobre 0,12% causou além de atrofiamento do pedúnculo, diminuição no número de ovos/fêmea.

No que concerne à ineficiência do difluobenzu - a 2000 ppm, detectou-se na flora intestinal de *C. capitata* a través dos exames bacteriológico, alguns possíveis degradado -

res sendo constantes *Escherichia coli*, *Aerobacter aerogenes* e *Alcaligenes faecalis*.

EFFECT OF STERILANTS ON *Ceratitis capitata* (WIED. 1824 )  
(DIPTERA: TEPHRITIDAE), ITS SIMBIOTES AND THE PREDATOR *Chrysoperla externa* (HAGEN, 1861) (NEUROPTERA: CHRYSOPIDAE)

### SUMMARY

This a study of the use of sterilants in increasing dosages on the pest *Ceratitis capitata* (Wied., 1824) (Diptera : Tephritidae) and the predator *Chrysoperla* sp. (Neuroptera : Chrysopidae), as well as the presence of bacterial symbionte in the digestive tract of *C. capitata* on the degradation of these substances.

The LT<sub>50</sub> of the substances was established for each dose on both sexes of *C. capitata*, as follows: Copper oxychloride at 0.10% and 0.12% and avermectin at 45 ppm had LT<sub>50</sub>'s of 35.23, 19.49 and 19.50 days respectively for females; for males, the respective LT<sub>50</sub>'s were 9.78, 7.32 and 6.9 days. The untreated controls for males had an LT<sub>50</sub> of 23.62 days, indicating that the same types of procedure used for females contributed to male mortality to some extent.

Diﬂubenzuron, tested at dosages from 25 to

2000 ppm, did not show any effect either viability or fecundity of *C. capitata*.

Avermectin at 31 and 35 ppm gave the best results, since they allowed greater longevity to adults of *C. capitata* and the females did not oviposit during their life, an important characteristic of sterilant. Copper oxychloride at 0.1%, even though it sterilized females, was not long lasting, since females recuperated within 25 days of treatment. As such, females with sperm from untreated males in their spermathecae can produce viable off-spring after this period.

Methoprene and PH-6044 were not efficient; the former probably due to its rapid degradation by light and the latter due to its similarity with the mode of action of Diflubenzuron.

When males treated with avermectin at 31, 33, 35 and 37 ppm, and copper oxychloride at 0.10% mated with untreated virgin females, the females experience a notated increase in longevity. However, fecundity of females mated with males treated at doses higher than those listed above was completely eliminated.

Females treated with that substances, when mated with untreated males, showed the same mortality as when mated with treated males.

Diflubenzuron, at dosages as high as 2000 ppm produced not effect on the viability or fecundity of *C. capi*

*tata*. A possible explanation for the lack of activity of this compound was the presence of the following organisms in the intestinal flora of *C. capitata*: *Escherichia coli*, *Aerobacter aerogenes*, *Alcaligenes faecalis*, *Pseudomonas fluorescens*, *Bacillus cereus*, *Streptococcus faecalis*, *Acholeplasma* sp e *Saccharomyces* sp.

## 1. INTRODUÇÃO

A diversidade climática no território brasileiro permite o cultivo de um grande número de plantas frutíferas nas suas diferentes regiões.

Atualmente, o Brasil, segundo maior produtor mundial de laranja e maior exportador de suco cítrico congelado, poderá intensificar a exportação de fruta cítrica fresca devido à alta demanda no mercado internacional.

Inegavelmente, o Estado de São Paulo contribui de maneira extraordinária para manter o país nessa liderança devido à existência de indústrias de processamento de frutos para obtenção de suco concentrado congelado.

As frutíferas de climas tropicais e temperados também têm mostrado expressiva expansão, principalmente as culturas da goiaba, nectarina, pêsego e maçã.

HENTSCHKE (1978) mostrou que a cultura da macieira ocupava em 1970 uma área de 2700 ha em todo o Brasil,

expandindo-se no ano de 1977 em cerca de 9000 ha. Dados mais recentes apresentados pelo autor, estimam a existência de aproximadamente 13.300 ha dessa rosácea no país.

Em relação a outras frutíferas cultivadas no período de 1975 a 1982 observou-se um crescimento de 4,9% de aumento/ano para o pêssego de mesa, 3,9% para pêssego industrial e 3,8% para a goiaba (PROGNÓSTICO, 82/83).

Para assegurar receitas máximas de divisas a longo prazo com exportação de citros e alcançar a autonomia no campo de outras frutíferas, torna-se necessário um eficiente controle fitossanitário considerando devidamente os aspectos ecológicos evitando desequilíbrios e conseqüentes surtos de pragas de difícil controle.

Dentre as pragas que prejudicam as culturas dos citros e outras frutíferas, encontram-se as moscas-das-frutas *Ceratitis capitata* (Wied., 1824) e as do gênero *Anastrepha* (NAKANO et alii, 1981).

A descoberta de eficientes produtos químicos, todos praticamente inócuos ao homem e animais úteis, exige que novas pesquisas sejam realizadas com a finalidade de se estudar em detalhes o comportamento desses produtos sobre essas pragas e seus simbioses inerentes ao trato intestinal que, segundo BOUSH e MATSUMURA (1967), são capazes de degradar inseticidas de vários grupos inibindo a sua ação ao serem ingeridos pelos insetos.

Na supressão da praga, vários autores citam os

métodos que podem ser adequadamente integrados, como o feromônio para captura de machos de *Dacus oleae* (MAZOMENOS e POMONIS, 1982); emprego de parasitos e predadores como inimigos naturais (De BACH, 1974 e KAPOOR e AGARWAL, 1982); técnica do macho estéril (HOOPER, 1975; KNIPLING, 1955 e NADEL e GUERRIERI, 1969); quimioesterilização (LA CHANCE et alii, 1968 e LA BREQUE et alii, 1962), métodos que constituem os principais objetivos dos pesquisadores atualmente visando uma substituição parcial de inseticidas.

Porém, KNIPLING (1979) afirma que este último método de controle é o mais eficiente e racional porque interrompe a reprodução de populações naturais de pragas, com efeitos imediatos pois os indivíduos estéreis da população tratada, tornam-se agentes biológicos capazes de anular o potencial reprodutivo de outros membros da população que não receberam o tratamento. Por outro lado, devido a razões práticas, os esterilizantes químicos podem ser aplicados por meio de implementos agrícolas dos quais o agricultor geralmente dispõe para aplicação de outros defensivos.

Considerando que os quimioesterilizantes em estudo são praticamente inócuos ao homem, elaborou-se a presente pesquisa com os seguintes objetivos:

a) Viabilidade do emprego de cobre e juveníides no controle da mosca-das-frutas; efeito de doses crescentes na população e a influência na geração Fl.

b) Viabilidade do uso desses produtos em iscas convencionais.



c) Efeito dessas iscas sobre os inimigos naturais mais freqüentes nos pomares de citros e outras frutíferas.

d) Comportamento dos machos tratados com fêmeas não tratadas e vice-versa e verificação do poder de transmissão do fator esterilizante do macho.

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1. Flutuação de moscas-das frutas

Vários trabalhos têm sido desenvolvidos no Brasil no que diz respeito a estudos populacionais e flutuação de moscas-das-frutas em diversos hospedeiros. PAVAN (1978) verificou que de uma maneira geral os 23 hospedeiros considerados são atacados pelos 3 grupos de moscas estudadas (*Ceratitis capitata*; complexo *Anastrepha* e Lonqueídeos) ocorrendo uma grande diferença na susceptibilidade à infestação dos diferentes hospedeiros; frutos diferentes, amadurecidos na mesma época e distantes um dos outros apresentaram níveis de infestação completamente diferentes. Outro fato de importância encontrado pelo autor, foi que níveis de infestação ao redor de 30 adultos/kg de frutos para o Calamondin simples e variegada; 2-20 adultos/kg para pera, caqui, maçã, tangerinas, manga e laranja volkamericana e abaixo de 2 adultos/kg às culturas comerciais de citros.

PÉREZ et alii (1980) estudando a flutuação e controle de moscas-das-frutas nos pomares do Município de Valinhos, SP constataram a presença de *C. capitata*, *A. fraterculus*, *A. grandis* e *A. dissimilis*.

FEHN (1980) e GARCIA (1981) investigando quais os possíveis fatores meteorológicos que influem na flutuação e dinâmica da população do gênero *Anastrepha* e *C. capitata*, em pomares de pêssego, citros e café, concluíram não haver dependência constante entre a população dos tefritídeos e os fatores meteorológicos estudados (temperatura, pluviosidade, umidade relativa do ar e velocidade do vento). O primeiro autor concluiu ainda que a disponibilidade de alimento em hospedeiros alternativos é o principal fator atuante sobre a flutuação e dinâmica dos referidos insetos.

PARRA et alii (1982) estudando a flutuação de *C. capitata* em cafeeiros verificaram que embora tenha ocorrido durante quase todo o período estudado houve uma predominância nos meses de maio a setembro, coincidindo com a fase de maturação dos frutos-do-café. Os autores salientam porém, que as fêmeas foram sempre mais numerosas que os machos, fato que eles justificam ao considerar que as fêmeas necessitam, para colocar ovos viáveis, alimentar-se de aminoácidos e carboidratos, que estão presentes na isca utilizada.

Vários estudos de grande importância referentes a flutuação populacional e ecologia destes insetos têm sido publicados (MOORE, 1960; BESS e HARAMOTO, 1961; KENNEDY, 1965; PUZZI e ORLANDO, 1965 e BATEMANN, 1972).

## 2.2. Conceitos de quimioesterilização

A supressão da reprodução em insetos através da esterilização de membros de populações naturais, envolve mecanismos de supressão que são completamente diferentes daquelas utilizadas na criação de organismos e posterior liberação para competição com os membros da população natural.

KNIPLING (1959) descreveu os conceitos do controle de pragas através da esterilização dos membros de populações naturais e as suas vantagens ao invés de provocar a sua morte. O uso prático dos esterilizantes químicos para reduzir a população de uma determinada praga, é diferente a da esterilidade convencional (macho estéril) ou à de técnicas genéticas que envolvem a liberação de organismos esterilizados. A similaridade e diferenças na ação de químicos esterilizantes são apontadas por KNIPLING (1979) como segue:

- O uso de esterilizantes químicos para interromper a reprodução em populações naturais de pragas envolve fundamentalmente a integração de dois métodos - o químico e o biológico - dentro de um único sistema de supressão. Caracteriza-se pelo efeito imediato da inibição da capacidade reprodutiva da porção da população tratada e conseqüentemente esterilizada. Estes indivíduos estéreis na população tornam-se agentes biológicos capazes de anular o potencial reprodutivo de outros membros da população que não foram esterilizados. O efeito secundário devido aos membros esterilizados, é propor-

cional, teoricamente, ao número de indivíduos esterilizados em relação àqueles que escaparam do tratamento de esterilização. Em termos simples, cada tipo de ação, tem um efeito supressivamente semelhante. Isto, obviamente assumindo que ambos os sexos são esterilizados e que estes são altamente competitivos quanto à cópula.

Para mostrar a eficiência da quimioesterilização é mostrado no Quadro 1 o efeito acumulativo hipotético e tendências populacionais de tratamentos com inseticidas convencionais e quimioesterilizantes separadamente (KNIPLING, 1979).

Segundo KNIPLING (1979) há 3 exigências básicas para que um quimioesterilizante seja efetivo:

- 1) O produto deve esterilizar ambos os sexos da população da praga.
- 2) Para conseguir maior eficiência, a esterilização deve ser permanente e deve ser alcançada evitando efeitos deletérios, já no comportamento da cópula, como na competitividade dos indivíduos esterilizados. O esperma de machos estéreis deve ser altamente competitivo com o esperma normal na espermateca, ou as fêmeas que copularem com machos estéreis não devem aceitar mais os machos normais.
- 3) A esterilização química deve ser altamente seletiva contra a praga alvo, ou devem ser desenvolvidos métodos para evitar que inimigos naturais sejam atingidos.

Quadro I. Tendências populacionais teóricas de uma determinada praga sujeita a: A) nenhum tratamento; B) aplicação de inseticidas convencionais em gerações sucessivas; C) aplicação de quimioesterilizantes em gerações sucessivas.<sup>1</sup>

(KNIPLING, 1979).

Geração	A sem tratamento			B-Tratamento com inseticida que mata 50% da população			C - Tratamento que esteriliza 90% da geração.			
	Antes do tratamento	Depois do tratamento	Progénie	Antes do tratamento	Depois do tratamento	Progénie	Antes do tratamento	Depois do trat.	Insetos reprodutores	
1.	1.000.000	1.000.000	500.000	1.000.000	100.000	500.000	1.000.000	100.000	10.000	50.000
2.	5.000.000	500.000	250.000	500.000	50.000	250.000	50.000	45.000	500	2.500
3.	25.000.000	250.000	125.000	250.000	25.000	125.000	2.500	2.250	250	125
4.	125.000.000 <sup>2</sup>	125.000	62.500	125.000	12.500	62.500	125	112	12,5	0
5.	125.000.000	62.500	31.250	62.500	6.250	31.250				
10.	125.000.000	1.953	976	1.953	195	976				
15.	125.000.000	61	31	61	6	31				
17.	125.000.000	15	0	15	<2	0				

<sup>1</sup> Taxa de aumento da população = 5x

<sup>2</sup> Representa a densidade máxima num ambiente = 125.000.000

A eficiência do tratamento com quimioesterilizantes para supressão de populações de pragas é independente da densidade da praga, característica semelhante à supressão de pragas pelo uso de inseticidas convencionais. Tal ação é diferente às características da supressão pela liberação de insetos estéreis ou geneticamente modificados.

As tendências populacionais de ambos os métodos podem ser apreciadas através da comparação do modelo populacional hipotético proposto por KNIPLING (1979) no Quadro II.

As diferenças entre os dois sistemas de esterilização devem ser bem estabelecidos, pois os quimioesterilizantes além de serem utilizados para esterilizar insetos em condições de laboratório para posterior liberação no campo, podem ser aplicados diretamente nas plantas atuando sobre os insetos que por ventura visitarem essas plantas.

O mesmo efeito de um determinado tratamento e dosagem de quimioesterilizante, independente da densidade da praga, significa que o custo de um dado nível de controle de insetos pelo uso destas substâncias, será essencialmente o mesmo se a densidade da praga for alta ou baixa. Portanto, o método pode ser altamente eficiente em número de indivíduos esterilizados quando a densidade da praga é alta, porém, altamente ineficiente quando for baixa.

Quadro II. Tendências populacionais da aplicação da técnica de supressão por quimioesterilização x liberação de insetos estéreis (KNIPLING, 1979).

Geração	População sujeita a tratamento de quimioesterilização que causa 90% de esterilidade em ca da geração.				População sujeita a liberação de insetos com número constante de indivíduos/geração baseando-se na proporção 9:1 da primeira geração				Número de insetos
	Insetos	Estéreis (E)	Férteis (F)	Taxa E:F	Progênie esperada	Insetos naturais	Insetos estéreis liberados	Taxa E:F	
1.	1.000.000	900.000	100.000	9:1	50.000	1.000.000	9.000.000	9:1	500.000
2.	50.000	45.000	5.000	9:1	2.500	500.000	9.000.000	18:1	131.580
3.	2.500	2.500	250	9:1	125	131.580	9.000.000	68:1	9.535
4.	125	112,5	12,5	9:1	6	9.535	9.000.000	944:1	50
5.	6	6	0	-	0	50	9.000.000	18000:1	



Assim em algumas situações a integração de outros métodos de supressão tais como a liberação suplementar de indivíduos esterilizados, seguindo a aplicação de quimio-esterilizantes seria vantajosa.

Vários autores têm apontado algumas vantagens do uso dos esterilizantes químicos: KNIPLING (1959); LA BREQUE et alii (1962); GOUCK e La BREQUE (1964); KNIPLING (1968); La CHANCE et alii (1968) e MASON et alii (1968); KNIPLING (1979) e são as seguintes:

1) A reprodução da população da praga na geração tratada é suprimida em proporção direta a da porcentagem da população esterilizada.

2) Os indivíduos esterilizados, tornam-se organismos biologicamente capazes de suprimir a reprodução da restante população fértil para um decréscimo igual à porcentagem da reprodução original esterilizada.

3) Os indivíduos esterilizados que sobrevivem em várias gerações subsequentes continuarão no processo de supressão da reprodução, proporcional à taxa de organismos estéril:fértil na população.

4) Os indivíduos esterilizados através da mobilização, são capazes de misturar-se com o resto da população e competir em cópulas com os indivíduos normais.

5) As populações de pragas sujeitas ao mesmo nível de supressão através de esterilizantes químicos, não se tornarão resistentes tão rapidamente como a um inseticida.

6) A população de uma praga sujeita a um tratamento de esterilização será mantida numa alta densidade quando comparada com uma população tratada com inseticida; assim a densidade dos indivíduos supressores, continuará a operar em alto nível até que a população decresça abaixo do nível da população tratada com um inseticida. Porém esta vantagem é temporária.

7) A técnica da esterilização é a forma mais humana para regular a população de organismos que se constituem numa praga.

Por outro lado existe a desvantagem sobre os inseticidas, e está na demora na supressão da população alvo. Se esta população já atingiu o nível de dano econômico, danos contínuos podem ser esperados até a queda da reprodução. A vantagem dos inseticidas é a supressão imediata da praga (KNIPPLING, 1979).

### 2.3. Uso de quimioesterilizantes na supressão de insetos

A esterilização, em certos casos, pode ser mais vantajosa do que outros métodos de controle de insetos pois as referidas substâncias são aplicadas em condições naturais. Estes produtos podem agir de várias maneiras, tais como impedindo a formação de ovos e esperma ou danificando o material genético, impedindo assim o desenvolvimento da progênie.

Examinando-se os trabalhos publicados relacionados com quimioesterilização de insetos, pode-se verificar que os produtos mais utilizados até a década de 70 em pesquisas de laboratório eram: apholate, tepa, uredepa, metepa, hempa e alguns nitrofuramos (GOUCK, 1964; GOUCK e La BRECQUE, 1964; HENNEBERRY et alii, 1968; MASON et alii, 1968 e HAFEZ et alii, 1969).

Entretanto, até agora, essas substâncias não foram empregadas na prática, pois comprovou-se tratar-se de agentes mutagênicos, teratogênicos, alquilantes ou produtores de esterilidade sexual em mamíferos.

SALGADO (1979) estudando o efeito biológico do oxicleto de cobre sobre *C. capitata* em condições de laboratório, forneceu concentrações crescentes do referido composto às dietas das larvas (0,0; 14; 26; 38; 50; 61; 70; 80 e 90 ppm) e (0,00; 0,05; 0,07; 0,09; 0,11 e 0,14%) na dieta dos adultos não tratados com o referido produto; verificou que houve influência do oxicleto de cobre para as referidas fases de desenvolvimento da mosca na medida que se aumentavam as dosagens da dieta, prolongando progressivamente o período larval em função da dosagem até alcançar a dose letal (100 ppm).

O mesmo autor também observou que a viabilidade de larvas e pupas foi reduzida de 84,56 e 81,65% para 24,88 e 38,18% (90 ppm oxicleto de cobre na dieta) respectivamente, com redução de peso das pupas, da postura média da fêmea e da longevidade média dos adultos. Para adultos alimentados

com oxiclureto de cobre (na dieta), observou um prolongamento do período de pré-oviposição e diminuição da longevidade nos descendentes da geração I, desses adultos. Observou ainda que o fornecimento de doses crescentes de cobre, na dieta dos adultos, causou atrofiamento progressivo nos ovários de *C. capitata*, sendo que a partir da concentração de 0,09% constatou -se que não houve postura apesar de ter ocorrido cópula normalmente. Esses resultados parecem confirmar em parte, os obtidos por BAKER et alii (1944) em *Anastrepha* spp que observaram ainda o efeito dessa substância sobre os simbiontes de tefritídeos.

Outro composto que tem mostrado boa eficiência no controle de insetos é o regulador de crescimento e esterilizante Diflubenzuron (N-(4-chlorophenyl)-N-(2,6 difluorobenzoil) urea).

TAFT e HOPKINS (1975) apontando algumas características do Diflubenzuron, indicam que o mesmo pode ser utilizado num programa de erradicação de insetos por tratar-se de um produto de baixa toxicidade aos mamíferos; com LD<sub>50</sub> para ratos entre 4640 e 10.000 mg/Kg sem acumular-se na cadeia alimentar e afetando o potencial reprodutivo da população da praga.

KUNZ et alii (1976), trabalhando com *Haematobia irritans* verificaram que aplicações de Diflubenzuron 0,5 e 1% sobre o gado, inibiram o desenvolvimento da mosca. O tratamento na concentração de 1% teve ação ovicida e inibição do

desenvolvimento das larvas, eliminando assim a emergência dos adultos quatro semanas após o tratamento, tempo suficiente para quebrar o ciclo de vida.

Ao efetuar aplicações tópicas do mesmo produto, em mosca do estábulo, WRIGHT e SPATES (1976) encontraram que uma solução a 5% provocou uma elevada mortalidade e os ovos das sobreviventes não foram viáveis. De outro lado, os ovos obtidos a partir de fêmeas tratadas em soluções 1 e 0,1% proporcionaram eclosões de 0,1 e 82,9% respectivamente. Porém, quando tratados ambos os sexos, a eclosão foi menor que 0,1% na menor dosagem. Os mesmos autores, observaram que machos tratados com soluções a 1% transferiram o efeito esterilizante às fêmeas por ocasião da cópula.

PICKENS e De MILLO (1977) estudando as concentrações e tempo de exposição de Diflubenzuron que pudessem causar entre 50 e 90% de inibição de eclosão, por ingestão ou contato do produto em adultos de *Musca automalis*, verificaram que o contato de machos com  $0,31 \text{ mg/cm}^2$  (tratados) durante quinze minutos e, cruzados posteriormente com fêmeas que não receberam o tratamento, produziu diminuição da eclosão em 93 a 100%. Por outro lado, quando fornecido o produto no alimento durante 7 dias, a inibição de eclosão foi de 81%. O mesmo fenômeno foi constatado por MOORE et alii (1978) ao verificar que a transferência do fator esterilizante do macho para a fêmea (*Antonomus grandis*) foi melhor evidenciado quando foram efetuadas aplicações tópicas sobre os insetos, não ocor-

rendo o mesmo quando o Diflubenzuron foi fornecido através da dieta.

Em contraste OTTENS e TODD (1979) estudando os efeitos do Diflubenzuron em *Graphognathus leucoloma* e *G. peregrinus*, demonstraram que o referido produto reduziu significativamente a viabilidade dos ovos quer com aplicações tóxicas ou com o fornecimento de folhas de soja tratadas, oferecidas aos adultos.

Dentre as substâncias que ultimamente têm se mostrado mais promissoras para o controle de insetos via quimioesterilização, encontram-se as avermectinas, que se enquadram dentro de uma nova classe de produtos naturais produzidos por microrganismos do solo, *Streptomyces avermitilis* (BURG et alii, 1979 e MILLER et alii, 1979). Estas substâncias foram descobertas originalmente num programa de investigação de agentes vermífugos.

Em 1981, PUTTER et alii, descreveram a atividade das referidas substâncias contra ácaros e algumas pragas com especial menção a formiga "lavapé". Tem a propriedade de inibir o ácido gamma-aminobutírico mediante a inibição do potencial pós-sináptico embora não afetando o sistema nervoso colinérgico. Observações (não publicadas B.M. Glancey) dos ovários de rainhas de "formiga lavapé" expostos a 0,0025% de Avermectin B<sub>1a</sub> mostraram anormalidades no desenvolvimento dos ovos e nas células nutrizes. Estas rainhas apesar de ter efetuado postura, os ovos foram inférteis (LOGREN e WILLIAMS, 1981).

O ivermectin, substância modificada quimicamente proveniente do avermectin, é indicado para o tratamento de oncocercose no homem, transmitida através de picadas de fêmeas de moscas do gênero *Simulium*, comum na África, México, Guatemala, Venezuela, Colômbia e Brasil (Amazonas). Assim o ivermectin é referido como sendo o maior avanço no tratamento e/ou erradicação de uma das mais importantes doenças de nossos tempos. Na Europa e América Latina tem sido licenciado desde 1981 para uso de aplicações via intramuscular em animais. Quando aplicado em doses únicas (30 a 50 microgramas/Kg peso vivo) a pacientes humanos portadores da doença, verificou-se que houve cura completa após 28 dias da aplicação.

Com relação a efeitos colaterais foi observado em apenas 4 pacientes, leves erupções na pele sem maiores consequências. (ALTMAN, 1982; MERCK, 1982; AZIZ et alii, 1982).

Todos os esterilizantes acima referidos, além de inseticidas dos grupos dos fosforados, clorados e carbamatos, para que sejam efetivos no controle de insetos, deparam-se com relações endossimbióticas entre os insetos e microrganismos, capazes estes de degradar substâncias tóxicas aos indivíduos que as ingerem; isto constitui um dos mais fascinantes estudos no campo da entomologia (BOUSH e MATSUMURA, 1967).

#### 2.4. Simbiontes, Ecologia e funções nos insetos

O campo da ecologia pode ser subdividido de várias maneiras. Uma seria dividi-la em dois grupos: um que estuda os efeitos recíprocos entre organismos e o mundo inanimado o outro seria o dos efeitos recíprocos entre um organismo e outro. Esta íntima associação entre dois organismos é chamada simbiose. E, torna-se ainda mais íntima quando um organismo vive dentro de outro. Tais associações podem ser ainda subdivididas. Se um organismo vive com outro de espécie diferente sem lhe ser útil ou nocivo, a associação é chamada comensalismo e os membros comensais. Se apenas um membro se aproveita da associação, esta é chamada parasitismo e os membros parasitos; mas, se ambos os membros usufruem da associação esta é chamada de mutualismo e os membros são então chamados hospedeiro e simbiote. Quando o simbiote se localiza dentro do hospedeiro deve ser chamado de endosimbiótico; se dentro das células, pode ser classificado como intracelular. Se o inseto dispõe de um órgão especial para promover a nutrição dos simbiontes, este é chamado de micetoma e, se células visivelmente distintas são diferenciadas para alojar aos simbiontes, estas são chamadas micetócitos, que ao mesmo tempo podem ocorrer agrupados para formar o micetoma ou se distribuírem através do corpo.

Os simbiontes internos podem ser encontrados na luz intestinal entre as células do intestino, dentro das



células intestinais, na luz de um micetoma que é um divertículo do intestino, dentro de micetócitos os quais se encontram agregados dentro do micetoma ou separados e espalhados (geralmente em tecidos gordurosos), em ovariolos e mais tarde nos ovos e embriões e em outros casos, livres na hemolinfa. De um modo geral, aqueles encontrados no intestino são transmitidos para a próxima geração através dos ovos ou associados com o alimento das larvas, ao passo que aqueles em micetócitos são transmitidos transovariamente dentro dos ovos. Este último método é algumas vezes referido como "infecção transovariana" ou "transmissão hereditária" (RICHARDS & BROOKS, 1958).

#### 2.4.1. Origem das Associações Simbióticas

Em muitos casos, sensíveis correlações podem ser feitas entre o tipo de alimento consumido e a presença ou ausência de simbiontes. Assim, em espécies sugadoras de sangue, brocas de madeira, pragas de grãos armazenados, e outras, são os simbiontes que permitem a utilização de alimentos nutricionalmente inadequados. Porém, existem exemplos que induzem a pensar que os simbiontes desempenham outros tipos de funções. Assim, algumas coleobrocas apresentam-se desprovidas de simbiontes, e em certos casos outras funções tais como a determinação do sexo e mobilização de uratos. Comumente assume-se que um microrganismo associado não é parasito ou patógeno é então conhecido ser mutualístico. Todavia, este

tipo de associações nem sempre são necessárias. Por exemplo são conhecidos "strains" de *Sitophilus granarius* (L.) com e sem simbioses, diferindo em detalhes aparentemente triviais tais como coloração e tamanho. Outro coleóptero estudado foi o *Rhyzopertha dominica* e verificou-se que a remoção dos seus simbioses não causou nenhum tipo de efeito no inseto (RICHARDS e BROOKS, 1958; DADD, 1973).

#### 2.4.2. Localização e mecanismos de transmissão dos simbioses nos insetos

KOCH (1960) efetuando estudos de simbioses em insetos verificou que para que haja transmissão dos mesmos, estes devem localizar-se em regiões estratégicas do aparelho sexual das fêmeas. Estes mecanismos apresentam-se das maneiras mais diversas em estruturas que se assemelham a agulhas, sacos ou divertículos (Tefritídeos, Cerambicídeos, Anobiídeos, etc.). No caso de percevejos constatou-se um desenvolvimento gradual de primitivos e muito simples arranjos, até mecanismos os mais complicados (BROOKS, 1963).

No caso de sugador de sangue *Rhodnius prolixus*, os simbioses encontram-se localizados bastante afastados do intestino médio e apesar disso um considerável número de bactérias é carregado com as fezes na parte terminal do proctodéu; por ocasião da postura, os ovos são infectados com as bactérias contidas nas fezes. A infecção das larvas por sua

vez, ocorre devido a que estas alimentam-se em lugares onde indivíduos mais velhos da mesma espécie efetuaram defecação ingerindo assim as bactérias (KOCH, 1960; BROOKS, 1963).

Em *Brachypelta aterina*, um cidnideo que cava na areia, os simbioses estão localizados nas criptas retais. Quando a fêmea se encontra pronta para a postura, as criptas aumentam de tamanho devido ao aumento do número de bactérias no seu interior, sendo estas expelidas no conteúdo fecal. Isto explica o hábito gregário destes percevejos. A fêmea após a postura permanece junto até a eclosão das ninfas. Durante este período, estas se alimentam dos resíduos fecais da mãe, que se encontram bastante carregados de simbioses.

No caso de alguns lecitídeos e bostriquídeos estudados, a penetração dos simbioses dá-se através de toda a superfície do ovo e num determinado e curto período; por ocasião da cessação do desenvolvimento da oogênese, as células foliculares se espalham e constroem uma estrutura em forma de rede frouxa dentro do ovo e que propicia a entrada dos simbioses através do cório em todas as direções.

As formigas *Camponotus* sp. e *Formica* sp. são outros exemplos de penetração apolar de simbioses dentro dos ovos. Neste caso, as células foliculares são infectadas bastante antes, dando-se a entrada das bactérias durante a oogênese. As bactérias se reproduzem rapidamente e no fim encontram-se fazendo parte da quase totalidade do plasma, quando o ovo ainda se encontra nos primeiros estágios de desenvolvimento.

Na transmissão de simbiontes, segundo BROOKS (1963) é desconhecido qualquer tipo de motilidade entre esses microrganismos. A sua transmissão é passiva e resulta de contrações ondulares ou extensões de estruturas semelhantes a pseudópodos de células adjacentes do inseto ou embrião. Em outros casos, os simbiontes podem ser transportados através da hemolinfa. Apenas em bostriquídeos tem se constatado a transmissão de simbiontes conjuntamente com o esperma (MANSOUR, 1934).

Nas moscas das frutas, os simbiontes ocorrem em todos os estágios do seu desenvolvimento. Estes simbiontes estão presentes em mais de 50 espécies de tefritídeos estudadas. Segundo BATEMAN (1972) a vital importância dos simbiontes a seus hospedeiros, está ligada ao fato da adaptação morfológica que assegura a sua sobrevivência e transmissão de geração a geração. Na parte dorsal do reto em fêmeas adultas, encontra-se uma estrutura formada por uma série de tubos ou "criptas retais" as quais estão normalmente lotadas de bactérias. Os ovos passam do pelo oviduto, são prensados contra as aberturas desses tubos, contaminando-se de bactérias justamente no momento em que são postos no interior dos frutos. As bactérias penetram nos ovos através da micrôpila, invadindo então o embrião. Nas larvas, as bactérias encontram-se em todas as partes do aparelho digestivo, principalmente na última porção deste. Antes da pupação, uma grande parte desses simbiontes é expelida pelo canal alimentar, mas, o pouco que permanece durante a fa-

se de pupa, é o suficiente para iniciar a infestação do adulto a partir de um bulbo ou divertículo que se invagina da parede dorsal do esôfago onde estavam alojados. Daí, os simbiotes se espalham através do canal alimentar do adulto, colonizando as "criptas retais" recomeçando o ciclo novamente (BATEMAN, 1972). A maioria dos simbiotes de tefritídeos provou ser bacilos Gram-negativos (Gram<sup>-</sup>), porém, fermentos, fungos e bactérias Gram positivos (Gram<sup>+</sup>), podem ser encontrados em um grande número de espécies simplesmente como organismos associados, ao contrário dos simbiotes. A grande parte das espécies européias de tefritídeos possuem o mesmo simbiote, a bactéria *Phytomonas mutabilis* que parece ser altamente especializada para viver no interior de seus hospedeiros pelo fato de não poder ser cultivada em outros meios.

O simbiote de *Dacus oleae*, *Pseudomonas savastoni*, por outro lado é largamente distribuído externamente no seu hospedeiro o que é importante pelo fato de causarem às oliveiras uma doença conhecida como "Rogna" ou "olive knot". Esta bactéria para sobreviver não depende da associação com o seu hospedeiro desde que pode ser encontrada infectando oliveiras em outros lugares do mundo onde *D. oleae* não ocorre.

Na América do Norte, o simbiote de *Rhagoletis pomonella* é também amplamente distribuído fora do corpo dos insetos e tem sido identificado como *Phytomonas melophthora*, responsável pela podridão da maçã. Esta mesma bactéria, segundo BOUSH e MATSUMURA (1967), está envolvida na de-

gradação de substâncias tóxicas como: dichlorvos, diazinon, paration, DFP, dieldrin e carbaryl.

#### 2.4.3. Especificidade dos simbioses

São extremamente poucas as informações que se têm a respeito. Em transplantes do tecido gorduroso contendo micetócitos (barata oriental e americana em germânica aposimbiótica) verificou-se que houve sobrevivência por vários dias ou poucas semanas, mas ocorreu degeneração após uma perda aparente das bactérias contidas nos micetócitos. Estes experimentos também foram conduzidos por outros autores em diversas famílias de ortópteros, porém, sem obter respostas específicas dos simbioses estudados. (RICHARDS e BROOKS, 1958).

#### 2.4.4. Importância dos Simbioses na síntese de nutrientes nos insetos

A participação dos simbioses é de reconhecida importância na nutrição de grande número de insetos.

TOBE e LANGLEY (1978) declararam que a natureza Gram<sup>-</sup> dos simbioses tem uma participação essencial na síntese de vitaminas essenciais aos insetos, indicando ainda que os simbioses de *G. morsitans* produzem vitaminas do complexo B.

HOUK e GRIFFITHS (1980) estudaram as funções dos simbioses em várias espécies de homópteros e verificaram

que os referidos microrganismos são capazes de sintetizar aminoácidos, vitaminas, lipídeos etc.

Em espécies sugadoras de sangue, brocas de madeira, pragas de couros, de pelos, outros, são os simbiontes que transformam estes substratos em material nutricionalmente adequado (RICHARDS e BROOKS, 1958; CLAYTON, 1960; KILBY, 1963; DANG, 1971; BATEMAN, 1972; DADD, 1973).

#### 2.4.5. Eliminação de microrganismos simbiotes dos insetos - efeitos

Não há um método universalmente aplicado para a eliminação de simbiotes. Nos casos em que estes vivem na luz intestinal e são transmitidos para a progênie como contaminantes, a sua eliminação pode ser facilmente efetuada. Sua transmissão é prontamente interrompida em *Rhodnius* sp ocorrendo perda de simbiotes quando a criação é mantida em gaiolas demasiadamente limpas ou alimentando os indivíduos semi-isoladamente. Em outros casos, onde a transmissão se dá por contaminação do exterior dos ovos (como em *Lasioderma* sp) a eliminação é prontamente realizada por meio de esterilização superficial dos ovos, seguida por criação afastada de fontes de reinfestação (BROOKS e RICHARDS, 1955). Para protozoários simbiotes de cupins e da barata *Cryptocercus* sp., altas tensões de oxigênio durante 1 a 2h são totalmente efetivas. Outro método para conseguir aposimbiose é por meio de tempera-

turas subletais, que em alguns casos pode produzir "strains" assimbióticos. (Schneider, 1954 citado por RICHARDS e BROOKS, 1958).

Um método que vem sendo utilizado para a eliminação de simbioses intracelulares é pelo emprego de antibióticos. Brooks, citado por RICHARDS e BROOKS (1958) ao adicionar aureomicina 0,1% na dieta de *Blattella germanica* verificou que houve destruição das bactérias que se alojam dentro dos ovos, obtendo a partir destas, progêneses apossimbióticas.

Em estudos realizados por RICHARDS e BROOKS (1958) ficou demonstrado que a eliminação de simbioses em *Rhyzopertha* sp não causou efeitos prejudiciais. De outro lado, indivíduos apossimbióticos de *Sitophilus* sp resultaram ser menores e de coloração mais clara quando comparados com indivíduos criados sob condições sub-ótimas. Em percevejos apossimbióticos de *Triatoma* sp e *Coptosoma* sp. além de ocorrer aumento na porcentagem de mortalidade verificou-se um prolongamento no tempo de desenvolvimento, ao passo que *Rhodnius* sp é mais seriamente afetado pois raramente as ninfas alcançam o estágio adulto.

PANT e DANG (1972) estudando os efeitos in vitro de diversos antibióticos em *Bacillus circulans*, simbiote de *S. oryzae*, verificaram que todos os compostos utilizados com exceção da sulfanalimida foram eficientes na inibição de simbioses procedentes de ovários e ovos, mas não os de micetomas. Ainda verificaram que os simbioses extraídos a par-



tir de ovos, foram mais suscetíveis que os dos micetomas e ovários aos antibióticos aureomicina e hostaciclin.

Em pesquisas recentes constatou-se que o fornecimento de um coccidiostático (sulfaquinoxalina 75 ppm) no alimento da mosca Tsé Tsé, causou destruição dos simbioses num período de 1 a 2 semanas. Por outro lado, a administração via oral de lisozima, provocou além da morte dos simbioses, eliminação completa da fertilidade (JORDAN e TREWERN, 1973; NOGGE, 1976; TOBE e LANGLEY, 1978).

#### 2.4.6. Participação dos Simbioses na Fisiologia dos Insetos

HUEBNER e DAVEY (1974) observando o comportamento dos simbioses em *Glossina* sp verificaram que essas bactérias não provocam respostas negativas nos tecidos dos hospedeiros, não foram tampouco encontradas em associação com lisosomas ou algum tipo de vacúolos. Porém, os simbioses que habitam os ovários são importantes no processo da oogênese e fertilização.

De acordo com Stuhlmann citado por ROUBAUD (1919) os simbioses são de uma grande importância na regeneração do epitélio intestinal, dando por isso o nome de zona de regeneração à região onde as bactérias se reproduzem.

### 3. MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1. Estudo de esterilidade sexual

Todos os experimentos deste trabalho foram desenvolvidos no Departamento de Entomologia da Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" (ESALQ) em Piracicaba, Estado de São Paulo, com início em dezembro de 1981 e término em junho de 1983.

Os registros diários de temperatura e umidade relativa, foram obtidos pelo emprego de um termoigrôgrafo, registrando  $24 \pm 2^{\circ}\text{C}$  e  $70 \pm 5\%$  em média, respectivamente, durante o período.

##### 3.1.1. Materiais

###### 3.1.1.1. Espécies de insetos utilizadas

As espécies estudadas foram a mosca-do-mediterr

râneo *Ceratitís capitata* (Wied., 1824) (Diptera:Tephritidae) proveniente de ameixas e pêssegos infestados de pomares de Jundiaí, município de S.P. e o predador *Chrysoperla externa* (Hagen, 1861) (Neuroptera: Chrysopidae) coletado na ESALQ. A primeira, segundo GALLO et alii, 1978 e NASCA et alii, 1981, é a mosca mais importante nos pomares frutíferas do Brasil, Argentina e outros países. A segunda, predador muito eficiente e largamente distribuído desde o Chile até o sul da California (NGUYEN et alii, 1975).

Os ovos utilizados nos experimentos foram obtidos de insetos da mesma idade, mantidos a temperatura e umidade relativa controladas, alimentados com dieta artificial.

#### 3.1.1.2. Dietas utilizadas

a) Para manutenção da criação de *C. capitata* foi fornecida dieta empregada na seção de Biologia do Depto. de Entomologia da ESALQ constituída de:

Fermento Fleischmann .....	6,0 g
Mel .....	10,0 g
Açúcar preto .....	25,0 g
Gevral (laranja) .....	25,0 g
Açúcar branco .....	35,0 g
Proteína hidrolizada de milho .....	5,0 ml

b) Para oferecimento das substâncias em estudos inicialmente eram incorporados à dieta proposta por HAGEN e FINNEY (1950) composta de proteína hidrolizada de milho, 40 gramas; açúcar, 70 gramas e água destilada, 100 ml.

c) Na segunda etapa utilizou-se outra dieta formada de: melado de cana, 10 ml; açúcar, 3 gramas e água, 3 ml.

d) Para alimentação de larvas de *C. capitata* foi usada a dieta empregada no Depto de Entomologia da ESALQ cuja fórmula é a seguinte:

Nipagin .....	2,04 g
Benzoato de sódio .....	2,04 g
Ácido clorídrico concentrado ...	8,1 ml
Formol .....	0,6 ml
Sacarose .....	45,0 g
Germem de trigo .....	67,2 g
Levedura de cerveja .....	67,2 g
Bagacilho de cana .....	135,0 g
Água .....	600,0 ml

e) Para a manutenção de adultos de *C. externa* foi desenvolvida uma dieta durante a presente pesquisa, constituída de pólem desidratado (refrigerado) 21 gramas; mel, 18 ml e água, 6 ml.

f) Os quimioesterilizantes eram oferecidos através da dieta relacionada no item 3.1.1.2.

### 3.1.1.3. Substâncias quimioesterilizantes experimentadas

Foram utilizados diversos produtos em doses crescentes. As suas características principais são as seguintes:

a) Nome químico: Avermectin B<sub>1</sub>

Resultante da mistura de Avermectin B<sub>1a</sub> + Avermectin B<sub>1b</sub>

(fórmulas empíricas: C<sub>48</sub>H<sub>72</sub>O<sub>14</sub> e C<sub>47</sub>H<sub>70</sub>O<sub>14</sub> respectivamente)

Grupo: Lactonas originalmente isoladas do fungo *Streptomyces avermitilis*.

Modo de ação: Inibidor do ácido gama-aminobutírico mediante a inibição do potencial pós-sináptico sem afetar as ligações colinérgicas.

Toxicidade: 136 mg/kg PV (ratos)

Dose recomendada por 100 litros de água: 0,15-0,75 gramas do ingrediente ativo (i.a.)

Usos: citros, algodão, pereira, macieira, batata, tomate, etc.

b) Nome químico: 1-(4-chlorophenyl)3-(2,6-difluorobenzoyl)urea

Nome comum: Diflubenzuron

Modo de ação: Regulador do crescimento

Toxicidade: 6.640 mg/kg P.V. (ratos)

Dose recomendada: Soluções entre 0,5 e 1%.

Usos: florestas, pomares, algodão, soja, citros, etc.

Formulações: Pó 25% (FARM CHEMICALS HANDBOOK, 1981).

c) Nome químico: 1-(2,6-dufluorobenzoyl)-3-(4-trifluorone-thyl  
phenyl- urea (PH - 6044)

Demais características: semelhantes às do diflubenzuron

d) Nome químico: Isopropyl (2E-4E)-11-methoxy-3,7,11-trimethyl  
2,4-dodecadienoate.

Nome comum: methoprene

Modo de ação: Regulador do crescimento

Toxicidade: 34.600 mg/kg P.V. (ratos)

Formulação: concentrado emulsionável 10% i.a.  
(FARM CHEMICALS HANDBOOK, 1981).

e) Nome químico: Óxido cuproso

Grupo: cúprico

Modo de ação: fungicida de contato

Toxicidade: 450 mg/kg P.V. (ratos)

Formulação: PÓ, 50% i.a.

f) Nome químico: Oxicloreto de cobre

Grupo: cúprico

Modo de ação: fungicida de contato

Toxicidade; 700-800 mg/kg P.V. (ratos)

Usos: videira, roseira, citros, cebola, café, mangueira,  
etc.

Formulação: PÓ, 50% i.a.

3.1.1.4. Gaiolas utilizadas para confinamento e testes com adultos de *C. capitata* e *C. externa*

Visando facilitar a manipulação dos lotes dos insetos estudados, optou-se pelo emprego dos três tipos de gaiolas empregadas por SALGADO (1979) com algumas modificações:

a) Gaiola grande

Esse tipo de gaiola, era utilizado para a manutenção de uma população aproximada de 1500 moscas. As suas dimensões eram as seguintes: comprimento 65 cm, altura 20 cm, largura superior 20 cm e largura inferior 11,5 cm. A armação era confeccionada com arame de 3 mm de diâmetro. Para evitar a fuga dos insetos, a gaiola era forrada com tela "nylon" com orifícios de 1 mm<sup>2</sup>, o lado inclinado foi coberto com tecido de "voil", material apropriado para estímulo da postura. A uma das faces laterais da gaiola, era adaptada uma manga de tecido grosso, de algodão para facilitar a manipulação dos insetos (Fig. 1.A).

b) Gaiolas medianas

Este tipo de gaiola era utilizado nos testes com as substâncias em estudo, onde eram colocados até 15 insetos. As dimensões eram: comprimento 23 cm, altura 20 cm, largura superior 20 cm e largura inferior 11,5 cm. A armação e revestimentos laterais foram confeccionados de igual maneira e com o mesmo material usado para a gaiola grande, porém, a

Figura 1. Tipos de gaiolas utilizadas nos ensaios.

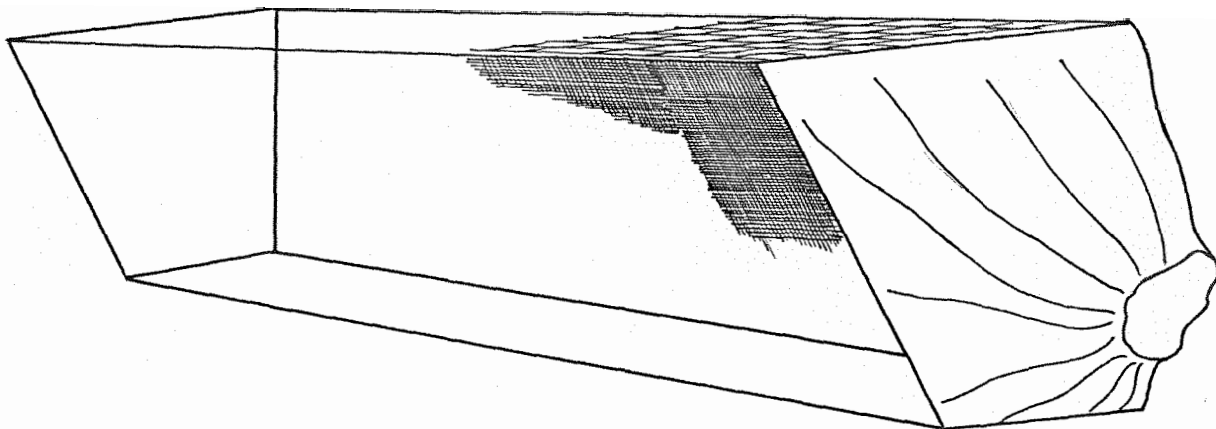
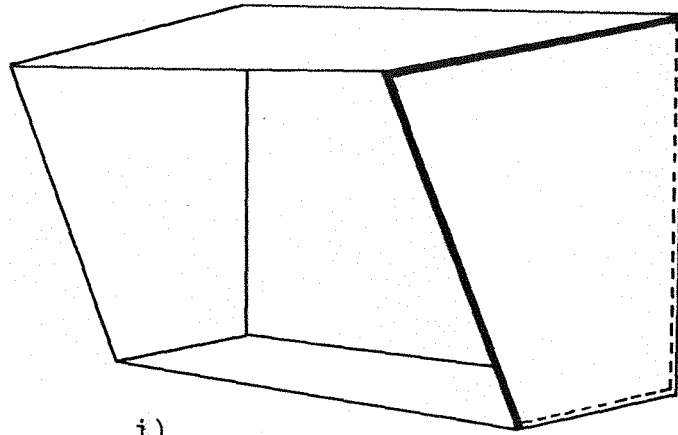
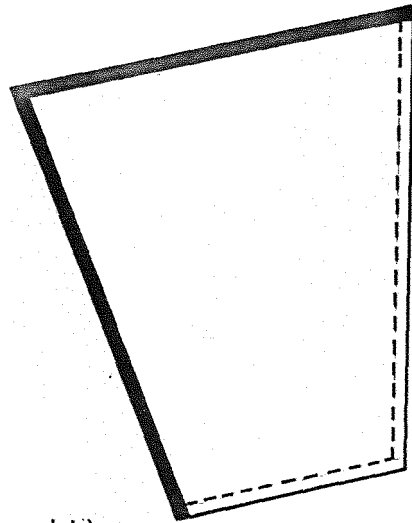


Figura 1a. Desenho esquemático da gaiola grande - capacidade para 1500 moscas.





i)



ii)

Figura 1b. Desenho esquemático das gaiolas mediana e pequena  
i) vista latero-frontal; ii) vista lateral. Capacidade para 30 e 10 insetos respectivamente.

face lateral para manipulação era recoberta com o plástico "magic-pac" fixado à gaiola por meio de fita adesiva (Figura 1.B).

c) Gaiolas pequenas

Estas gaiolas eram empregadas, quando, apenas a um dos sexos era fornecida a dieta contendo os produtos em estudo; a sua permanência era breve, de 1 a 5 dias. Dimensões: comprimento 11 cm, altura 11,5 cm, largura superior 11,5 cm e largura inferior 6,5 cm. A armação e revestimentos laterais, foram confeccionados de maneira semelhante e com o mesmo material empregado na manufatura das gaiolas medianas (Figura 1.B).

### 3.1.2. Métodos

Todos os experimentos relacionados à quimioesterilidade foram desenvolvidos em condições de laboratório.

Os produtos utilizados, foram testados em doses crescentes visando causar esterilidade sem provocar alterações no comportamento sexual dos insetos.

#### 3.1.2.1. Delineamento experimental

Para um total de 15 experimentos o delineamento estatístico adotado foi o de blocos ao caso permitindo uma análise conjunta dos experimentos de acordo com GOMES (1977).

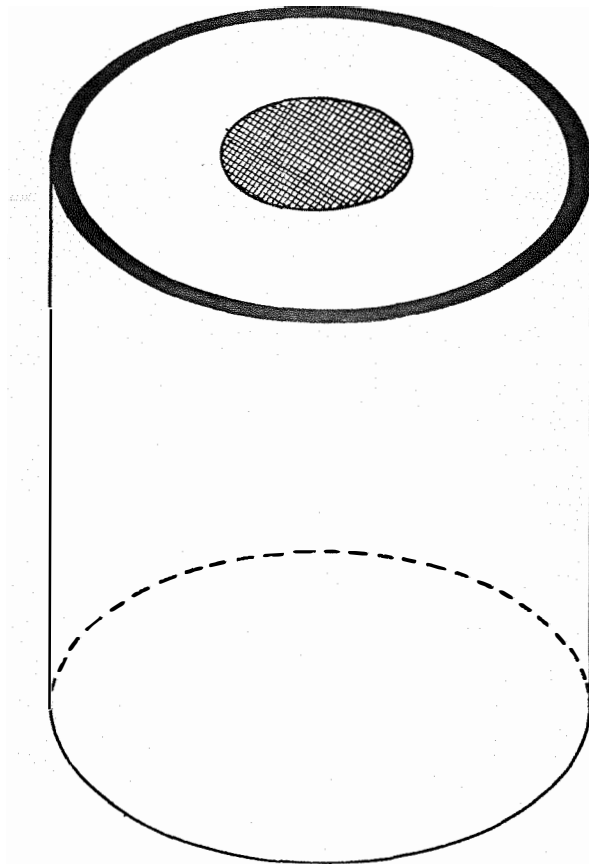


Figura 1c. Gaiola de papelão para acondicionamento de pupas.

## 3.1.2.2. Tratamentos e dosagens

Os tratamentos (T) e dosagens que formaram parte dos 15 experimentos foram os seguintes:

Tratamentos	Dosagens (ppm)
T <sub>1</sub> Testemunha .....	-
T <sub>2</sub> Diflubenzuron 25% PM <sup>1</sup> .....	9
T <sub>3</sub> Diflubenzuron 25% PM .....	14
T <sub>4</sub> Diflubenzuron 25% PM .....	18
T <sub>5</sub> Diflubenzuron 25% PM .....	25
T <sub>6</sub> Duflubenzuron 25%PM .....	30
T <sub>7</sub> Diflubenzuron 25% PM .....	45
T <sub>8</sub> Diflubenzuron 25% PM .....	60
T <sub>9</sub> Diflubenzuron 25% PM .....	80
T <sub>10</sub> Diflubenzuron 25% PM .....	100
T <sub>11</sub> Diflubenzuron 25% PM .....	300
T <sub>12</sub> Diflubenzuron 25% PM .....	500
T <sub>13</sub> Diflubenzuron 25% PM .....	800
T <sub>14</sub> Diflubenzuron 25% PM .....	1000
T <sub>15</sub> Diflubenzuron 25% PM .....	1500
T <sub>16</sub> Diflubenzuron 25% PM .....	2000
T <sub>17</sub> PH 60-44 25% PM .....	25
T <sub>18</sub> PH 60-44 25% PM .....	45
T <sub>19</sub> PH 60-44 25% PM .....	500

<sup>1</sup> PM = pó molhável

Tratamentos	Dosagens (ppm ou %)
T <sub>20</sub> Óxido cuproso 50% PM .....	0,06%
T <sub>21</sub> Óxido cuproso 50% PM .....	0,10%
T <sub>22</sub> Óxido cuproso 50% PM .....	0,15%
T <sub>23</sub> Oxiclureto de cobre 50% PM .....	0,10%
T <sub>24</sub> Oxiclureto de cobre 50% PM .....	0,15%
T <sub>25</sub> Oxiclureto de cobre 50% PM .....	0,20%
T <sub>26</sub> Oxiclureto de cobre 50% PM .....	0,50%
T <sub>27</sub> Oxiclureto de cobre 50% PM .....	1,00%
T <sub>28</sub> Methoprene 5CE <sup>2</sup> .....	25
T <sub>29</sub> Methoprene 5CE .....	35
T <sub>30</sub> Methoprene 5CE .....	40
T <sub>31</sub> Methoprene 5CE .....	45
T <sub>32</sub> Methoprene 5CE .....	70
T <sub>33</sub> Avermectin 0,36%S <sup>3</sup> .....	25
T <sub>34</sub> Avermectin 0,36%S .....	30
T <sub>35</sub> Avermectin 0,36%S .....	31
T <sub>36</sub> Avermectin 0,36%S .....	33
T <sub>37</sub> Avermectin 0,36%S .....	35
T <sub>38</sub> Avermectin 0,36%S .....	37
T <sub>39</sub> Avermectin 0,36%S .....	40
T <sub>40</sub> Avermectin 0,36%S .....	50

-----  
<sup>2</sup> CE = Concentrado emulsionável

<sup>3</sup> S = Solúvel

### 3.1.2.3. Instalação e execução dos experimentos com *C. capitata*

#### a. Coleta e incubação dos ovos

Os ovos eram coletados em tiras retangulares de papel filtro, estéril, de 22 x 10 cm, dispostas a continuação da base menor das gaiolas medianas e ao lado da face da gaiola revestida com "voil", tecido no qual as moscas faziam postura. Para evitar a desidratação dos ovos, cada tira de papel era umedecida por meio de 2 garrafas pequenas de 6 cm de altura, e com uma boca de 1,3 cm de diâmetro contendo água destilada. Essas garrafas eram colocadas com o orifício de saída em contato com as tiras de papel, de tal forma a mantê-las permanentemente umedecidas.

As gaiolas eram colocadas sobre prateleiras e iluminadas de frente com luz fria <sup>1</sup> tipo "day light" de 15 watts (para estimular o acasalamento) e dela afastadas cerca de 60 cm.

Com auxílio de uma pisseta contendo água destilada, uma peneira de "voil" e um becker, os ovos de cada tratamento eram retirados da respectiva tira de papel, acondicionados em número de cem com pincel fino em placas de petri sobre papel filtro umedecido (SALGADO, 1979). Após isto, as placas eram tampadas, com plástico "magic-pac" de fácil aderência ao vidro, numeradas e protocoladas.

-----  
<sup>1</sup> General Electric, F 1578 D

Diariamente, as placas contendo os ovos, eram observadas em microscópio estereoscópico Wild com 40 vezes de aumento até o 5º dia, sendo anotado o número de ovos que davam nascimento às larvas.

#### b. Dieta e manuseio de larvas

Até o 2º ensaio, as larvas provenientes dos ovos de adultos tratados com as substâncias em estudo foram mantidas em dieta artificial relacionada no item 3.1.1.2. até o ponto em que começavam a saltar sobre o alimento (FERON et alii, 1958) para pupar. Por esta ocasião, as caixas de petri, onde encontravam-se as larvas, eram colocadas destampadas dentro de caixas cilíndricas de papelão de 20 cm de altura x 12 cm de diâmetro (providas de tela de "nylon" na tampa Fig. 1 c) contendo uma pequena camada de areia, estéril, no fundo. Esta condição propiciava, além da saída das larvas, a pupação. Nessas caixas as pupas permaneciam até a emergência dos adultos. Do terceiro ensaio em diante, efetuou-se apenas a avaliação da porcentagem.

#### c. Manuseio das pupas

As larvas saltavam da caixa de petri contendo dieta, para areia depositada no fundo da caixa de papelão (Fig. 1.C), transformavam-se em pupas, eram contadas e permaneciam nesse recipiente até a emergência dos adultos, ocasião

em que era calculada a viabilidade pupal. Esta verificação foi efetuada até o 2º ensaio.

#### d. Manuseio da colônia de adultos

As larvas da população inicial, provenientes de frutos de pêssago e ameixa foram acondicionadas em bandejas plásticas de 40x40 cm, contendo areia fina. Cada dois dias eram retiradas as pupas e transferidas para caixas cilíndricas de papelão de 20 cm de altura x 12 cm de diâmetro, onde se aguardava a emergência dos adultos, que, em seguida eram acondicionados em gaiola grande (vide Figs. 1a e 1c) constituindo a população de manutenção.

Em cada gaiola mediana eram colocados 10 casais constituindo um tratamento.

As dietas eram colocadas em pequenas quantidades na tela do teto das gaiolas. Da mesma forma, a água era fornecida separadamente em chumaços de algodão hidrófilo, cobertos por uma placa de petri de 8 cm de diâmetro, para evitar a rápida evaporação.

O número de ovos colocados diariamente era rigorosamente controlado pois a face lateral da gaiola era recoberta com o plástico "magic-pac", material raramente escolhido pelas fêmeas para efetuar postura.

##### 3.1.2.3.1. Ensaio instalados

Foram instalados 15 ensaios (E) sendo que nos 11 primeiros, a ambos os sexos foi-lhes fornecido os quimio



esterilizantes indistintamente. Por outro lado, nos últimos 4 ensaios, houve modificações, isto é, a dieta contendo as substâncias em estudo foi oferecida apenas a um dos sexos. Os detalhes de cada ensaio obedeceram ao seguinte esquema.

E <sub>I</sub> Tratamento	Dosagem
1. Testemunha <sup>1</sup> .....	-
2. Diflubenzuron 25% PM .....	9 ppm
3. Diflubenzuron 25% PM .....	14 ppm
4. Diflubenzuron 25% PM .....	15 ppm
5. Óxido cuproso 50% PM .....	0,06%
6. Óxido cuproso 50% PM .....	0,10%
7. Methoprene 5% CE .....	45 ppm
8. Methoprene 5% CE .....	70 ppm

Neste ensaio, o fornecimento das substâncias citadas foi feito durante os primeiros 3 dias após a emergência.

E <sub>II</sub> Tratamento	Dosagem
1. Testemunha <sup>1</sup> .....	-
2. Diflubenzuron 25% PM .....	25 ppm
3. Diflubenzuron 25% PM .....	30 ppm
4. Diflubenzuron 25% PM .....	45 ppm
5. Diflubenzuron 25% PM .....	60 ppm

-----  
<sup>1</sup> Vide dieta referida no item 3.1.1.2.b

E <sub>II</sub>	Tratamento (cont.)	Dosagem
	6. PH 60-44 25% PM .....	25 ppm
	7. Óxido cuproso 50% PM .....	0,01%
	8. Óxido cuproso 50% PM .....	0,15%
	9. Methoprene 5% CE .....	25 ppm

O fornecimento dos produtos citados foi feito nos 3 primeiros dias após a emergência dos adultos.

E <sub>III</sub>	Tratamento	Dosagem
	1. Testemunha <sup>1</sup> .....	-
	2. Diflubenzuron 25% PM .....	60 ppm
	3. Duflubenzuron 25% PM .....	80 ppm
	4. Diflubenzuron 25% PM .....	100 ppm
	5. Diflubenzuron 25% PM .....	120 ppm
	6. PH 60-44 25% PM .....	45 ppm
	7. Oxicloreto de cobre 50% PS .....	1,0%
	8. Oxicloreto de cobre 50% PS .....	0,5%
	9. Methoprene 5% CE .....	35 ppm
	10. Avermectin 0,36% S .....	25 ppm

O fornecimento da dieta contendo as substâncias foi feito 4 dias após a emergência.

E <sub>IV</sub>	Tratamento	Dosagem (ppm)
	1. Testemunha <sup>1</sup> .....	-
	2. Diflubenzuron 25% PM .....	300
	3. Diflubenzuron 25% PM .....	500

-----  
<sup>1</sup> Vide dieta referida no item 4.1.1.2.c.

E <sub>IV</sub>	Tratamento (Cont.)	Dosagem (ppm)
4.	Diflubenzuron 25% PM .....	800
5.	Diflubenzuron 25% PM .....	1000
6.	Diflubenzuron 25% PM .....	1500
7.	Diflubenzuron 25% PM .....	2000
8.	PH 60-44 25% PM .....	500
9.	Avermectin 0,36% S .....	30

O fornecimento da dieta contendo as substâncias citadas foi feito a partir do 4 dia após a emergência dos adultos.

E <sub>V</sub>	Tratamento	Dosagem (ppm)
1.	Testemunha <sup>1</sup> .....	-
2.	Diflubenzuron 25% PM .....	300
3.	Diflubenzuron 25% PM .....	500
4.	Diflubenzuron 25% PM .....	800
5.	Diflubenzuron 25% PM .....	1000
6.	Diflubenzuron 25% PM .....	1500
7.	Diflubenzuron 25% PM .....	2000
8.	PH 60-44 25% PM .....	500
9.	Avermectin 0,36% S .....	30

O fornecimento da dieta contendo os produtos referidos foi feito a partir do 1º dia após a emergência dos adultos.

<sup>1</sup> Vide dieta referida no item 3.1.1.2.c.

E <sub>VI</sub> a X	Tratamento	Dosagem
	1. Testemunha <sup>1</sup> .....	-
	2. Oxicloreto de cobre 50% PS ..	0,15%
	3. Oxicloreto de cobre 50% PS ..	0,20%
	4. Methoprene 5% CE .....	40 ppm
	5. Merhoprene 5% CE .....	45 ppm
	6. Avermectin 0,36% S .....	35 ppm
	7. Avermectin 0,36% S .....	40 ppm
	8. Avermectin 0,36% S .....	50 ppm

Obs.: Os ensaios de VI a X foram instalados em sequên-  
cia devido à mortalidade dos adultos, inclusive na testemu-  
nha (vide Resultados e Discussão).

E <sub>XI</sub>	Tratamento	Dosagem
	1. Testemunha <sup>1</sup> .....	-
	2. Oxicloreto de cobre 50%PS .....	0,10%
	3. Oxicloreto de cobre 50%PS .....	0,12%
	4. Methoprene 5% CE .....	40 ppm
	5. Methoprene 5% CE .....	45 ppm
	6. Avermectin 0,36%S .....	35 ppm
	7. Avermectin 0,36%S .....	40 ppm
	8. Avermectin 0,36%S .....	45 ppm

O fornecimento do alimento contendo as substân-  
cias citadas foi feito 3 dias após a emergência dos adultos.

-----  
<sup>1</sup> Vide dieta referida no item 3.1.1.2.c.

EXII Tratamento	Dosagem
1. Testemunha <sup>1</sup> .....	-
2. Oxicloreto de cobre 50% PS .....	0,10%
3. Oxicloreto de cobre 50% PS .....	0,12%
4. Methoprene 5% CE .....	40 ppm
5. Methoprene 5% CE .....	45 ppm
6. Avermectin 0,36% S .....	35 ppm
7. Avermectin 0,36% S .....	40 ppm
8. Avermectin 0,36% S .....	45 ppm

O fornecimento do alimento contendo as substâncias referidas foi feito no 2º dias após a emergência dos adultos e durante 4 dias.

EXIII Tratamento	Dosagem
1. Testemunha <sup>1</sup> .....	-
2. Oxicloreto de cobre 50% PS ....	0,10%
3. Oxicloreto de cobre 50% PS ....	0,12%
4. Avermectin 0,36% S .....	31 ppm
5. Avermectin 0,36% S .....	33 ppm
6. Avermectin 0,36% S .....	35 ppm
7. Avermectin 0,36% S .....	37 ppm

A dieta contendo os esterilizantes foi fornecida apenas às fêmeas de 2 dias de idade, durante 3 dias consecutivos; no 4º dia, além da retirada da referida substância e substituição por dieta normal, foi incorporado um lote de machos não tratados (da mesma idade). Esses machos permanecem

<sup>1</sup> Vide dieta referida no item 3.1.1.2.c.

ceram junto com as fêmeas durante 3 dias sendo em seguida descartados.

E <sub>XIV</sub> Tratamento	Dosagem
1. Testemunha <sup>1</sup> .....	-
2. Oxicloreto de cobre 20% PS .....	0,10 %
3. Oxicloreto de cobre 50% PS .....	0,12 %
4. Avermectin 0,36% S .....	31 ppm
5. Avermectin 0,36% S .....	33 ppm
6. Avermectin 0,36% S .....	35 ppm
7. Avermectin 0,36% S .....	37 ppm

A dieta contendo os esterilizantes foi fornecido apenas a machos de 2 dias de idade, durante 3 dias consecutivos; no 4º dia, além da retirada das referidas substâncias, e substituída por dieta normal, foi incorporado um lote de fêmeas não tratadas da mesma idade. Após 3 dias, os machos foram descartados permanecendo apenas as fêmeas para observação.

E <sub>XV</sub> Tratamento	Dosagem (ppm)
1. Testemunha <sup>1</sup> .....	-
2. Avermectin 0,36% S .....	31
3. Avermectin 0,36% S .....	33
4. Avermectin 0,36% S .....	37

<sup>1</sup> Vide dieta referida no item 3.1.1.2.c.

A dieta contendo esterilizante foi fornecida a adultos (de 2 dias de idade) de ambos os sexos durante 3 dias. No 4º dia, essa dieta foi substituída por dieta normal.

#### 3.1.2.4. Instalação e execução de experimento com *Chrysoperla externa*

Os adultos foram expostos aos seguintes produtos e dosagens:

Tratamento	Dosagens
1. Testemunha .....	-
2. Oxicloreto de cobre 50% PS .....	0,12%
3. Avermectin 0,36% S .....	30 ppm
4. Avermectin 0,36% S .....	33 ppm
5. Avermectin 0,36% S .....	35 ppm

Esses produtos foram fornecidos a ambos os sexos de *C. externa* (acondicionados em gaiola mediana) de 8 dias de idade e durante 4 dias, com dieta semelhante àquela oferecida aos adultos de *C. capitata*. Para este estudo utilizaram-se 5 casais de *C. externa*/tratamento, acondicionados em gaiolas medianas.

### 3.2. Estudo de Simbiontes

A partir do momento em que foi constatada a ineficácia do Diflubenzuron (em dosagens elevadas) quanto ao poder reprodutivo de *C. capitata*, julgou-se necessário investigar a causa. Resultados obtidos por BOUSH e MATSUMURA (1967), BATEMAN (1972) e outros, já haviam demonstrado a existência de simbiontes e a sua eficácia na degradação de substâncias tóxicas ingeridas pelo seu hospedeiro.

A maior parte dos trabalhos relativos ao bioquimismo bacteriano relacionado aos simbiontes de *C. capitata*, foi desenvolvida no setor de Meios de Cultura da Divisão de Atividades Técnicas Complementares (ATECO) do Instituto Biológico do Estado de São Paulo, no período de janeiro a julho de 1983.

Em quaisquer manipulações bacteriológicas visando o estudo dos simbiontes existentes no trato digestivo do inseto em estudo, são necessários métodos de esterilidade e assepsia rigorosos. As moscas adultas fornecem, após a necrópsia, o conteúdo gástrico destinado ao isolamento dos microrganismos.

As técnicas utilizáveis, são aquelas mais convenientes e convencionais para o isolamento, in vitro, dos microrganismos aeróbios, anaeróbios, facultativos, fungos e levedos, incluso outros elementos exigentes, entre eles micoplasmas e as do grupo. Outras técnicas são aplicadas onde



há necessidade da avaliação de certas propriedades fisiológicas ou bioquímicas, específicas a determinadas espécies desses microrganismos com objetivo de facilitar o seu isolamento e a sua identificação. Vide Figuras 2 e 3 e apêndice 1.

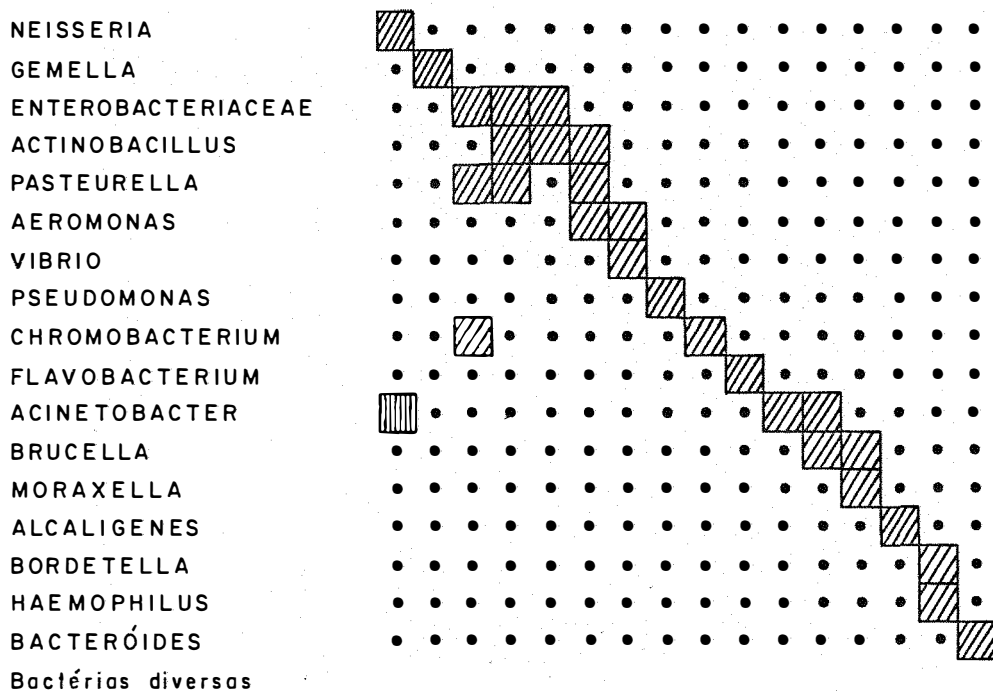
Os microrganismos são apresentados nessa Tabela-triagem pois eventualmente podem ser encontrados no intestino de insetos como no caso de *C. capitata*. No apêndice 1 são apresentadas características de cada germe, acompanhadas de uma minidefinição, facilitando, de certo modo, através da triagem, orientação segura para identificação bioquímica dos microrganismos.



### 3.2.1. Exame em Microscopia Eletrônica

De início, para verificação da possível existência de simbioses no trato intestinal de *C. capitata*, utilizou-se microscópio de transmissão para a obtenção de eletrofotomicrografias que pudessem revelar a presença dos referidos microrganismos.

Para isto, seccionaram-se os intestinos de 5 fêmeas de *C. capitata* obtidas ao acaso dentre a população, separando o estomodeo, mesentero e proctodeo. O procedimento para a obtenção de eletrofotomicrografias seguiu as seguintes etapas:

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	
MORFOLOGIA	C	C	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B
MOTILIDADE	-	-	+	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	+	-	d	
PROLIFERAÇÃO AERÓBIA	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	
CATALASE	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	NT	d	
OXIDASE	+	-	-	-	-	+	+	+	-	+	-	-	+	+	d	-	
GLICOSE (ÁCIDA)	d	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	NT	d	
O-F (teste)	O/-	F	F	F	F	F	F	O	O	O	O	-	-	-	NT	NT	



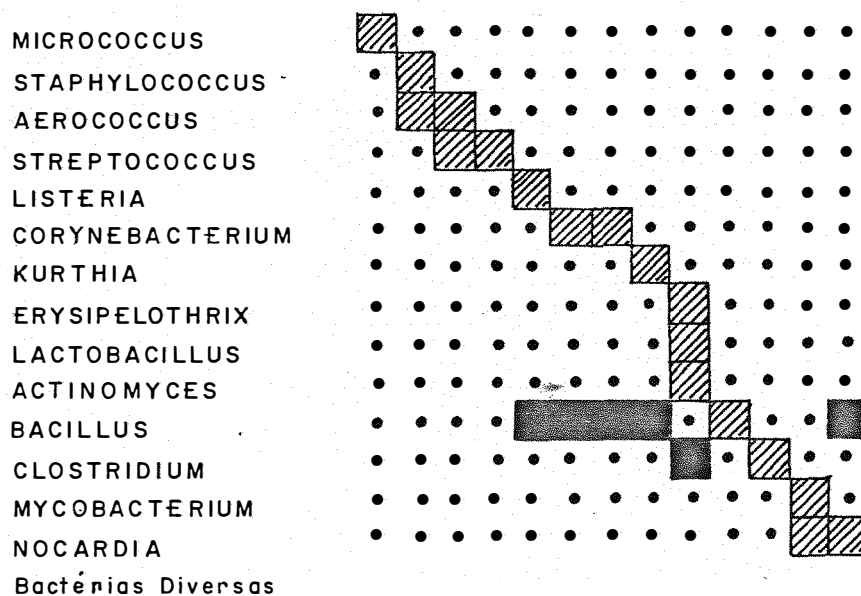
 MORFOLOGIA TÍPICA     
  COCOS DOTADOS DE MORFOLOGIA ATÍPICA



**LEGENDA :**

+ = 100-80 % das amostras reativas; d=79-21 % amostras reativas; - = 20-0 % amostras reativas  
 F = fermentação; O = oxidação; (•) = reação retardada; NT = reação não estável  
 C = cocos  
 B = bacilo

Figura 2. Triagem para diagnóstico de microrganismos gram-negativos. (adaptado de COWAN & STEEL, 1970)

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
MORFOLOGIA	C	C	C	C	B	B	B	B	B	B	B	B	B
ÁCIDO-RESISTÊNCIA	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
ESPOROS	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-
MOTILIDADE	-	-	-	+	+	-	-	+	-	d	d	-	-
PROLIFERAÇÃO AERÓBIA	+	+	+	+	+	+	+	+	d	+	-	+	+
CATALASE	+	+	-	-	+	+	+	+	-	+	-	d	+
OXIDASE	-	-	-	-	-	-	-	-	-	d	-	-	-
GLICOSE(acidificação)	d	+	+	+	+	+	-	-	+	d	d	+	+
O-F (Teste) →	O/-	F	F	F	F	F	-	-	F	F/O	F/O	F/O	NT/O



MORFOLOGIA TÍPICA  VARIANTE NÃO ESPORULADAS (ASPOROGÊNICAS) 

LEGENDA :-

+ = 100-80% das amostras reativas ; d = 79 - 21 % das amostras reativas ;

- = 20-0% das amostras reativas ;

F = Fermentação ; O = Oxidação ; (•) = Reação retardada ;

NT= Reação não estável

C = Cocos

B = Bacilos

Figura 3. Triagem para diagnóstico de microrganismos gram-positivos. (adaptado de COWAN & STEEL, 1970)

- Fixação do material em glutaraldeído 5% em tampão fosfato pH 7,2; 0,05M a 4°C.
- Pós-fixação com ácido ósmico 2% em tampão fosfato 0,15M.
- Pré-coloração em acetato de uranila 2% em acetona 75%.
- Desidratação com acetona a 90%.
- Desidratação com acetona a 100%.
- Tratamento com Óxido de propileno.
- Inclusão com resina EPON 812.
- Cortes ultrafinos em ultramicrótomo.
- Coloração com acetato de uranila 4% em água e citrato de chumbo.
- Eletrofotomicrografia do material

### 3.2.2. Exame Citobacterioscópico

Esse exame é de grande interesse sempre que se deseja executar um exame bacteriológico considerando o levantamento da flora bacteriana. Atendendo esse objetivo convém sempre fazer um exame citobacterioscópico do material a ser examinado mediante a coloração de Gram (CRUICKSHANK et alii, 1975 e BIER, 1981) o qual, além de simples e cômodo, facilita grandemente a identificação de microrganismos como bactérias Gram<sup>+</sup>, Gram<sup>-</sup>, inclusive fungos e levêdos. Outro método de coloração utilizado foi o de Giemsa com o qual há possibilidade

da verificação citológica a fagocitose e presença de inclusões no núcleo das células conferidos por corpúsculos elementares no limite da visibilidade óptica, indicando um possível processo virótico ao citobacterioscópico. Tal método ainda pode indicar um processo de *Micoplasma* ou outro microrganismo do grupo, dotados de estrutura pleomórfica.

### 3.2.3. Tratamentos de *C. capitata* para obtenção de apossimbiose

Para verificação da degradação das substâncias quimioesterilizantes em estudo, julgou-se necessária a eliminação das bactérias ubi<sup>u</sup>quitárias da flora do tubo digestivo de *C. capitata* previamente constatados por meio de fotomicrografia e posterior isolamento dos microrganismos em meios de cultura adequados. Dessa maneira, há possibilidade de saber o quanto são responsáveis e quais as bactérias encarregadas pela degradação das substâncias químicas em estudo. Na obtenção da apossimbiose efetiva com o máximo de poder bactericida e o mínimo de toxicidade sobre os insetos, fez-se a determinação das concentrações adequadas de antibióticos específicos, indicadas pelo antibiograma (Polidiscos Loria) con-

duzindo ao emprego de Cloranfenicol (Quemicetina)<sup>1</sup> e Genticina<sup>2</sup>, antibióticos que foram oferecidos mediante a incorporação à isca constituída de melado de cana estéril, material antecipadamente testado quanto a esterilidade (Tioglicolato, e Sabourand para teste de Fungos, DIFCO, 1953).

#### 3.2.4. Obtenção do substrato visceral para o estudo bacteriológico

##### 3.2.4.1. Adultos

Inicialmente as 15 moscas dos lotes tratados e não tratados com antibióticos eram mergulhadas em solução 5% de hipoclorito de sódio durante cinco segundos, seguida da lavagem com água desmineralizada estéril durante mais cinco segundos. Esses insetos, em condições de assepsia, eram desprovidos, com auxílio de pinças, de pernas e asas evitando assim que o trabalho fosse interrompido devido à movimentação do inseto. Em seguida, os insetos eram cuidadosamente alfinetados pelo dorso num bloco de parafina contido em placa de Petri (8 cm diâmetro), retirando-se os urosternito e eviscerados em meio de solução fisiológica de KRIJGSMAN e KRIJGSMAN-BERGER,

-----

<sup>1</sup> Antibiótico levótrico sintético de largo espectro, indicado contra germes Gram+ e Gram-, Rickettsias e alguns grandes vírus.

<sup>2</sup> Indicado contra a maioria dos germes Gram+ e Gram- incluindo-se o estafilococo resistente a penicilina.

(1951). Nessa ocasião, eram seccionados o mesentero e parte do proctodeo em microscópio estereoscópico marca Olympus mo delo SZ-III com 21 aumentos.

Seguidamente, cada intestino era colocado num homogenizador de fabricação nacional tipo "Ten Broeck" (THOMAS, 1965) onde era adicionado 1 ml de água fisiológica. Procedia-se à trituração e quando o material estava completamente homogêneo, era semeado nos meios de cultura adequados (vide pág. 62).

#### 3.2.4.2. Larvas

À dieta das larvas foi misturado o antibiótico cloranfenicol na base de 0,137 g para 100 g da dieta, sete dias antes da utilização dessas formas imaturas. As larvas de um segundo lote, foram alimentados com dieta isenta de anti-biótico para a identificação e triagem da flora bacteriana e xistente.

Trinta larvas de cada lote foram lavadas com hipoclorito de sódio a 10% durante 5 minutos; em seguida, as larvas sofreram 10 lavagens com um total de 500 ml de água des mineralizada, estéril; depois disso foram trituradas separadamente pelo emprego de homogenizador tipo "Ten Broeck". Quando o material estava perfeitamente homogêneo, era semeado nos meios de cultura adequados.

No desenvolvimento dessas experiências 15 lotes de larvas e 15 de adultos foram examinadas bacteriologicamente.

### 3.2.5. Meios de cultura utilizados para isolamento dos microrganismos.

Considerando o substrato através do exame citobacterioscópico, foi possível escolher os vários meios de cultura<sup>1</sup>, destinados ao levantamento dos microrganismos inerentes à flora intestinal de *C. capitata*.

- a) Para isolamento da flora bacteriana Gram-negativa, utilizou-se o meio Holt - Harris & Teague (HHT) (Holt-Harris & Teague, 1916) que é seletivo para enterobactérias e certos germes Gram-negativos.
- b) Para germes piogênicos Gram-positivos e outros que exigem a presença de proteínas termocoaguláveis, utilizou-se o clássico ágar sangue (ASA) (BIER, 1981).
- c) Para flora menos exigentes constituída pelo grupo gênero *Bacillus*, acholéplasmas e germes banais raramente patogênicos empregou-se o ágar simples (AS) (BIER, 1981).

-----  
<sup>1</sup> Vide descrição em Apêndice 2.



d) No referente a fungos e levedos os meios usados foram "PDA" (Potato dextrose ágar) e o consagrado meio de ágar sabouraud dextrose (DIFCO, 1953).

### 3.2.6. Identificação bioquímica dos microrganismos

Para esta finalidade foram utilizados os mesmos meios de cultura relacionados no item anterior.

### 3.2.7. Inoculação do substrato no meio de cultura e incubação

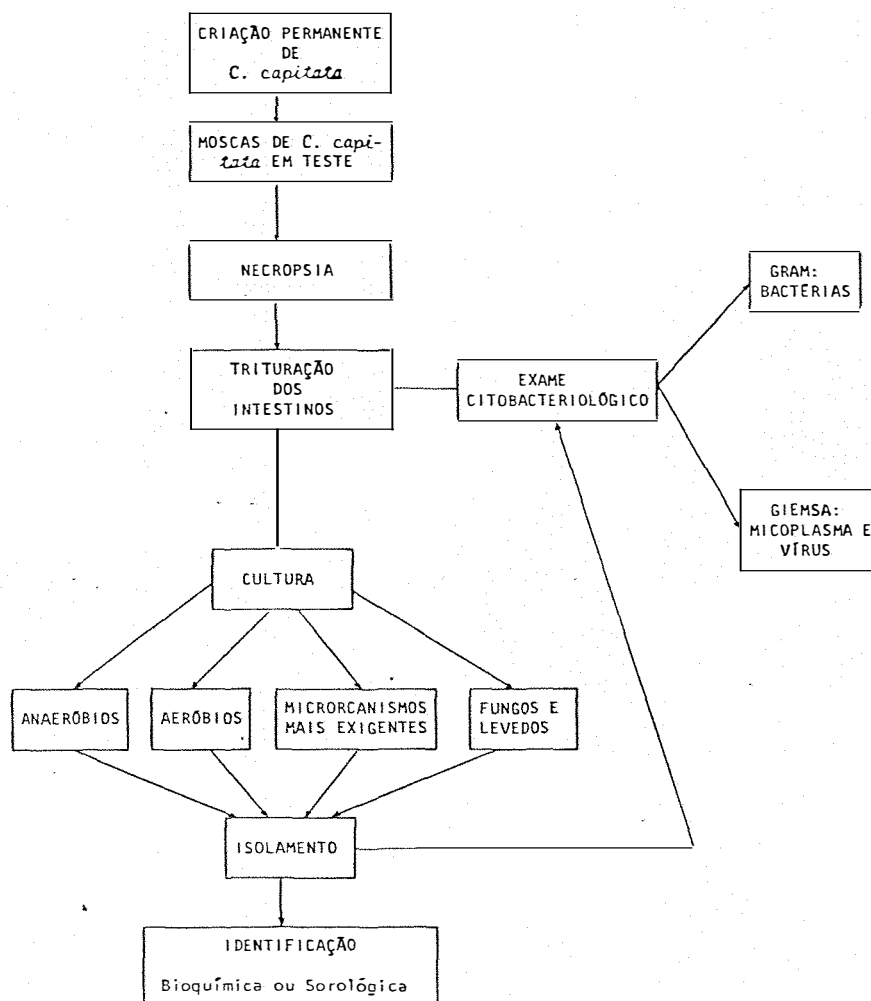
O material obtido da trituração era adicionado na superfície dos meios de cultura sólidos, contidos em placa de petri com o auxílio de pipeta de Pasteur de haste fina.

Posteriormente, o material era espalhado pelo emprego de espátula de Drigalski em três pontos diferentes na superfície do meio, de modo a resultar, diluições progressivamente menores do inóculo a fim de obter-se colônias isoladas após a necessária incubação em estufa bacteriológica (a  $29 \pm 1^{\circ}\text{C}$ ).

### 3.2.8. Interpretação dos microrganismos proliferados

As leituras eram executadas dentro do intervalo de 24 a 48 h. de acordo com o meio utilizado.

ESQUEMA DO PROCESSAMENTO LABORATORIAL PARA ISOLAMENTO E IDENTIFICAÇÃO DOS SIMBIONTES INERENTES AO TRATO DIGESTIVO DE *C. capitata*



#### 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

##### 4.1. Estudo de esterilidade de insetos

Embora nos diversos experimentos apenas determinados tratamentos constassem de todos os ensaios, foi possível uma análise conjunta seguindo modelo de experimentos em blocos ao acaso com tratamentos comuns (GOMES, 1977) (Quadros III e IV e Apêndice 3).

Quadro III. Tratamentos a que foram submetidos adultos de *C. Capitata* através de dieta artificial, porcentagem média ajustada de eclosão e teste de tukey ao nível de 5% de probabilidade. T= 24 ± 2°C e U.R. = 70 ± 5%. ESALQ, Piracicaba-SP, 1981 a 1983.

Tratamento	Dosagem	Média ajustada	Tukey (5%)*
1. Testemunha	-	78,61	g
2. Diflubenzuron	300 ppm	76,76	fg

Cont-

Quadro III. Cont.

Tratamento	Dosagem	Média ajustada	Tukey (5%)*
3. Diflubenzuron	300ppm	76,76	efg
4. Óxido cuproso	0,06 %	75,16	defg
5. Diflubenzuron	70ppm	74,99	cdefg
6. Óxido cuproso	0,15 %	73,75	cdefg
7. Óxido cuproso	0,10 %	72,99	cdefg
8. Methoprene	35ppm	91,99	cdefg
9. Diflubenzuron	14ppm	71,77	cedfg
10. Diflubenzuron	500ppm,	71,67	cdefg
11. Diflubenzuron	800ppm	70,68	cdefg
12. Diflubenzuron	120ppm	70,56	cdefg
13. Diflubenzuron	80ppm	70,18	cdefg
14. Diflubenzuron	9ppm	68,98	cdefg
15. Diflubenzuron	1000ppm	68,97	cedfg
16. Diflubenzuron	18ppm	68,34	cdefg
17. Óxido cuproso	0,10 %	67,08	cdefg
18. Diflubenzuron	100ppm	66,51	cdefg
19. Diflubenzuron	1500ppm	66,41	cdefg
20. Diflubenzuron	45ppm	65,05	cdefg
21. Diflubenzuron	1000ppm	64,30	bcdefg
22. Diflubenzuron	800ppm	63,77	bcdefg
23. Diflubenzuron	500ppm	63,34	bcdefg
24. Methoprene	25ppm	62,50	bcdefg
25. PH 60-44	500ppm	61,34	bcdefg
26. PH 60-44	45ppm	58,50	bcdefg
27. Diflubenzuron	25ppm	58,26	bcdefg
28. Diflubenzuron	2000ppm	58,00	bcdefg
29. PH 60-44	500ppm	57,92	bcdefg
30. Diflubenzuron	60ppm	57,05	bcdefg

Cont. -

## Quadro III. Cont.

Tratamento	Dosagem	Média ajustada	Tukey (5%)*
31. Diflubenzuron	30ppm	55,79	bcdef
32. Avermectin	30ppm	54,24	bcdefg
33. PH 60-44	25ppm	51,68	bcdf
34. Diflubenzuron	1500ppm	47,26	bcde
35. Oxicloreto de cobre	0,10 %	43,27	bcd f
36. Diflubenzuron	2000ppm	40,21	bcde
37. Avermectin	30ppm	34,65	bc e
38. Oxicloreto de cobre	0,12 %	27,65	b
39. Oxicloreto de cobre	0,10 %	1,86	a
40. Methoprene	45ppm	0,96	a
41. Methoprene	70ppm	0,66	a
42. Avermectin	33ppm	0,56	a
43. Avermectin	35ppm	0,36	a
44. Avermectin	37ppm	0,36	a
45. Avermectin	31ppm	0,36	a
46. Oxicloreto de cobre	0,12 %	0,20	a
47. Oxicloreto de cobre	1,0 %	0,00	a
48. Oxicloreto de cobre	0,5 %	0,00	a
49. Avermectin	25ppm	0,00	a
50. Avermectin	31ppm	0,00	a
51. Avermectin	33ppm	0,00	a
52. Avermectin	35ppm	0,00	a
53. Avermectin	37ppm	0,00	a

\* As médias assinaladas com a mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Quadro IV. Análise de variância conjunta para o estudo da viabilidade da oviposição de *C. capitata*. ESALQ, Piracicaba, SP, 1981, 1982 e 1983.

C.V.	G.L.	SQ	QM	F
Total	326	236.926,351	-	-
Experimentos	6	98.555,791	16.425,965	415,33
Rep/Exp.	23	16.446,832	498,389	12,60
Trat. ajustados	52	112.629,728	2.165,956	54,77++
Resíduos	235	9.294,000	39,549	-

#### 4.1.1. Ensaio I e II

Como pode-se observar nos Quadros I, II e III <sup>1</sup> (Ensaio I) com exceção do Methoprene, todos os tratamentos mostraram comportamento semelhante à testemunha com relação ao número acumulado de ovos, eclosão, pupamento e emergência (F<sub>2</sub>) /tratamento.

Ainda pode-se observar a alta eficiência do Methoprene na esterilidade de *C. capitata* nas dosagens de 45 e 70 ppm apresentando 2,0 e 0,94% de adultos na geração 2 (F<sub>2</sub>) respectivamente.

<sup>1</sup> Apêndice nº 3

Os tratamentos com Óxido cuproso nas dosagens de 0,06 e 0,10% (cobre metálico) não apresentaram os efeitos verificados com cobre na forma de Óxicloreto de cobre por SALGADO (1979) onde demonstrou que dosagens entre 0,05 e 0,07 (cobre metálico) causavam diminuição no número de ovos, reduzindo ainda a viabilidade.

No Ensaio II (Quadros IV, V e VI)<sup>1</sup> onde foram aumentadas as dosagens de Óxido cuproso e Diflubenzuron e diminuída a de Methoprene, observou-se que nenhum dos tratamentos mostrou diferenças significativas em relação à testemunha quanto à viabilidade dos ovos. As dosagens de Óxido cuproso de 0,10 e 0,15% na dieta de adultos não prolongaram o período de oviposição como observado por SALGADO (1979), onde provavelmente o elemento Cl do Óxicloreto de cobre por ele usado teria sido responsável pelo efeito produzido.

#### 4.1.2. Ensaio III

A partir do Ensaio III foram obtidas amostras periódicas (3, 5, 7 e 9 dias após a 1.<sup>a</sup> postura) de ovos para verificar a viabilidade dos mesmos que eram observados até o 4º dia após a postura, de acordo com PEDROSO (1972). Os quatro dias de exposição da dieta contendo Diflubenzuron, PH-60-44 e o Methoprene nas dosagens referidas no Quadro VII<sup>1</sup> não

-----  
<sup>1</sup> Apêndice nº 3



produziram nenhuma alteração na eclosão; por outro lado, o pH 6044 provocou uma queda no número de ovos da ordem de 50% apenas no 1º dia de avaliação. Por sua vez o Oxicloreto de cobre nas duas dosagens empregadas (1 e 0,5% de cobre metálico) provocou a morte de 100% da população testada após 24h da alimentação; no entanto, esse resultado não deve ser considerado excelente (Quadro VII) pelo fato da dosagem não se enquadrar dentro dos requisitos como esterilizante. (Vide Quadro III nº 47 e 48).

#### 4.1.3. Ensaio IV

Como pode-se observar no Quadro VIII<sup>1</sup> maioria dos tratamentos continuou a não mostrar diferença com relação à testemunha ao nível de significância de 5% quanto à porcentagem de eclosão, com exceção do Diflubenzuron a 1500 e 2000 ppm, que mostraram uma pequena diminuição na viabilidade dos ovos do último lote avaliado, ou seja 6 dias após o tratamento.

-----  
<sup>1</sup> Apêndice nº 3

#### 4.1.4. Ensaio V

Neste ensaio as dietas contendo os diversos produtos foram fornecidos aos adultos de *C. capitata* no mesmo dia em que ocorreu a emergência e durante 4 dias consecutivos, substituindo-as como nos ensaios anteriores por dieta normal nos dias subsequentes. Neste experimento, verificou-se um decréscimo na porcentagem de eclosão no tratamento com Diflubenzuron a 2000 ppm, da ordem de aproximadamente 50% com relação à testemunha (Quadro IX)<sup>1</sup>. Porém, esta dosagem é considerada muito elevada quando comparada às usadas por outros autores para o controle de insetos (TUGWELL et alii, 1966; MOORE e TAFT, 1975).

OTTENS e TODD (1979) estudando o efeito do Diflubenzuron em *Graphognathus peregrinus* (Col. Curculionidae) constataram que dosagens a partir de 75 ppm causaram uma completa inibição da eclosão quando os adultos foram alimentados com folhas de soja tratadas com o referido produto. Em outros trabalhos, os pesquisadores tem verificado que o Diflubenzuron pode proporcionar uma inibição temporária quanto à postura ou viabilidade dos ovos (McLAUGHLIN, 1976 e MCGREGOR e KRAMER, 1976).

Em pesquisas realizadas por WRIGHT e SPATES (1976) mostraram que houve 100% de inibição de eclosão ao fornecer 100 ppm de Diflubenzuron na dieta durante 5 dias à moscas da família Muscidae o que, pelos resultados obtidos não é aplicado ao tefritídeo em estudo.

<sup>1</sup> Apêndice nº 3

Neste ensaio, observou-se também que o Diflubenzuron a 2000 ppm provocou um ligeiro prolongamento no desenvolvimento dos embriões, cujas larvas chegaram a eclodir cerca de 32 h após aquelas provenientes da testemunha. Verificou-se através de microscópio estereoscópico que nesse tratamento, 11% dos ovos de 5 dias de idade apresentavam as larvas pré-eclodidas quase totalmente desenvolvidas. Nos demais tratamentos e de uma maneira geral, a eclosão de mais de 90% ocorreu após 72 h da postura.

ALVAREZ e SARASUA (1982) estudando os efeitos do Diflubenzuron em diversas fases do desenvolvimento de *C. capitata*, verificaram que tanto a fecundidade dos adultos que receberam aplicação tópica como a eclosão dos ovos foram reduzidos. Observaram ainda que os efeitos nos adultos dependem do momento da ingestão, verificando uma redução da fecundidade apenas quando as fêmeas ingerem o produto durante o primeiro dia após a emergência. Os autores sugeriram que o efeito além de irreversível é ligado a um enfraquecimento do tegumento devido à interferência do Diflubenzuron na deposição da endocutícula que está relacionada ao mecanismo de postura.

Todavia, os resultados obtidos nesta pesquisa não permitem concordar com os obtidos por aqueles pois oferecendo o Diflubenzuron aos adultos no primeiro, terceiro ou quarto dia não foi conferida esterilidade nem considerável redução da eclosão.

A ausência do efeito do Diflubenzuron e do PH-6044 sobre a viabilidade dos ovos de mosca-das-frutas pode ser de acordo com BATEMAN (1972) devido à degradação do produto pelos simbiontes que habitam o intestino dos referidos insetos, já que aqueles além de desdobrarem substâncias nutritivas para pronta assimilação pelos insetos, podem também degradar os produtos tóxicos ao passarem pelo estomodeo antes de serem assimilados, ou antes de provocarem transtornos fisiológicos a ponto de causarem esterilidade aos adultos. Segundo o mesmo autor, os simbiontes estão presentes em mais de 50 espécies de tefritídeos estudados, os quais, devido a uma adaptação morfológica, asseguram a sua sobrevivência e transmissão de geração para geração.

#### 4.1.5. Ensaio VI a X

Nestes ensaios não foi obtido nenhum sucesso, pois o veículo utilizado, proteína hidrolizada de milho, foi o fator que causou alta mortalidade aos adultos de todos os tratamentos; tal inconveniente só foi sanado durante a realização do ensaio X. No ensaio XI, a referida substância foi substituída por melado de cana, porém, acredita-se que tenha permanecido algum resíduo tóxico nas gaiolas, sendo ingerido pelos adultos provocando novamente uma elevada mortalidade nos indivíduos em teste.

#### 4.1.6. Ensaio XI

Ao estabelecer uma comparação entre os resultados\*\* dos tratamentos inseridos no Quadro X\* observa-se que os tratamentos com Avermectin 35, 40 e 45 ppm foram os que apresentaram os melhores resultados pois, além de os adultos manterem-se vivos, as fêmeas não efetuaram postura no decorrer do período em estudo, uma das características de grande importância apontada por KNIPLING (1979) quando se visa a esterilidade pelo emprego de substâncias químicas.

Os insetos alimentados com dieta artificial contendo Methoprene 40 e 45 ppm não evidenciaram os efeitos almejados pois a porcentagem de viabilidade dos ovos colocados foi bastante grande, o que evidentemente não é de importância no presente estudo. Além disso, informações recentes confirmam a rápida decomposição do referido produto quando exposto à ação da luz (informação pessoal de O. Nakano).

Quanto aos tratamentos contendo Oxicloreto de cobre na dieta, fornecida no 4º dia da emergência, observou-se que houve uma inibição de postura durante aproximadamente 14 dias, porém, a fertilidade foi recuperada ocorrendo postura e uma média aproximada de 50% de viabilidade dos ovos em

-----  
\* Apêndice nº 3

\*\* Não foi feita análise estatística devido à falta de dados em decorrência da inibição de postura na maioria das repetições.

ambas as dosagens (0,10 e 0,12%). Estes resultados não estão de acordo com os obtidos por SALGADO (1979) onde concluiu que concentrações acima de 0,07% de Oxicloreto de cobre na dieta dos adultos de *C. capitata* acarretam inibição total da postura.

Para outras espécies, o cobre metálico parece ser mais tóxico, pois SIVAPALAN e GNAPRAGASAM (1980) estudando a influência do citado produto em *Homona coffearia* (Lep. Tortricidae) demonstraram que 200 ppm de cobre metálico oferecidos às larvas desse lepidoptero apesar de terem alcançado o estágio pupal, ocasionaram uma inibição total da emergência dos adultos.

No Quadro XI <sup>1</sup> podem-se observar as porcentagens de mortalidade de fêmeas e machos, ocorridas em períodos de 3 dias, durante 30 dias de estudo. Com a finalidade de estabelecer-se o tempo letal cincoenta (TL<sub>50</sub>) os dados deste ensaio foram analisados pelo método de próbitos (distribuição normal) proposta por BLISS (1935) onde pode-se observar que a mortalidade das fêmeas antes de 30 dias é devida às substâncias esterilizantes apenas nos tratamentos: Oxicloreto de cobre 0,10% e 0,12% e Avermectin 45 ppm com TL<sub>50</sub> aos 35,23; 19,49 e 19,50 dias respectivamente. Nos machos, por sua vez, constatou-se um TL<sub>50</sub> prematuro com relação aos das fêmeas em todos os tratamentos, inclusive na testemunha onde mostrou

-----  
<sup>1</sup> Apêndice nº 3

ser de 23,62 dias. Por outro lado, os tratamentos que provocaram mortalidade mais acelerada foram os 3 anteriormente citados para as fêmeas, apresentando  $TL_{50}$  aos 9,78; 7,32 e 6,90 dias respectivamente (Quadro V).

As fêmeas dos demais tratamentos mantiveram-se vivas na sua grande maioria no decorrer do período em que se efetuou o estudo (30 dias). Porém, as integrantes do lote tratado com Avermectin na maior dosagem (45 ppm) caracterizavam-se por eventuais estados de tremor após os 15 dias do fornecimento da dieta contendo esse produto.

Em observações efetuadas durante a evisceração de machos e fêmeas tratados com Oxicloreto de cobre, constatou-se que 10 dias após o início do fornecimento da referida substância houve inibição dos tubos de Malpighi e um notável aumento nas dimensões do abdome dos insetos. Por sua vez verificou-se uma redução no tamanho e um escurecimento dos testículos dos machos examinados. Vinte dias após o início do experimento, constatou-se a presença de ovos no interior de fêmeas sacrificadas, tratadas com Oxicloreto de cobre nas duas dosagens testadas. Aos 22 dias do início do tratamento com Avermectin a 40 ppm em fêmeas evisceradas também foram encontrados ovos nos seus respectivos ovaríolos, todavia, não foi observada postura pelas fêmeas restantes, do mesmo lote, em dias posteriores.

Quadro V. Tempo letal cincoenta (TL<sub>50</sub>) dias observado em fêmeas (♀) e machos (♂) alimentados com dieta contendo esterilizantes. T = 24 ± 2°C e U.R. = 70 ± 5%. ESALQ, Piracicaba, SP, novembro e dezembro de 1982.

Tratamentos	Dosagem (ppm)	TL <sub>50</sub>	
		♀	♂
1. Testemunha	-	- <sup>a</sup>	23,62
2. Oxicloreto de cobre 50% PS	0,10%	35,23	9,78
3. Oxicloreto de cobre 50% PS	0,12%	19,49	7,32
4. Methoprene 5% CE	40	-	21,58
5. Methoprene 5% CE	45	-	22,63
6. Avermectin 0,36% S	35	-	21,29
7. Avermectin 0,36% S	40	-	20,67
8. Avermectin 0,36% S	45	19,50	6,90

a - O traço significa que não foi observada mortalidade significativa até os 30 dias de estudo.

#### 4.1.7. Ensaio XII

Neste ensaio, onde apenas foi fornecida a dieta às fêmeas contendo as substâncias esterilizantes durante três dias, os tratamentos Avermectin 31, 33, 35 e 37 ppm (Quadro XII, Apêndice nº 3), mostraram-se altamente eficientes conferindo inibição da postura às fêmeas durante todo o período.



Conforme o ensaio anterior, as fêmeas alimentadas com dieta contendo Oxicloreto de cobre, recuperaram a fecundidade e fertilidade o que indica que estas são capazes de conservar e manter a espermateca com semem viável introduzido por machos não tratados com Oxicloreto de cobre 25 dias após a cópula. Portanto, a inibição da ovogênese foi reversível nas condições estudadas (Quadro XII).

Quanto a mortalidade (Quadro XIII, Apêndice nº 3) observou-se uma semelhança percentual quando comparada com as mostradas pelos tratamentos onde ambos os sexos foram tratados.

Pelos resultados obtidos neste ensaio pode-se concluir que as fêmeas alimentadas com iscas contendo Avermectin nas dosagens de 31 a 37 ppm, embora copulando com machos alimentados com material silvestre, lhes é conferida esterilidade irreversível pelo menos durante 30 dias, caso a ingestão ocorra nos primeiros 5 dias de idade (Quadro XIII).

#### 4.1.8. Ensaio XIII

Em observações efetuadas no Ensaio XIII onde apenas os machos foram alimentados com dieta contendo Avermectin e Oxicloreto de cobre, verificou-se que a fecundidade das fêmeas virgens foi inibida apenas quando foram copuladas por machos tratados com Avermectin em todas as dosagens. Isto indica que não é necessário fornecer o alimento contendo Averme

ctin para provocar esterilização. Por outro lado, esse fator esterilizante do qual o macho passa a ser dotado, pode ser transferido para todas as fêmeas que por ventura venham acasalar com esses machos, podendo estes inclusive, competir sexualmente com outros que possam ter escapado do tratamento, característica importante proposta por KNIPLING (1979) na supressão de insetos através da quimioesterilização.

Ao examinar o efeito da cópula de machos alimentados com dieta contendo Oxicloreto de cobre x fêmeas virgens que não sofreram esse tratamento, verificou-se que os primeiros não foram capazes de evitar que as fêmeas recuperassem a fecundidade posteriormente, do que pode-se concluir que a ação do Oxicloreto de cobre nas dosagens e condições em que foi efetuada a pesquisa, caracteriza-se por uma aparente diminuição da fecundidade que na verdade é transitória e recuperada decorrido certo período e por uma elevada mortalidade dos machos quando alimentados com dieta contendo o referido produto; isso confere uma característica que sugere um efeito inseticida subletal do produto, concordando com ALFARO GARCIA (1966).

#### 4.1.9. Ensaio XIV

Dando continuidade ao Ensaio XI este ensaio forneceu os resultados esperados pois observou-se que as 3 dosagens de Avermectin utilizadas (31, 33 e 37 ppm) pro-

duziram inibição total da fertilidade em fêmeas e machos de *C. capitata* tratados, isto é, as fêmeas deste lote tampouco e fetuaram postura. De outro lado, neste mesmo ensaio a testemunha mostrou uma porcentagem média de viabilidade dos ovos = 73,58 (Quadro XIV).

Nos últimos 3 ensaios, não foi possível a confecção de tabelas mostrando os TL<sub>50</sub> para os diferentes tratamentos devido à não confiabilidade do pequeno número de dados obtidos. Isto é, os tratamentos que formaram parte destes ensaios não mostraram uma letalidade progressiva suficiente para que durante os 30 dias de estudo de cada lote, fossem obtidos pontos suficientes para serem analisados.

O mecanismo pelo qual o Avermectin confere esterilidade aos adultos de *C. capitata* não foi possível de ser elucidado. Todavia, há várias hipóteses que podem ser aventadas. Uma delas é a de que através da alimentação, essa substância seja assimilada na sua forma estável sem haver intervenção da flora bacteriana causando inibição completa da ovogênese, provocada por algum distúrbio fisiológico.

Outra hipótese, e a menos provável é a de que o contato do corpo do inseto por ocasião da alimentação ou da cópula, possa conduzir o produto atingindo os órgãos genitais provocando um efeito direto nos ovários nas fêmeas ou inibição da espermatogênese nos machos, decorrentes de lesões nos testículos.

#### 4.1.10. Ensaio com *C. capitata*

Como pode ser observado através da Figura 4.c

o lote de adultos de *C. externa* alimentado com dieta contendo Oxicloreto de cobre 0,12% efetuou a postura mostrando anomalias como a formação vestigial de ovos, redução do pedúnculo e das tentativas de postura. (Fig. 4.C)

O Avermectin 40 ppm, causou, além de uma notada lentidão no inseto, inibição de postura ou formação reduzida do pedúnculo que sustenta o ovo por ocasião da postura.

Na dosagem de 35 ppm observou-se afinamento no diâmetro do pedúnculo do ovo e fragilidade do cório (Fig. 4A). A viabilidade dos ovos e a postura foram diminuídas em cerca de 58 e 20% respectivamente.

Na dosagem de 33 ppm, o Avermectin caracterizou-se por uma redução na postura e na viabilidade dos ovos (apesar da sua aparência normal) da ordem de 20 e 45% respectivamente.

A Figura 4T mostra a forma de um ovo de *C. externa* proveniente do lote da testemunha ou do lote de fêmeas alimentadas com dieta contendo Avermectin a 30 ppm, tratamento que foi responsável por uma queda de 30% na redução da eclosão. Observou-se que no lote dos insetos referentes à testemunha, foram encontradas formas abortivas de ovos (apenas pedúnculo) no decorrer da criação quando as fêmeas não eram acasaladas ou quando as mesmas atingiam mais de 40 dias de idade, embora acasaladas.

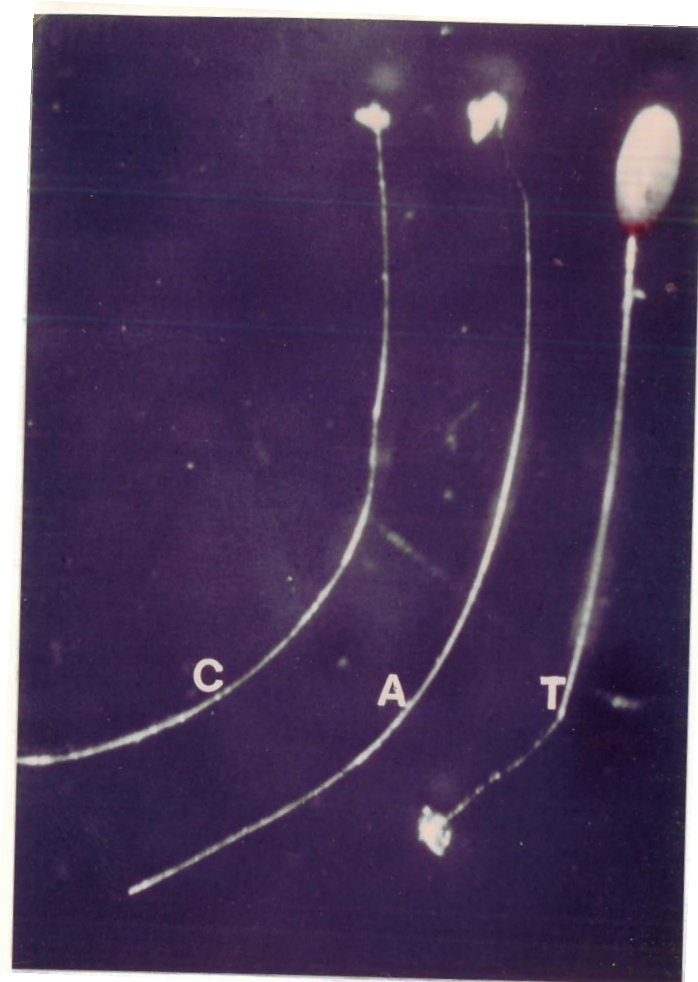


Figura 4. Efeito de substâncias esterilizantes em ovos de *C. externa*.

C = Ovo procedente de fêmea de *C. externa* alimentada com dieta contendo oxicloreto de cobre a 0,12%.

A = Ovo procedente de fêmea de *C. externa* alimentada com dieta contendo Avermectin a 35 ppm.

T = Ovo procedente de fêmeas alimentadas com dieta contendo Avermectin a 30 ppm ou com dieta normal.

## 4.2. Simbiontes

### 4.2.1. Exame através de microscopia eletrônica

Através de eletromicrofotografias obtidas a partir de microscópio eletrônico de transmissão, verificou-se a presença de bactérias (Figs. 5 e 6), localizadas no trato digestivo de adultos onde pode ser observada a presença de cocos e bacilos com estruturas bem definidas. Dessa observação, referente a morfologia, foi possível detectar esses microrganismos in vitro através de recursos bacteriológicos.

### 4.2.2. Exame citobacterioscópico

O emprego dos métodos de coloração de Gram e Giemsa (CRUICKSHANK et alii, 1975) através de microscopia óptica comum (1000x), permitiu revelar a presença dos seguintes microrganismos.

a) Pelo método de Gram: presença de regular quantidade de muco, várias células epiteliais e vários bacilos Gram-positivos, alguns cocos Gram-positivos dispostos de 4 a 6 elementos lembrando a estrutura morfológica de *Streptococcus faecalis*, ao lado da presença de raríssimos elementos dotados de estruturas leveduriformes.

b) Pelo método de Giemsa, foi possível verifi-

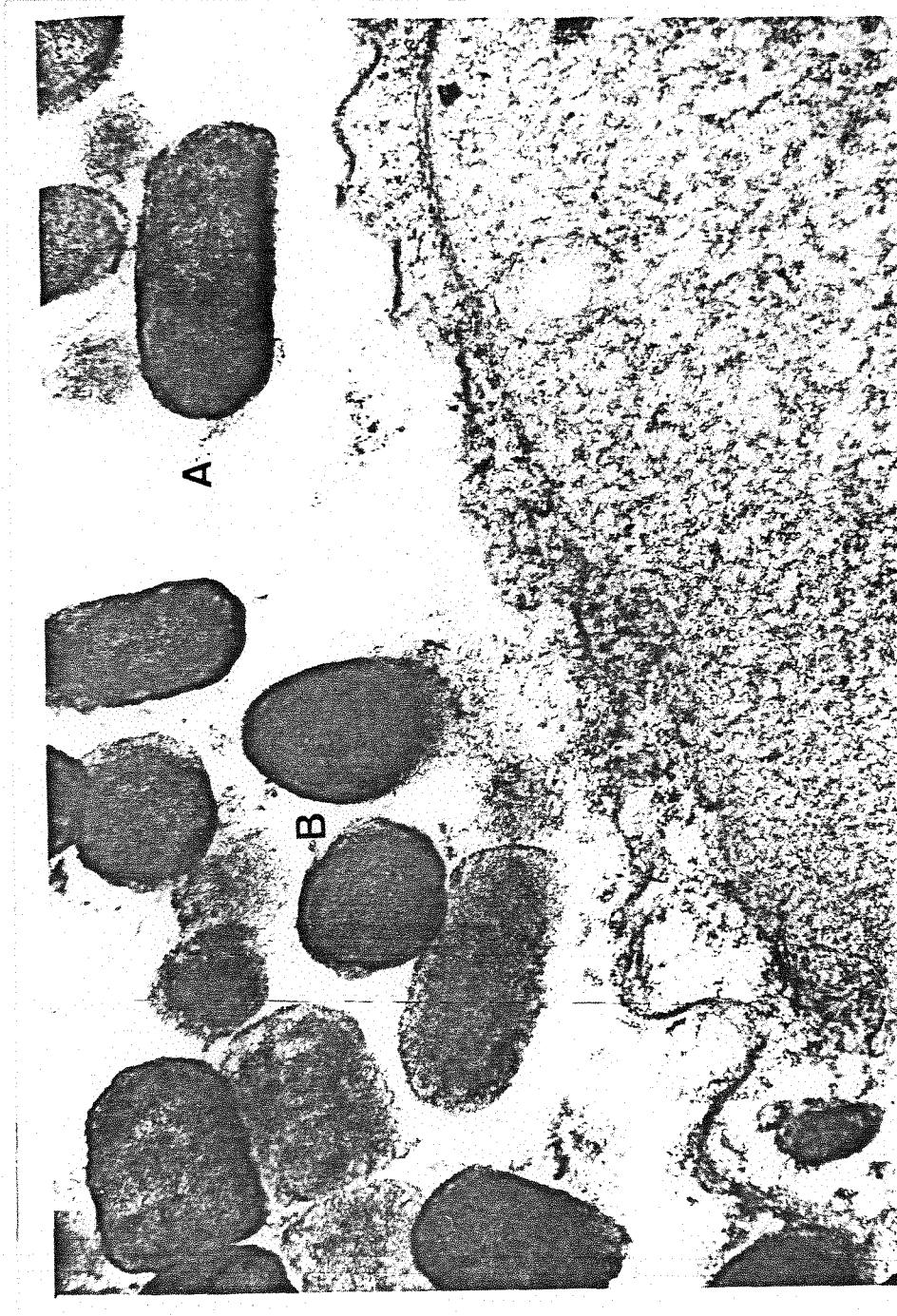


Figura 5. Eletrofotomicrografia mostrando as bactérias encontradas no mesentério de *C. capitata* (18236 x).

A. Microorganismo com estrutura morfológica bacilar; B. Elemento esférico evidenciando estrutura morfológica dos cocos.



Figura 6. Eletrofotomicrografia mostrando algumas das bactérias presentes no mesentero de *C. capitata* (36472 x).



car a presença de corpúsculos elementares lembrando morfologicamente, as características pleomórficas inerentes aos michoplasmas e acholeplasmas quando vistos ao microscópio comum (1000x).

#### 4.2.3. Tratamento de *C. capitata* para obtenção de aposimbiose

A partir de larvas tratadas com Quemicetina (cloranfenicol) 0,137%, verificou-se que a referida dosagem funcionou apenas como agente bacteriostático, razão pela qual, em experimentos posteriores, foram testadas quantidades de efetiva ação bactericida, cuja concentração, resultou ser de 0,452% de cloranfenicol tanto para adultos como para larvas. Atendendo medida de reforço e ação sinérgica foi incorporado Gentamicina na concentração de 60 mg/100 g de dieta resultando numa total e efetiva obtenção de aposimbiose.

A obtenção dos antibióticos selecionados destinados a ação esterilizante dos simbiosites foi conseguida através de uma seleção por meio de antibiograma com polidiscos LORIAN(1977) (Figs. 7 e 8) frente aos germes *Pseudomonas* sp, *E. coli* e *E. aerogenes* em meio de cultura de ágar sangue.

Em decorrência do emprego dos antibióticos oferecidos aos insetos, observou-se, tanto uma sensível diminuição na postura, como da longevidade ao redor de 70% respectivamente.

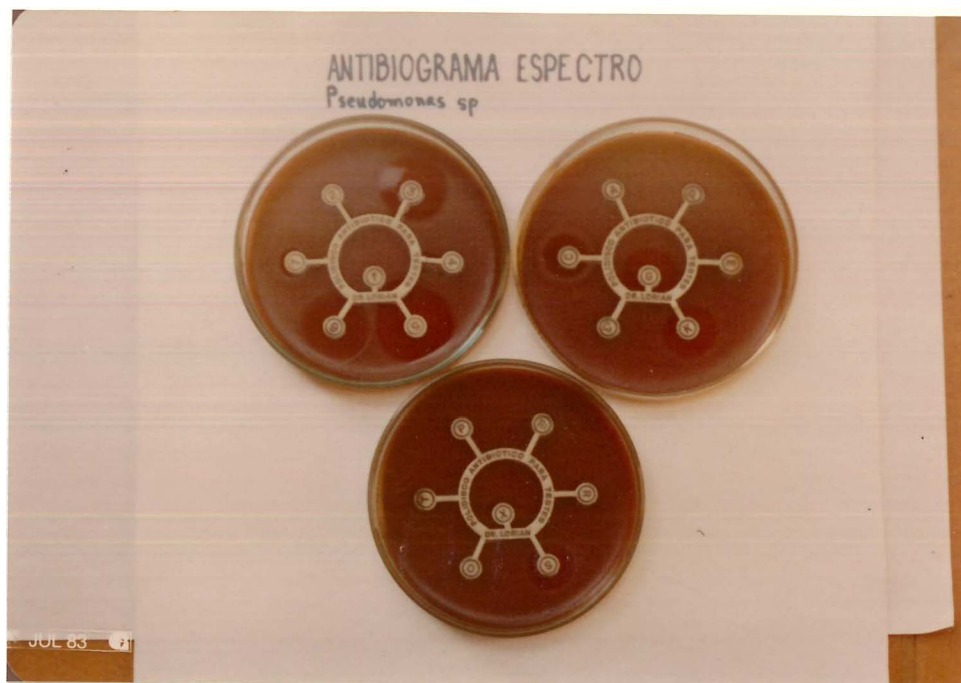


Figura 7. Antibiograma espectro *Pseudomonas* sp com polidiscos Lorian.



Figura 8. Antibiograma espectro *E. coli aerogenes* com polidiscos Lorian.

Nesta fase foi obtida aposimbiose total na população dos lotes testados.

No entanto, e apesar dos cuidados na manutenção da criação no laboratório houve uma invasão de formigas no período noturno, depredando os adultos de *C. capitata*, ainda que isolados por meio de vaselina semi-sólida circundando as gaiólas. O êxito da invasão das referidas formigas, foi conseguida pela passagem sobre uma ponte formada pelos próprios cadáveres das invasoras.

#### 4.2.4. Germes isolados de substrato de larvas e adultos

Verificou-se através do levantamento da florabacteriana, que os germes existentes eram constantes e os mesmos tanto nas larvas como nos adultos. Nos materiais examinados (constando de 15) durante a pesquisa foi possível isolar e identificar os seguintes microrganismos (Figs. 9, 10 e 11).

*Escherichia coli* (Migula, 1885)

É um bacilo Gram-negativo, geralmente móvel de 0,5 x 1-3 micras variando desde as formas cocóides até formas mais alongadas. Aeróbio porém, facultativamente anaeróbio. Encontra-se no solo, intestino do homem e outros vertebrados. Largamente distribuído na natureza (BERGEY, 1957).

Com respeito ao aspecto das colônias nos meios

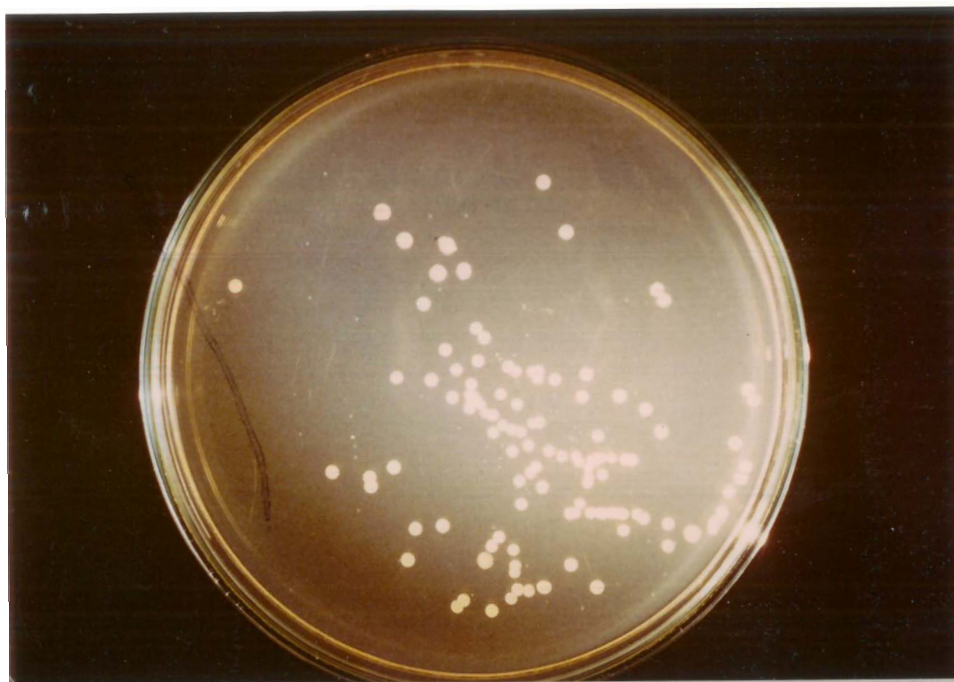


Figura 9. Meio Ágar Simples. Cultura pura com numerosas colônias de *E. coli* isoladas.



Figura 10. Meio Holt-Harris-Teague (HHT) mostrando inúmeras colônias de enterobactérias inerentes à flora bacteriiana do intestino de *C. capitata*.

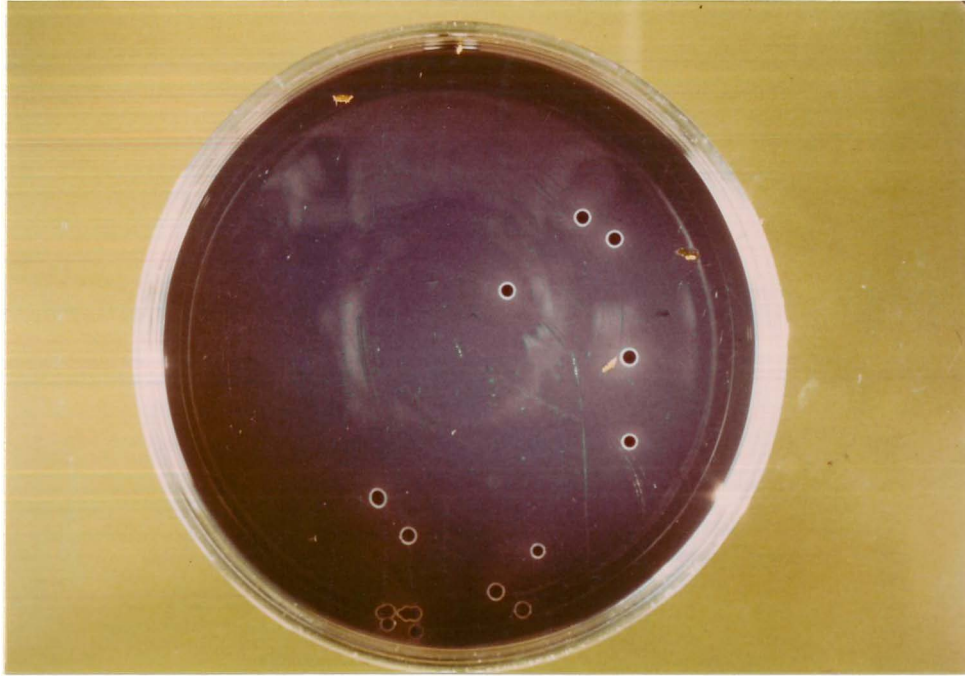


Figura 11. Meio Holt-Harris-Teague mostrando um número escasso de colônias isoladas de *E. coli*.

seletivos de isolamento, elas apresentam-se no meio de HHT com aspecto púrpuro escuro dotadas de brilho metálico. A colônia submetida a identificação bioquímica apresentou as características do Apêndice 1.

*Aerobacter aerogenes* (Kruse, 1896)

Bacilo móvel, Gram-negativo, 0,5-0,8 x 1,2 micras dotado de flagelos aeritriquios Aeróbio facultativo. Normalmente encontrado em diversas plantas, água e leite e seus derivados, no intestino do homem e outros animais. Distribuído largamente na natureza.

As colônias no HHT apresentam-se com coloração rósea, centro escuro, brilho metálico esverdeado. Identificação bioquímica (vide Pag. 94).

*Alcaligenes faecalis* Castellani e Chalmers, 1919

Bacilos Gram-negativos medindo 0,5 x 1,0 - 2,0 micra dispersos e raramente em cadeias. Normalmente não encapsuladas. Móveis e com cílios peritríquios.

Largamente distribuído em material em decomposição. Geralmente considerado não patogênico.

No meio HHT este bacilo não fermenta a lactose; as colônias apresentam-se desprovidas de pigmentação. Características bioquímicas, vide Apêndice 1.



*Pseudomonas fluorescens* Migula, 1895

É um bacilo Gram-negativo móvel. Dimensões de 0,3 a 0,5 x 1,0 a 1,8 micra. Possui de 1 a 3 flagelos polares. Aeróbios facultativos.

Presentes no solo, água e ocasionalmente em alimentos contaminados. Considerado não patogênico.

No meio HHT, colônias raramente incolores, porém inicialmente róseas com odor *sui generis*. Características bioquímicas vide Apêndice 1.

*Bacillus cereus* Frankland e Frankland, 1887

Bacilo Gram-positivo 1 a 2 x 3-5 micras. Móvel ou não. Capsulados. Aeróbios. Largamente distribuído no solo, poeira, leite e superfície de plantas.

Não prolifera nos meios seletivos para bacilos Gram-negativos. Porém, prolifera exuberantemente em ASA e AS. A proliferação nestes meios apresenta características morfológicas inerentes ao grupo do *B. cereus*. Características bioquímicas, vide Apêndice 1.

*Streptococcus faecalis* Andrewes e Horder, 1906

São cocos não móveis, aeróbios porém, anaeróbios facultativos Gram-positivos de 0,5-1 micra de diâmetro. Apresentam-se de 2 a 2 ou geralmente em curtas cadeias.

Encontram-se presentes no intestino do homem e de outros animais de sangue quente (BERGEY, 1957).

Em meio de HHT, apesar de ser inibidor da flora Gram-positiva, lhe é permitida a sua proliferação apresentando minúsculas colônias, de início incolores e a partir de 24 h escuras ou negras conferindo ainda uma tonalidade brilhante. Características bioquímicas, vide Apêndice 1.

*Acholeplasma* sp

É um microrganismo intermediário entre vírus e bactérias com estrutura pleomórfica parecida ao micoplasma; ambos são saprófitas, todavia o *acholeplasma* além de saprófita exige colesterol para o seu desenvolvimento.

É amplamente disseminado no solo, adubo orgânico de origem animal, água dos rios, superfície das plantas, cavidade oral e intestino de diversos animais.

*Saccharomyces* sp

São microrganismos Gram-positivos de forma ovóide com 5 a 10 micras de diâmetro, a reprodução é sexuada por brotamento. Estão amplamente distribuídos na natureza, particularmente na superfície das plantas e no solo.

A caracterização micológica baseia-se no isolamento em PDA e Sabouraud glicose.

#### 4.2.5. Bioquimismo bacteriano dos microrganismos detectados

Como resultado da triagem os microrganismos com portaram-se da seguinte maneira:

*Escherichia coli* Migula 1885.

Indol positivo, não produz gás sulfídrico, ver melho de metila positivo, produz ácido e gás na glicose, frutose, galactose, maltose, arabinose, xilose, rhamanose e manita. A sacarose e glicerina podem ou não serem fermentadas. Fermentação variável da sacarose e salicina. Dextrina, amido, glicogênio e inositol não são fermentados (BERGEY, 1957). Outras reações suplementares encontram-se nas Figuras 2 e 3.

*Aerobacter aerogenes* (Kruse, 1896)

Indol negativo, gás sulfídrico negativo. Produz ácido e gás na glicose, frutose, galactose, arabnose, mal tose, rafinose, celobiose, salicina, esculina, amido, dextrina, glicerol, manitol, sorbitol e inositol. Sacarose, inulina, ducitol podem ou não serem fermentados. Vermelho de metila negativo (BERGEY, 1957).

*Alcaligenes faecalis* Castellani e Chalmers, 1919

Indol negativo, nitritos podem ou não ser pro-

duzidos a partir de nitratos. Não hidrolizam uréia. Sem odor característico (BERGEY, 1957).

*P. fluorescens* Migula, 1895

Indol negativo. Nitratos reduzidos a nitritos e amônia. Produz ácido em presença de glicose. Liquefaz soro coagulado de sangue. Ótimo de temperatura entre 20 e 25°C. (BERGEY, 1957).

*B. cereus* Frankland e Frankland, 1887

Prolifera abundantemente em ágar simples com inducto opaco e rugoso. Em caldo simples produz turvação com ligeiro sedimento formando uma película na superfície. Peptoniza rapidamente o leite com ou sem coagulação prévia. No ágar leite apresenta reação de hidrólise da caseína (BERGEY, 1957).

*S. faecalis* Andrews e Horder, 1906

No ágar sangue as colônias são pequenas, apresentando-se esverdeadas (hemólise alfa). Fibrinólise negativa. Temperatura ótima de desenvolvimento entre 10 e 45°C. Sobrevive a 60°C durante 30 minutos. Prolifera em caldo simples cloretado a 6,5%. Desenvolve em pH 4 a 9,6. Prolifera em leite contendo 0,1% de azul de metileno reduzindo-o a leucocase. Prolifera em caldo simples biliado a 40%.

Produz ácido em glicose, maltose, trealose e salicina. A glicerina é fermentada apenas em condições aeróbicas. Pertence ao grupo D sorológico de Lancefield.

*Acholeplasma* sp.

Microorganismo intermediário entre vírus e bactérias, desenvolve em meios comuns isentos de soro de sangue e livres de colesterol. A caracterização desses microrganismos pode ser executada com absoluta segurança através de soros específicos mediante as reações de inibição in vitro. Ainda pela reação de imuno difusão, precipitação, fixação do complemento e reação do latex (CRUICKSHANK et alii, 1975).

*Saccharomyces* sp.

Não fermentador da lactose. Fermentador da sacarose glicose. Proliferação escassa em meios sintéticos que contém amônia como fonte de nitrogênio. É bem caracterizado morfológicamente a microscopia óptica comum (PRESCOTT e DUNN, sem data).

#### 4.2.6. Considerações gerais sobre simbioses

No início desta pesquisa, a microscopia eletrônica contribuiu para constatar a presença de microrganismos simbioses, prováveis degradadores de substâncias tóxicas, fenômeno publicado por BOUSH e MATSUMURA (1967).

Procurou-se aqui, constatar, a presença de simbioses no trato intestinal de *C. capitata* mediante o bioquímico bacteriano. Para tanto, houve necessidade de recorrer-se à execução de uma série de ensaios para concretizar a finalidade desta pesquisa.

Indiscutivelmente, o exame citobacterioscópico que precede ao bacteriológico, é indispensável para obtenção dos resultados, pois o exame bacterioscópico dos preparados corados permite separar dois grandes grupos de microrganismos perfeitamente distintos entre si, aqueles Gram-positivos e os Gram-negativos. Além deste importante detalhe, permite

visualizar a estrutura morfológica dos microrganismos presentes no material a ser examinado.

Assim, foi possível revelar, microrganismos Gram-negativos e Gram-positivos, entre os quais cocos Gram positivos dispostos 2 a 2 em curtas cadeias dotados da estrutura morfológica de *Streptococcus faecalis* e bacilos com estrutura morfológica de germes, provavelmente, do gênero *Bacillus*.

No que se refere aos Gram-negativos evidenciados na bacterioscopia e em se tratando de conteúdo gástrico de *C. capitata* há possibilidade de indicar a presença de enterobactérias.

O método Giemsa revelou ao exame bacterioscópico além da definição das formas estruturais, das células do tecido, a evidência de inclusões intracelulares de corpúsculos elementares no limite da visibilidade óptica (1000x) e presença de acholeplasma no citoplasma.

Nas larvas e adultos, a obtenção de apossimbio se foi conseguida por tentativas de diversas concentrações de antibióticos evitando alterar a biologia do inseto. Atendendo a essas condições, foram encontradas doses ótimas de clo - ranfenicol e gentamicina respectivamente com 0,452% e 60 mg/100 g dieta.

O emprego dos referidos antibióticos na dieta dos insetos, acarretou tanto uma sensível diminuição da pos-

tura como da longevidade ao redor de 70% respectivamente, além da total apossimbiose.

Confirmando os resultados do exame citobacterioscópico, a flora isolada em meios de cultura foi condizente ao resultado bacteriológico.

O resultado da triagem concordou plenamente com a identificação bioquímica realizada, confirmando assim a existência dos microrganismos inerentes ao trato digestivo de *C. capitata*.

A presença constante dos simbiossitos encontrados no trato digestivo de *C. capitata*, em todas as etapas da pesquisa, em condições de assepsia ambiental e de nutrição levam a ponderar tratarem-se de elementos ubiqüitários da flora de *C. capitata*.

Embora a pesquisa tenha sugerido que os microrganismos existentes sejam os reponsáveis pela degradação do Diflubenzuron, não foi possível demonstrar tal fato pela inexistência de métodos que pudessem detectar a presença desse produto nos substratos trabalhados. Entretanto, fica relativamente fácil a sua comprovação, desde que outra pesquisa de ordem toxicológica possa idealizar alguma metodologia para a determinação qualitativa e quantitativa da referida substância.



## 5. CONCLUSÕES

Os resultados obtidos, nas condições em que foram desenvolvidos os trabalhos, possibilitam as seguintes conclusões:

### 5.1. Estudo de esterilidade de insetos

5.1.1. O Oxicloreto de cobre a 0,10% e 0,12% na dieta de machos e fêmeas de *C. capitata* causaram inibição temporária da postura.

5.1.2. O TL<sub>50</sub> verificado para Oxicloreto de cobre 0,10 e 0,12% foi para fêmeas = 35,23 e 19,49 dias e para machos = 9,78 e 7,32 dias, respectivamente.

5.1.3. O Oxicloreto de cobre a 10% provocou inibição dos tubos de Malpighi e escurecimento dos testículos nos adultos de *C. capitata*.

- 5.1.4. Machos de *C. capitata* alimentados com dieta contendo Oxicloreto de cobre a 0,10% não foram capazes de causar inibição temporária da postura de fêmeas não tratadas.
- 5.1.5. O Oxicloreto de cobre a 0,12% contido na dieta de *C. externa* mostrou anomalias como, formação vestigial de ovos, redução do pedúnculo e das tentativas de postura.
- 5.1.6. O Diflubenzuron a 2000 ppm, PH 60-44 a 500 ppm e Methoprene 45 ppm não mostraram eficiência na esterilização de *C. capitata*.
- 5.1.7. O Avermectin no intervalo de dosagens entre 31 e 37 ppm causou esterilidade irreversível aos adultos de *C. capitata* com inibição total da postura.
- 5.1.8. Na dosagem de 30 ppm o Avermectin fornecido na dieta de *C. capitata* provocou inibição temporãria da postura, sendo recuperada 9 dias após o tratamento.
- 5.1.9. O fornecimento de Avermectin na dieta de fêmeas de *C. capitata* foi suficiente para provocar esterilidade às mesmas, independente do macho ter sido tratado.

- 5.1.10. Machos alimentados com Avermectin na dieta, ao acasalar com fêmeas não tratadas foram capazes de causar esterilidade às mesmas, inibindo completamente a postura.
- 5.1.11. O Avermectin nas dosagens entre 30 e 37 ppm na dieta de *C. capitata* não alterou o comportamento sexual dos referidos insetos.
- 5.1.12. O Avermectin acima de 37 ppm causou leves distúrbios no comportamento de adultos de *C. capitata* manifestado por lentidão nos movimentos e tremores descontínuos após 15 dias do tratamento.
- 5.1.13. O TL<sub>50</sub> de Avermectin 45 ppm foi de 19,50 e 6,9 dias para fêmeas e machos de *C. capitata* respectivamente.
- 5.1.14. O Avermectin a 40 ppm causou em *C. externa* além de uma notada lentidão, inibição de postura ou formação reduzida do pedúnculo que sustenta o ovo.
- 5.1.15. Na dosagem de 35 ppm o Avermectin provocou afinamento do diâmetro do pedúnculo do ovo de *C. externa* e fragilidade do cório com diminuição da viabilidade dos ovos e postura em cerca de 58 e 20% respectivamente.

5.1.16. O Avermectin a 30 ppm na dieta de *C. externa* foi responsável por uma queda de 30% na eclosão das larvas.

## 5.2. Simbiontes de *C. capitata*

5.2.1. É possível revelar a presença de simbiontes em larvas e adultos de *C. capitata* por meio do exame bacteriológico.

5.2.2. A condição de apossimbiose foi conseguida através dos antibióticos Cloranfenicol e Gentamicina, respectivamente com 0,452% e 60 mg/100 g da dieta.

5.2.3. Através de exame bacteriológico, foi possível detectar a presença constante de *E. coli*, *A. aerogenes* e *A. faecalis* e em menor frequência *P. fluorescens*, *B. cereus*, *S. faecalis*, *Acholeplasma* sp. e *Saccharomyces* sp., flora ubiquitária do trato intestinal da *C. capitata* estudada.

5.2.4. Não foi possível verificar se os microrganismos encontrados, são os responsáveis pela degradação do Diflubenzuron devido à inexistência de métodos que revelem a sua presença no substrato estudado.

## 6. LITERATURA CITADA

- ALFARO GARCIA, O., 1966. Estado actual de la lucha contra los insectos por medio de esterilizantes químicos. Bol. Pat. Veg. Ent. Agric. 29: 237-255.
- ALTMAN, L.K., 1982. New Drug May Curb Tropic "River Blindness". The New York Times. August 19, p. 15.
- ALVAREZ, C.S. & SARASUA, M.J., 1982. Response de *Ceratitidis capitata* (Wied.) (Dipt.: TRYPETIDAE) a Difluorobenzuron. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM OF FRUIT OF ECONOMIC IMPORTANCE./Abstracts/Atenas-Grecia, p. 48.
- AZIZ, M.A.; DIOP, I.M.; DIALLO, S.; LARIVIERE, M. & PORTA, M. 1982. Efficacy and tolerance of ivermectin in human onchocerciasis. The Lancet. July 24 p. 171-173.
- BAKER, A.C.; STONE, W.E. ; PLUMER, C.C. & McPHAIL, 1944. A review of studies on the Mexican fruit fly and related Mexican species. USDA. Miscellaneous Publication. Washington, D.C., 531: 1-155.
- BATEMAN, M.A., 1972. The ecology of fruit flies. Ann. Rev. Entomol. 17: 493-517.
- BATEMAN, M.A. 1976. Fruit Flies In: DeZuchi, V.L. ed. STUDIES IN BIOLOGICAL CONTROL. Cambridge University Press, p.11-49.

- BERGER, U., 1963. Die anspruchslosen Neisserien. Ergebn. Microbiol., 36, 97.
- BERGER, U., 1961. A proposed new genus of gram-negative cocci: *Gemella*. Inst. Bull. Bact. Nom. Tax II, 17.
- BERGNEY'S, Manual, 1957. Manual of determination Bacteriology. Baltimore: The Willians and Wilkins Company, 880 p.
- BESS, H.A. & HARAMOTO, F.H., 1961. Contributions to the biology and ecology of the oriental fruit flies, *Dacus dorsalis* in Hawaii. Hawaii. Agr. Exp. Sta. Tech. Bull. 104: 349-353.
- BIER, O., 1975. Bacteriologia e imunologia, em suas aplicações à medicina e à higiene. 16<sup>a</sup> ed. São Paulo. Edições Melhoramentos, 1056 p.
- BIER, O., 1981. Bacteriologia e imunologia, em suas aplicações à medicina e à higiene 21<sup>a</sup> ed. São Paulo. Edições Melhoramentos. 1062 p.
- BLISS, C.I., 1935. The calculation of the dosage - mortality curves. The annals of applied Biology. Cambridge, 22: 134 - 167.
- BOUSH, G.M. & MATSUMURA, F., 1967. Insecticidal degradation of *Pseudomonas melophthora*, the bacterial symbiote of the Apple Maggot. J. Econ. Entomol. 60(4): 918-920.
- BROOKS, M.A. & RICHARDS, A.G., 1955. Intracellular symbiosis in cockroaches I. Production of aposymbiotic cockroaches. Biol. Bull. p. 109-122.

- BROOKS, M.A., 1963. Symbiosis and aposymbiosis in arthropods. in Symbiotic Association. THE 30<sup>th</sup> SYMPOSIUM OF THE SOCIETY FOR GENERAL MICROBIOLOGY.
- BURG, R.W.; MILLER, B.M.; BAKER, E.E.; BIRNBAUM, J.; CURRIE, S.A.; HARTMAN, R.; KONG, Y.L.; MONAGHAN, R.L.; OLSON, G.; PUTTER, I.; TUNAC, J.B.; WALLICK, H.; STAPLEY, E.O.; OIWA, R. & OMURA, S., 1979. Avermectins, new family of potent anthelmintic agents: producing organism and fermentation. Antimicrobial Agents and Chemother. 15: 361-367.
- CLAYTON, R.B., 1960. The role of intestinal symbionts in the sterol metabolism of *Blattella germanica* J. Biol. Chem. 235(12): 3421 - 3425.
- COWAN, S.T. & STEEL, K.J., 1970. Manual for the identification of medical bacteria. Cambridge University Press, 217 p.
- CRUICKSHANK, R.; DUGUID, J.P.; MARMION, B.P. & SWAIN, R. H.A., 1975. Medical Microbiology. 12<sup>th</sup> Edition. Vol. II. The practice of Medical Microbiology. Churchill Livingstone Edinghurg. 587 p.
- DADD, R.H., 1973. Insect nutrition: Current developments and metabolic implications. Ann. Rev. Entomol. 18: 381-419.
- DANG, G.K., 1971. On the functions of intracellular symbiontes of *Sitophilus oryzae*. L. Experientia, 27: I. pág. 107.
- DAVIS, G.H.G. & PARK, R.W.A., 1962. A taxonomic study of certain bacteria currently classified as *vibrio* species. J. gen. Microbiol. 27: 101.



- DeBACH, P., 1974. Biological Control by natural enemies. Cambridge. Univ. Press. 323 p.
- DIFCO, 1953. Manual of dehydrated culture media and reagents for microbiological and clinical laboratory procedures. 9<sup>a</sup>. Ed. Detroit, Michigan. 350 p.
- EDWARDS, P.R. & ERVING, W.R., 1962. Identification of *Enterobacteriaceae* Ed.2. Mineapolis: Burfess Publishing Company. 608 p.
- FARM CHEMICALS HANDBOOK, 1981. Pesticide dictionary, Buyer's guide, plant food dictionary, Fertilizer trade names. Meister Publish. Co. Willoughby, Ohio.
- FEHN, L.M. 1980. Influência de fatores metereológicos na flutuação e dinâmica de população de *Anastrepha* spp (Diptera: Tephritidae) na região da Serra do Sudeste do Rio Grande do Sul. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENTOMOLOGIA, 6, Campinas-SP. p. 91-2. /Resumos/.
- FERON, M.; DELANOUE, P. & SORIA, F., 1958. L'élevage massif artificiel de *Ceratitidis capitata* Wied. Entomophaga 3(1): 45-53.
- GALLO, D.; NAKANO, O.; SILVEIRA, S.; CARVALHO, R.P.L.; BATISTA, G.C.; BERTI FILHO, E.; PARRA, J.R.P.; ZUCCHI, R.A. & ALVES, S.B., 1978. Manual de Entomologia Agrícola. Ed. Agr. CERES, São Paulo, 531 p.
- GARCIA, C.R. 1981. Flutuação populacional de *Ceratitidis capitata* (Wied., 1924) (Diptera, Tephrotidae) em culturas de citros e café. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENTOMOLOGIA, 7., Fortaleza, CE. p. 77 /Resumos/.
- GOMES, F.P., 1977. CURSO DE ESTATÍSTICA EXPERIMENTAL. 8<sup>o</sup> ed., Piracicaba, 384 p.
- GORDON, R.E.; HEYNES, W.S. & PANG, C.H.N., 1973. The genus Bacillus. Agr. Handb. n<sup>o</sup> 427. Washington DC: Agr. Res. Ser., US Dept. Agr. 283 p.

- GOUCK, H.K., 1964. Chemosterilization of house flies by treatment in the pupal stage. J.Econ.Entomol. 57(2):239-241.
- GOUCK, H.K. & LABRECQUE, 1964. Chemicals affecting fertility in adult house flies. J.Econ.Entomol. 57(5):663-664.
- HAFEZ, M.; OSMAN, M.F.; EL-ZIADY; S.; EL-MOURSY, A.A. & ERAKEY, A.S., 1969. Studies on control of house flies in Egypt by chemosterilants. J.Econ.Entomol. 62(2); 324-329.
- HAGEN, K.S. & FINNEY, G.J., 1950. A food supplement for effectively increasing of the fecundity of certain tephritid species. J.Econ.Entomol., 43(5): 753.
- HENTSCHKE, R. 1978. Fruticultura de clima Temperado no Brasil, situação e perspectivas. In: ENCONTRO NACIONAL DE FRUTICULTURA DE CLIMA TEMPERADO, Florianópolis, SC /Anais/.
- HENNEBERRY, T.J.; KISHABA, A.N.; IOBAL, M.Z. & KLINGLER, B.B., 1968. Reproduction, longevity and flight of cabbage looper Moths treated topically with Tepa. J. Econ.Entomol. 61(6): 1536-1540.
- HOLT-HARRIS, J.E. & TEAGUE, O. 1916. A new culture medium for the isolation of bacillus Typhosus from stools. J.Infect.Dis. 18: 596-600.
- HOOVER, G.H.S., 1915. Sterilization of *Dacus cucumis* French (Diptera: Tephritidae) by gamma radiation. I. Effect of dose on fertility, survival and competitiveness. J.Aust.Entomol. Soc., 14: 81- 87.
- HOUK, E. & GRIFFITHS, G.W., 1980. Intracellular symbionts of the Homoptera. Ann.Rev.Entomol. 25: 161-187.

- HUEBNER, E. & BAVEY, K.G., 1974. Bacteroids in the ovaries of a tse tse fly. Nature 249: 260-261.
- IKARI, P. & HUGH, R., 1963. *Pseudomonas alcaligenes* Monias (1928). a polar monotrichous dextrose non-oxidizer. Bact. Proc. p. 41.
- JORDAN, A.M. & TREWERN, M.A., 1973. Sublethal effect of sulphaquinoxaline on Tse Tse fly, *Glossina austeni* Newst. Nature, 245-462.
- KATSOYANNOS, B.I., 1982. Captures of *Ceratitidis capitata* and *Dacus dae* flies (Diptera: Tephritidae) by M.C. Phail and Rabell color traps suspended on host and non-host trees in Chios, Grecia. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM OF FRUIT FLIES, OF ECONOMIC IMPORTANCE /Abstracts/ Atenas - Grécia.
- KAPOOR, V.C. & AGARWAL, M.L., 1982. Fruit flies and their natural enemies in India. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM OF FRUIT FLIES OF ECONOMIC IMPORTANCE. /Abstracts/ Atenas - Grécia, p.33 Nov.
- KENNEDY, S.S., 1965. Mechanisms of thos plant selection. Ann. Appl. Biol. 56:317-322.
- KILBY, B.A., 1963. Biochemistry of the insect fat body. Advances in insect physiology I. Acad. Press. p. 145.
- KING, E.O., WARE, M.K. & RONEY, D.E., 1954. Two simple media for the demonstration of piocyanin and fluorscein. J. Lib. Clin. Med. 44: 301.
- KNIPLING, E.F., 1955. Possibilities of insect control or erradication through the use of sexually sterile males. J. Econ. Entomol. 48: 459-462.
- KNIPLING, E.F., 1959, Sterile- Male method of population control. Science 130(3380): 902-904.

- KNIPLING, E.F., 1968. The potential role of sterility for pest control. In La Breque, G.C. and Smith, C.N. eds., Principles of insect Chemosterilization, pp. 7-39. Appleton-Century-Crofts, New York.
- KNIPLING, E.F. 1979. Why insects must be controlled. In: THE BASIC PRINCIPLES OF INSECT POPULATION SUPPRESSION AND MANAGEMENT. USDA Agriculture Handbook n<sup>o</sup> 512, Washington, D.C. 652 p.
- KOCH, A., 1960. Intracellular symbiosis in insects. Ann. Rev. Microbiol. 14: 121-140.
- KOWFFMANN, F., 1954. Enterobacteriaceae. ed. 2. Copenhagen: Egnar Munksgaard. 380 p.
- KRIJGSMAN, B.J.; KRIJGSMAN, B.J. & KRIJGSMAN - BERGER, N.E., 1951. Physiological investigations into the heart functions of arthropods. Bull. Entomol. Res. 42: 143-155.
- KUNZ, S.E.; HARRIS, R.L.; HOGAN, B.J. & WRIGHT, J.E., 1976. Inhibition of development in a field population of Horn Flies (Dip. Muscidae) treated with Difluobenzuron. J. Econ. Entomol. 70(3): 298-300.
- La BREQUE, G.C.; SMITH, C.N. & MEIFERT, D.W. 1962. A field experiment in the control of house flies with chemosterilant baits. Jour. Econ. Entomol. 55(4): 449-451.
- La CHANCE, L.E.; NORTH, D.T. & KLASSEN, W., 1968. Cytogenetic and Cellular basis of chemically induced sterility in insects. In: La BREQUE, G.C. e SMITH, C.N. eds. Principles of insects chemosterilization, pp. 99-157, illus., Appleton - Century - Crofts, New York.
- LOGREN, C.S. & WILLIAMS, D.F., 1981. Avermectin B1a, a highly potent inhibitor of reproduction by Queens of the Red Imported Fire Ant. (in press). J. Econ. entomol.

- LORIAN, V., 1977. A five-hour Disc Antibiotic Susceptibility Test. In Lorian, V. Significance of Microbiology in the cave of patients. Baltimore. The Willians & Wilkins Co., 1977. p. 203-212.
- MANSOUR, K., 1934. On the intracellular microorganisms of some Bostrychid. Quart. J. Micr. Sci. 77: 243.
- MCGREGOR, H.E. & KRAMER, K.J., 1976. Activity of Dimilin (TH -6040) against coleoptera in stored wheat and corn. J. Econ. Entomol. 69: 479- 480.
- McLAUGHLIN, R.E., 1976. Response of boll weevil to TH - 6040 administered by feeding. J. Econ. Entomol. 69: 317-318.
- MASON, H.C.; HENNEBERRY, T.J.; SMITH, F.F. & MCGOVERN W.L., 1968. Supression of *Drosophila melanogaster* in tomato field plots by the release of flies sterilized by apholate. J. Econ. Entomol. 61(1): 166-170.
- MAZOMENOS, B.E. & POMONIS, J.G., 1982. Male olive fruit fly pheromone: isolation, identification and lab bioassays in INTERNATIONAL SYMPOSIUM OF FRUIT FLIES OF ECONOMIC IMPORTANCE [Abstracts] Atenas - Grécia, Nov. p. 32.
- MERCK & Co. N.J. EMPLOYEES, 1982. Ivermectin tested against tropical, Blindness - causing parasite. The Daily. August. 2. New Jersey. USA.
- MERCK SHARP & D.R. Laboratories, 1981. MK-936, Experimental miticide/insecticide. Technical Data Sheet August, 1981. New Jersey.

- MILLER, T.W.; CHAIET, L.; COLE, D.J.; COLE, L.J.; FLOR, J.E.; GOEGELMAN, R.T.; GULLO, V.P.; JOSHUA, H.; KEMPF, A. J.; KRELLWITZ, W.R.; MONAGHAN, R.L.; ORMOND, R.E.; WILSON, K. E.; ALBERS-SCHÖNBERG, G. & PUTTER, I., 1979. Avermectins, new family of potent anthelmintic agents: isolation and chromatographic properties. Antimicrobial Agents and Chemother. 15: 368-371.
- MITCHELL, S.; TANAKA, N. & STEINER, F.L., 1965. Methods of mass culturing of melon flies, oriental and mediterranean fruit flies. U.S. Dept. of Agric. A.R.S. 33-104: 1-22.
- MOORE, I., 1960. A contribution to the ecology of olive fruit fly, *Dacus oleae*. Israel Min. Agr. Res. Sta. Special Bull., 26: 53 pp.
- MOORE, R.F. & TAFT, H.M., 1975. Boll weevils: chemosterilization of both sexes with busulfan plus Thompson-Hayward TH-6040. J. Econ. Entomol. 68: 96-98.
- MOORE, R.F.; LEOPOLD, R.A. & TAFT, H.M., 1978. Boll Weevils: Mechanism of transfer of Difluobenzuron from male to female. J. Econ. Entomol. 71(4): 587-590.
- NADEL, D.J., 1965. Rearing of mediterranean fruit flies and related species. In: Advances in insect population control by sterile male techniques. Intern. Atomic Energy Agency. Viena. Tec. Dep. Series 44: 14-20.
- NADEL, D.J. & GUERRIERI, G., 1969. Experiments on Mediterranean fruit fly control with the sterile-male technique. pp. 97-105. In Sterile-male Technique for Eradication or Control of Harmful Insects. (Proc. Panel Vienn., 1969) International Energy Agency, Vienna.

- NAKANO, O.; SILVEIRA NETO, S. & ZUCCHI, R.A., 1981. Entomologia Econômica, São Paulo 314 p.
- NASCA, A.J.; TERÁN, A.L.; FERNANDEZ, R.V. & PASQUALINI, A.J., 1981. Animales perjudiciales y benéficos a los cítricos en el noroeste argentino. CIRPON. Publinter S.A.
- NGUYEN, R.U.; WHITCOMB, W.H.; MURPHEY, M. & CARLYSLE, T.C. , 1975. Biology of *Chrysopa lanata* (Neuroptera:Chrysopidae) Ann. Ent. Soc. Amer. 68(2): 187-190.
- NOGGE, G., 1976. Sterility in Tse Tse flies (*Glossina morsitans* w.) caused by loss of symbionts. Experientia. 32-11 - 995-996.
- OTTENS, R.J. & TODD, J.W., 1979. Effect of Difluobenzuron on reproduction and development of *Graphognathus peregrinus* and *G. leucoema*. J. Econ. Entomol. 72(5): 743-746.
- PANT, N.C. & DANG, K., 1972 Physiology and elimination of intracellular symbiontes in some stored products beetles. In: Insect and mite nutrition. N. Holland, Amsterdam p. 311-322.
- PARRA J.R.P.; ZUCCHI, R.A. & SILVEIRA NETO, S., 1982. Flutuação populacional e atividade diária de vôo da mosca -do Mediterrâneo em cafeeiros "Mundo Novo". Pesq. Agropec. bras., Brasília, 17(7): 985-992
- PAVAN, O.H O., 1978. Estudos populacionais de moscas-das frutas (Diptera Tephritidae e Lonchaeidae). São Paulo Instituto de Biociências USP, 99 p. Tese Doutorado.

- PEDROSO, A.S., 1972. Dados bionômicos da *Ceratitís capitata* (Wied, 1824) (Diptera:Tephritidae) obtidas em laboratório em regime de dieta artificial. Piracicaba, ESALQ-USP. (Tese Doutorado). 127 p.
- PÉREZ, C. A.; NAKANO, O.; ZUCCHI, R.A.; AMORIN NETO, L.A. 1980. Estudo da flutuação e controle das moscas das frutas em pomar de ameixa (Prunus persica var. nucipersica) com o piretróide Decamethrin em pulverização. In CONGRESSO BRASILEIRO DE ENTOMOLOGIA, 6, Campinas, SP, p. 94 /Resumos/.
- PICKENS, L.G. & De MILLO, A.B., 1977. Face fly (Dip. Muscidae) inhibition of hatch by Difluobenzuron and related analogues. J.Econ. Entomol. 70(5): 595-597.
- PICKETT, M.J. & NELSON, E.L., 1955. Speciation within the genus *Brucella*. IV. Fermentation of carbohydrates. J.Bact. 69:333.
- PRESCOTT, S.C. & DUNN, C.G. Sem Data. Microbiologia Industrial. Edições Aguilar. Madrid. 641 p.
- PRÉVOT, A.R., 1961. Traité de Systématique Bactérienne, vol. 2. Paris: Dunod.
- PROGNÓSTICO . 1982/83, Governo do Estado de São Paulo, Secretaria da Agricultura, Instituto de Economia Agrícola, São Paulo. vol. VII 255 p.
- PUTTER, I.; McCONNELL, J.G.; PREISER, F.A.; HAIDRI, A.A.; RISTICH, S.S.; & DYBAS, R.A. 1981 Avermectins: novel insecticides, acaricides and nematocides from a soil microorganism. Experientia 37: 963-4.
- PUZZI, D. & ORLANDO, A. 1965. Estudos sobre a ecologia das moscas das frutas (Tripetidae) no Estado de São Paulo, visando o controle racional da praga. O Biológico. 32 (1): 9-22.



- REMUND, U. & BOLLER, E.G., 1982. Visual traps for biotechnical control and forecasting of the european cherry fruit fly, *Rhagoletis cerasi* L. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM OF FRUIT FLIES OF ECONOMIC IMPORTANCE /Abstracts/ Atenas - Grecia.
- RICHARDS, A.G. & BROOKS, M., 1958. Internal Symbiosis in Insects. Ann. Rev. Entomol. 3 37-56.
- ROUBAUD, E., 1919. Les particularités de la nutrition et la vie symbiotique chez les mauches tsé tsé. Ann. L'Institut Pasteur. 8: 489- 536.
- SALGADO, L.O., 1979. Efeito biológico do oxiclóreto de cobre sobre *Ceratitís capitata* (Wiedemann, 1824) (Diptera, Tephritidae) em dieta artificial. Piracicaba, SP. ESALQ-USP, 116 p. Tese Doutorado.
- SIVAPALAN, P. & GNAPRAGASAM, N.C., 1980. Influence of copper on the development and adult emergence of *Homona coffearia* (Lepidoptera: Tortricidae) reared in vitro. Ent. exp. et appl. 28: 59-63.
- TAFT, H.M. & HOPKINS, A.S., 1975. Boll weevils (Col. Curculionidae) field population controlled by sterilizing emergin overwintered females with a TH - 6040 Sprayable bait. J. Econ. Entomol. 68(4): 551- 554.
- THOMAS, A.H., 1965. Scientific apparatus and reagents. 65<sup>a</sup> edição. Philadelphia, P.A., USA 1088 p.
- TOBE, S.S. & LANGLEY, P.A., 1978. Reproductive physiology of *Glossina*. Ann. Rev. Entomol. 23: 283- 307.
- TUGWELL, P. ; BURNS, E.C. & WITHERSPOON, B., 1966. Notes on the flight behavior of the horn fly, *Haematobia irritans* (L.) (Diptera: Muscidae) J- Kans. Entomol. Soc. 39: 561-565.

WHIGHT, J.E. & SPATES, G., 1976. Reproductive inhibition activity of the insect regulator TH. 6040 against the *Stable fly* (Dip. Muscidae) and the House Fly (Dip. Muscidae) effects on hatchability. J. Econ. Entomol. 69 (3):365-367.

ZINNEMANN, K., 1960. *Haemophilus influenzae* and its pathogenicity. Ergenn. Mikrobiol. 33: 307.

7. APÉNDICE

APÊNDICE 1

TRIAGEM PARA DIAGNÓSTICO DE MICRORGANISMOS

1.1. Triagem para Diagnóstico de microrganismos gram-positivos

*Micrococcus*: Cocos Gram-positivos dispersos ou agrupados. Tipicamente imóveis e não esporulados. Aeróbios facultativo, oxidativo, forma ácido apenas em condições aeróbias. Saprófitas de vida livre, ocasionalmente patogênicos. (CRUICKSHANK et alii, 1975).

*Staphylococcus*: Cocos Gram-positivos dispersos ou agrupados, nos saprófitas variam em tamanho. Imóvel, não esporulado, aeróbio, facultativo, catalase positiva e ataca os açúcares por fermentação. (BERGEY, 1957).

*Aerococcus*: Cocos Gram-positivos dispersos aos pares ou pequenos grupos. Imóvel, não esporulado. Anaeróbios facultativo. Catalase variável, positiva ou negativa. Ataca açúcares por fermentação (COWAN e STEEL, 1970).

*Streptococcus*: Cocos Gram-positivos dispostos aos pares ou em cadeia com mais elementos. Não esporulados. Anaeróbios facultativos, catalase negativa, ataca açúcares por fermentação.

*Listeria*: Cocos Gram-positivos, móveis, não esporulados, não álcool-ácido resistentes. Catalase positiva. Aeróbico. Ataca carboidratos por fermentação. (COWAN e STEEL, 1970).

*Corynebacterium*: Bacilos Gram-positivos. Tipicamente imóveis. Móveis quando potogênicos para certas plantas. Não esporulam, não álcool-ácido resistentes. Catalase positiva. Aeróbios ou anaeróbios facultativos. Atacam carboidratos por fermentação. (COWAN e STEEL, 1970).

*Kurtia*: Bacilo Gram-positivo, móvel; não esporulado, não álcool-ácido resistente. Catalase positiva. Anaeróbio facultativo. Não ataca açúcares. (COWAN e STEEL, 1970).

*ERYSIPELOTHRIX*: Bacilo Gram-positivo, imóvel; não esporulado, não álcool-ácido resistente. Catalase negativa. Anaeróbio facultativo. Ataca açúcares por fermentação. (COWAN e STEEL, 1970).

*Lactobacillus*: Bacilos Gram-positivos; podem também se apresentar como Gram-labil; imóveis não esporulados; não álcool-ácido resistentes, anaeróbios e aeróbio facultativo, catalase negativa. pH ótimo = 6. Ataca açúcar por fermentação (BERGEY'S 1957)

*Actinomyces*: Bacilo Gram-positivo, imóvel; não esporula - dos; não álcool-ácido resistente. Micro aerófilo. Catalase negativa. Ataca açúcares por fermentação. (COWAN e STEEL, 1970).

*Bacillus*: Bacilos tipicamente Gram-positivos em culturas jovens; móveis ou não; não álcool-ácido resistentes. Produz esporos e são normalmente resistentes ao calor. Catalase positiva. Aeróbios, anaeróbios facultativos em algumas espécies. Variação quanto à forma de ataque dos açúcares, podendo inclusive não atacar.

*Clostridium*: Bacilos Gram-positivos na forma negativa; geralmente móveis. Não álcool-ácido resistentes. Esporos geralmente resistentes ao calor. Catalase negativa. Anaeróbios. Algumas espécies microaerófilas. Muitas espécies atacam carboidratos por fermentação.

*Mycobacterium*: Bacilos Gram-positivos. Imóveis. Tipicamente álcool-ácido resistentes. Não esporulam. Aeróbios. Atacam açúcares por oxidação.

*Nocardia*: Bacilos Gram-positivos. Imóveis. Podem ser levemente álcool-ácido resistentes. Aeróbias. Atacam açúcares por oxidação.

1.2. Triagem para Diagnóstico de Microrganismos  
Gram-Negativos

*Neisseria* (1): Diplococos Gram-negativos; Catalase positiva, oxidase positiva; Aeróbio; atacam ou não os carboidratos por oxidação. As várias sub-espécies são referidas e descritas na monografia segundo BERGER (1963).

*Gemella* (2): Pertence ao gênero do grupo *neisseria* e são cocos Gram-negativos; anaeróbio facultativos: catalase negativa; oxidase negativa; ataca açúcares por fermentação (BERGER, 1961).

*Actinobacillus* (4-5-6): Bacilo Gram-negativo; imóveis; anaeróbios facultativos: catalase positiva ou negativa; ataca os carboidratos com ou sem produção de gás.



*Pasteurella* (3-4-6): Constitue um grupo heterogêneo; bacilos Gram-negativos; móveis ou imóveis. Catalase positiva; oxidase negativa. Aeróbio facultativo; fermenta os carboidratos com ou sem gás; não utiliza a sacarose; prolifera em ágar Mac Conkey. Como exceção a *Pasteurella* do grupo Multocida fermenta a sacarose com produção de gás; não prolifera no ágar Mac Conkey.

*Aeromonas* (6-7): Bacilo Gram-negativo; geralmente imóvel; catalase positiva; oxidase positiva; anaeróbio facultativo; ataca os carboidratos por fermentação com ou sem gás. Usualmente hidrolisa a arginina. As *Aeromonas* proliferam a 25-30°C como temperatura limite ótimo.

*Vibrio* (7): Há biotipos bem distinguíveis sorologicamente; constituído por bacilo Gram-negativo; móvel; catalase positiva; oxidase positiva. Aeróbio anaeróbio facultativo. Utiliza os carboidratos por fermentação sem produção de gás. Não hidrolisa a arginina.

*Pseudomonas* (8): Representa um grupo importante incluindo variedades da espécie patogênica para os animais, plantas e insetos. São bacilos Gram-negativos não esporulados; móveis; atacam vários

carboidratos sem produção de gás; produzem pigmentos azul, verde e amarelo, difusível nos meios A e B de KING (1954).

*Chromobacterium* (9): Apresenta sérios problemas na sistemática e conseqüentemente acarreta dificuldades para o diagnóstico dos cromogênicos. Conforme o meio de cultura utilizados estes microrganismos podem produzir pigmentos coloridos em azul, violeta e preto. Noutros gêneros exs. *Serratia*, vermelho; *Flavobacterium*, *Enterobacter* e *Pseudomonas*, amarelo, verde e azul. *Violaceum*, sub-grupo; anaeróbio facultativo; mesofílico.

*Flavobacterium* (10): Bacilo Gram-negativo; imóvel. Catalase positiva; oxidase positiva; aeróbio. Colônias dotadas do pigmento amarelo. Os carboidratos, são atacados por oxidação; urease positiva. Incluem 7 (sete) espécies no gênero (Prevot, 1961).

*Acinetobacter* (11-12): Bacilo Gram-negativo; imóvel, aeróbio. Catalase-positiva; oxidase negativa. Ataca ou não os carboidratos por oxidação. Não produzem pigmentos.

*Brucella* (12-13): Constitue um grupo de microrganismos dotados de características sui-generis, que o torna bem distinguível entre outras espécies. Exis

tem 3 (três) espécies: *Abortus*, *Suir* e *Metileusia* e há outras novas espécies que também não manifestam, aparentemente, fermentação dos carboidratos. São aminolíticas e fermentadoras de certos carboidratos quando empregadas técnicas com meios especiais isentos de peptonas. (FICHETT & NELSON, 1955).

São bacilos imóveis, por vezes cocobacilos Gram negativos; carboxifílicos; catalase positiva; produzem, ocultamente, ácidos a partir dos carboidratos nos meios de fermentação contendo peptonas e poliptídeos.

*Moraxella* (13): Bacilo Gram-negativo; imóvel. aeróbio. Catalase positiva; oxidase positiva. Não ataca carboidratos. Prolifera bem nos meios adequados contendo soro ou sangue.

*Alcaligenes* (14): Bacilo Gram-negativo, não produz ácido a partir de carboidratos; constitui dois sub-grupos distintos: a) *B. faecalis alcaligenes*, morfologicamente são bacilos curtos, imóveis ou móveis peritriguios. b) *B. vibrio alcaligenes* dotado de filamentos bacilares, ativamente móveis com flagelo polar. Neste segundo sub-grupo há uma nova possibilidade para ser classificado como *Pseudomonas alcaligenes*, (IKARI & HUGH, 1963), ou ainda, com a designação de *Comamonas percolans* (DAVIS & PARK, 1962). São ba-

cilos Gram-negativos. Móveis, aeróbios; Catalase positiva; oxidase positiva; não produzem ácido nos meios de cultura contendo peptonas e carboidratos.

*Bordetella* (15): Está restringindo a uma única espécie: *Bacillus pertussis* produtor da tosse comprida. Exigem condições especiais de cultura, onde o meio deve conter os fatores V e X, tanto para o isolamento como para a manutenção do microrganismo. Vegeta bem no meio de cultura Bordet e Gengou. Não indica ataque dos carboidratos em meios de cultura contendo peptonas e poliptídeos.

*Haemophilus* (15) Exigem os fatores X (Haemina ou hematina) e V (Coenzima I; diphosphopiridina nucleotídeo). São referidos como agentes patogênicos por ZIMMERNANN (1960).

São bacilos Gram-negativos; imóveis; aeróbios facultativos. Não proliferam nos meios de cultura sem os fatores V e X.

*Bacteroides* (16): São bacilos Gram-negativos; geralmente anaeróbios, não esporulados, e apresentam caracteres que os identificam em 4 (quatro) espécies DACK (1940); BEERNNS (1953/54); SMITH (1955);

RENTSCH (1963). Segundo outros autores dentre as várias amostras, são contraditórias as especificações de classificação.

Bactérias Diversas: Consultar Manual BERGEY (1957) sobre *Mimeae*; *Acholeplasma*; *Mycoplasma* e outros microrganismos que podem ser isolados de insetos.

APÊNDICE 2

MEIOS DE CULTURA EMPREGADOS, FÓRMULAS E PREPARAÇÃO

## 2.1. Ágar sangue (BIER, 1975)

(fórmula para 100 ml, V/V)

Ágar simples, estéril ..... 90 ml

Sangue desfibrinado (estéril) de

carneiro ..... 10 ml

Fundir o ágar simples, resfriar a 45-50°C e  
adicionar o sangue com assepsia. Misturar bem e distribuir.

## 2.2. Ágar simples (BIER, 1975)

(fórmula para 100 ml, P/V)

Extrato de carne ..... 0,3 g

Peptona ..... 1 g

Cloreto de sódio ..... 0,5 g

Ágar ..... 2 g

Água destilada q.s. .... 100 ml

Dissolver a quente todos os ingredientes, exceto  
to o ágar. Ajustar o pH a 7,4 - 7,6, incorporar o ágar e fun-  
dir em autoclave a 110°C durante 30 minutos. Reajustar o pH,  
se necessário. Distribuir e esterilizar.

2.3. Caldo Sabouraud dextrose (GORDON et alii, 1973)

(fórmula para 100 ml, P/V)

Neopeptona ..... 1 g

Dextrose ..... 2 g

Extrato de levedo (DIFCO) ..... 1,5 g

Água destilada q.s. .... 100 ml

pH 5.5

Dissolver os componentes, distribuir e esterilizar na autoclave bacteriológica a 120°C - 15 minutos.

2.4. Ágar Eosina Azul de Metileno (HHT) (BIER, 1981)

Ágar simples (de extrato de carne)

pH 7,5, estéril.....	100 ml
Lactose (sol. estéril a 10%).....	10 ml
Sol. aq. eosina 2%.....	2 ml
Sol. aq. azul-de-metileno 0 5 %.....	2 ml

Fundir o ágar, em banho-maria ou vapor fluente, adicionar os ingredientes na ordem indicada. Ferver em banho-maria durante 10 minutos. Distribuir 20 ml em cada placa de Petri previamente esterilizada no forno de Pasteur durante 2 h a 180°C.



**APÊNDICE 3**

QUADROS REFERENTES AO REGISTRO DIÁRIO DE POSTURA DE  
*C. capitata* ALIMENTADAS COM DIETA ARTIFICIAL CONTENDO SUBS-  
TÂNCIAS ESTERILIZANTES EM VÁRIAS DOSAGENS, PORCENTAGEM  
DE ECLOSÃO, TOTAL DE OVOS E DE LARVAS  
ECLODIDAS E MORTALIDADE ACU-  
MULADA DE ADULTOS TRATADOS

Quadro I. Postura diária de 5 fêmeas de *C. capitata* alimentadas com dieta artificial contendo substâncias esterilizantes em várias dosagens, porcentagem de eclosão e total de ovos e de larvas eclodidas. T = 24 ± 29C e U.R. = 70 ± 5%. ESALQ/Piracicaba-SP, dezembro de 1981.

Tratamento /dosagem (ppm)	DATA DA POSTURA												NP total de ovos no período eclodidos
	27/12/81		28/12/81		29/12/81		30/12/81		31/12/81		NP total de larvas eclodidas		
	NP total de ovos	% eclo são	NP total de ovos	% eclo são	NP total de ovos	% eclo são	NP total de ovos	% eclo são	NP total de ovos	% eclo são			
1. Testemunha	201	60	187	76	189	89	188	59	216	95	981	746	
2. Diflubenzuron 9	216	51	201	71	171	78	194	60	201	78	983	658	
3. Diflubenzuron 14	197	59	179	68	168	87	179	51	197	84	920	640	
4. Diflubenzuron 16	228	59	160	72	201	66	190	49	184	87	963	963	
5. Oxido cuproso 0,06%	218	61	190	91	172	76	201	63	199	87	980	717	
6. Oxido cuproso 0,10%	221	63	187	73	170	80	190	59	189	83	957	680	
7. Methoprene 45	91	0	79	0	64	0	60	0	58	18	352	10,4	
8. Methoprene 70	77	0	77	0	60	0	55	0	57	12	326	6,8	



Quadro III. Total de larvas de *C. capitata*, procedentes de ovos de adultos alimentados com dieta contendo substâncias esterilizantes, transformadas em adultos e porcentagem de adultos obtidos. T = 24 ± 2°C e U.R. = 70 ± 5%. ESALQ, Piracicaba-SP, dezembro de 1981.

Tratamentos/Dosagens (ppm)	Total de larvas transformadas em pupas	Total de pupas transformadas em adultos	% adultos obtidos a partir de F <sub>1</sub>
1. Testemunha	524,30	504,60	51,43
2. Diflubenzuron 9ppm	450,90	417,80	42,50
3. Diflubenzuron 14 ppm	429,60	387,80	42,15
4. Diflubenzuron 18 ppm	409,90	372,40	38,67
5. Óxido cuproso 0,06%	534,90	489,80	49,97
6. Óxido cuproso 0,1%	447,71	398,90	41,68
7. Methoprene 45 ppm	18,11	7,06	2,00
8. Methoprene 70 ppm	4,90	3,09	0,94

Quadro IV. Postura diária de 5 fêmeas de *C. capitata* alimentadas com dieta artificial contendo substâncias esterilizantes em várias dosagens, porcentagem de eclosão e total de ovos e de larvas eclodidas. T =  $24 \pm 2\text{°C}$  e R.U. =  $70 \pm 5\%$ . ESALQ, Piracicaba-SP, fevereiro de 1981.

Tratamento / dosagem (mgm)	DATA DE POSTURA												Total de ovos coloados no período	Total de larvas eclodidas		
	13/02/82		18/02/82		20/02/82		21-22/02/82		23-24/02/82		25-26/02/82				27-28/02/82	
	Nº Total de ovos	% eclosão	Nº Total de ovos	% eclosão	Nº Total de ovos	% eclosão	Nº Total de ovos	% eclosão	Nº Total de ovos	% eclosão	Nº Total de ovos	% eclosão			Nº Total de ovos	% eclosão
1. Testemunha	195	64	227	84	182	57	359	99	309	97	108	97	198	47	963	775
2. Diflubenzuron 25	197	45	205	71	231	44	376	96	185	90	45	38	163	38	1009	696
3. Diflubenzuron 30	205	61	158	63	251	39	378	70	211	76	166	71	248	41	992	586
4. Diflubenzuron 45	198	54	130	85	163	30	400	92	187	90	150	78	266	42	891	734
5. Diflubenzuron 60	343	42	160	49	365	40	411	89	272	90	145	71	195	39	1279	734
6. PH-6044 25	299	9	202	73	313	30	371	85	265	78	147	80	179	39	1185	583
7. Óxido cuproso 0,10%	210	64	289	76	316	37	280	80	402	85	120	93	276	54	1095	694
8. Óxido cuproso 0,15%	117	67	208	85	311	23	385	97	232	90	175	93	262	69	1021	699
9. Methoprene	255	57	133	82	195	41	368	75	251	77	105	88	173	41	951	610

Quadro V. Porcentagem de larvas de *C. capitata* procedentes de ovos de adultos alimentados com dieta contendo substâncias esterilizantes, transformadas em pupas e de pupas transformadas em adultos. T = 24±2°C e U.R. = 70±5%. ESALQ Piracicaba-SP, fevereiro de 1982.

Tratamento/dosagens (ppm)	F2 proveniente de postura do dia							
	17/02/82		18/02/82		20/02/82		21/22/02/82	
	% transf. em pupa	em adulto	% transf. em pupa	em adulto	% transf. em pupa	em adulto	% transf. em pupa	em adulto
1. Testemunha	50	100	64	100	21	100	86	96
2. Diflubenzuron 25	42	100	80	98	56	100	74	91
3. Diflubenzuron 30	21	92	54	94	74	100	42	74
4. Diflubenzuron 45	33	100	82	97	90	96	78	100
5. Diflubenzuron 60	62	100	18	89	38	93	83	98
6. PH 60-44	0	0	42	100	86	100	48	88
7. Óxido cuproso 0,10%	73	98	74	100	100	94	96	96
8. Óxido cuproso 0,15%	75	98	36	100	100	96	83	66
9. Methoprene 25	28	94	61	100	97	100	86	98

Quadro VI. Total de larvas de *C. capitata*, procedentes de ovos de adultos alimentados com dieta contendo substâncias esterilizantes, transformadas em adultos e porcentagem de adultos obtidos: T =  $24 \pm 29C$  e U.R. =  $70 \pm 5\%$ . ESAIQ, Piracicaba-SP, fevereiro de 1982.

Tratamentos/Dosagens	Total de larvas transformadas em pupas	Total de pupas transformadas em adultos	% descendentes (F <sub>2</sub> ) obtidos partir de F <sub>1</sub>
1. Testemunha	512,0	499,0	51,8
2. Diflubenzuron 25ppm	477,0	451,0	44,7
3. Diflubenzuron 30 ppm	263,0	229,2	23,10
4. Diflubenzuron 45 ppm	403,4	400,4	44,90
5. Diflubenzuron 60 ppm	462,5	450,4	35,2
6. PH 60-44 25 ppm	293,9	275,8	23,27
7. Óxido cuproso 0,10%	592,2	574,5	52,46
8. Óxido cuproso 0,15%	503,8	394,3	38,6
9. Methoprene 25 ppm	422,1	414,8	43,61

Quadro VII. Porcentagem de eclosão de larvas de *C. capitata* procedentes de fêmeas x machos alimentados com dieta contendo esterilizantes. T = 24 ± 2°C e U.R. = 70 ± 5%. ESALQ, Piracicaba-SP, abril e maio de 1982.

Tratamentos/dosagens	% eclosão			
	27/04/82	29/04/82	02/05/82	04/05/82
1. Testemunha	88	91	89	68
2. Diflubenzuron 70ppm	87	89	90	56
3. Diflubenzuron 80ppm	78	83	85	61
4. Diflubenzuron 100ppm	75	77	79	64
5. Diflubenzuron 120ppm	75	80	82	59
6. PH 60-44 45 ppm	31	86	78	66
7. Oxicloreto de Cu 1%	0	0	0	0
8. Oxicloreto de Cu 0,5%	0	0	0	0
9. Methoprene 35 ppm	78	84	86	66
10. Avermectin 25 ppm	0	0	0	0



Quadro VIII. Porcentagem de eclosão de larvas de *C. capitata*, procedentes de fêmeas machos alimentados com dieta contendo esterilizantes. T = 24±2°C e U.R. = 70±5%. ESALQ, Piracicaba-SP, maio de 1982.

Tratamentos/dosagens (ppm)	% eclosão			
	18/05/82	20/05/82	22/05/82	24/05/82
1. Testemunha	90	76	68	57
2. Diflubenzuron 300	86	71	69	52
3. Diflubenzuron 500	80	72	61	50
4. Diflubenzuron 800	80	67	61	51
5. Diflubenzuron 1000	70	65	68	50
6. Diflubenzuron 1500	72	68	59	48
7. Diflubenzuron 2000	71	63	40	34
8. OH 60-44 500	81	50	40	35
9. Avermectin 30	77	65	31	21

Quadro IX. Porcentagem de eclosão de larvas de *C. capitata* procedentes de fêmeas x machos alimentados com dieta contendo esterilizantes. T = 24±2°C e U.R. = 70±5%. Piracicaba-SP, maio e junho de 1982.

Tratamentos/dosagens (ppm)	% eclosão			
	29/05/82	31/05/82	02/06/82	04/06/82
1. Testemunha	81	90	78	63
2. Diflubenzuron 300	75	92	78	58
3. Diflubenzuron 500	62	68	66	58
4. Diflubenzuron 800	65	74	67	49
5. Diflubenzuron 1000	72	72	66	47
6. Diflubenzuron 1500	56	54	42	38
7. Diflubenzuron 2000	42	51	36	33
8. PH 60-44 500	68	76	58	42
9. Avermectin 30	20	24	60	68

Quadro X. Porcentagem de eclosão de larvas de *C. capitata* procedentes de fêmeas x machos alimentados com dieta contendo esterilizantes. T = 24 ± 2°C e U.R. = 70 ± 5%. ESALQ, Piracicaba-SP, novembro e dezembro de 1982.

Tratamentos	Dosagem (ppm)	PORCENTAGEM DE ECLOSÃO											
		21/11	25/11	01/12	04/12	09/12	14/12	18/12	23/12	26/12			
1. Testemunha	-	100	86	86	100	90	85	90	95	89			
2. Oxicloreto de cobre	0,10%	52,63 <sup>a</sup>	0	0	0	0	0	45,23	59,52	30,2			
3. Oxicloreto de cobre	0,12%	100	66,6	40	0	0	0	62,5	58,5	31,3			
4. Methoprene	40	57	64	52,86	100	90	60	39,02	36,1	29,8			
5. Methoprene	45	0 <sup>b</sup>	56	67,08	100	80	65	33,33	32,2	28,8			
6. Avermectin	35	0	0	0	0	0	0	0	0	0			
7. Avermectin	40	0	0	0	0	0	0	0	0	0			
8. Avermectin	45	0	0	0	0	0	0	0	0	0			

a - Porcentagem apresentando números decimais são decorrentes da utilização de menos do que 100 ovos para avaliação da eclosão.

b - Tratamento sem postura.

Quadro XI. Porcentagem de mortalidade acumulada de fêmeas (♀) e machos (♂), alimentados com dieta contendo substâncias esterilizantes, durante 30 dias de observação. T =  $24 \pm 2^{\circ}\text{C}$  e U.R. =  $70 \pm 5\%$ . ESALQ, Piracicaba-SP, novembro de 1982.

Tratamentos/dosagens (ppm)	Porcentagem mortalidade/Depois-tratamento																	
	3 dias	6 dias	9 dias	12 dias	15 dias	18 dias	21 dias	24 dias	27 dias	30 dias	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂
1. Testemunha	0	0	0	0	10	0	20	0	30	0	40	0	50	0	60	10	60	
2. Oxicloreto de cobre 0,10%	10	10	10	10	30	10	90	30	100	40	100	40	100	40	100	50	100	
3. Oxicloreto de cobre 0,12%	0	0	0	0	20	70	30	90	40	100	50	100	50	100	50	100		
4. Methoprene 40	0	0	0	0	0	0	0	20	0	20	30	20	30	20	60	20	90	
5. Methoprene 45	0	0	0	0	0	0	0	20	0	20	10	30	10	70	10	80	30	
6. Avermectin 35	0	10	10	10	10	20	30	30	40	30	40	30	40	30	60	30	60	
7. Avermectin 40	0	0	0	10	10	10	20	20	30	20	30	30	50	30	70	30	80	
8. Avermectin 45	10	0	20	50	20	50	30	70	40	70	40	80	60	100	60	100	60	

Quadro XII. Porcentagem de eclosão de larvas de *C. capitata* procedentes de fêmeas alimentadas com dieta contendo esterilizantes x machos alimentados com dieta normal. T = 24 ± 2°C e U.R. = 70 ± 5%. ESALQ, Piracicaba-SP, janeiro de 1983.

Tratamento	Dosagem (ppm)	PORCENTAGEM DE ECLOSÃO							
		21/12	24/12	29/12	02/01	06/01	11/01	16/91	21/01
1. Testemunha	-	89	90	86	82	76	68	73	68
2. Oxicloreto de cobre	0,10%	25	0	0	0	0	0	0	39
3. Oxicloreto de cobre	0,12%	0a	0	0	0	0	0	0	20
4. Avermectin	31	0	0	0	0	0	0	0	0
5. Avermectin	33	0	0	0	0	0	0	0	0
6. Avermectin	35	0	0	0	0	0	0	0	0
7. Avermectin	37	0	0	0	0	0	0	0	0

a - Tratamento sem postura

Quadro XIII. Porcentagem de mortalidade acumulada de fêmeas (♀) alimentadas com substâncias esterilizantes durante 30 dias de observação. T = 24 ± 2°C e U.R. = 70 ± 5%. ESALQ, Piracicaba-SP, janeiro de 1983.

Tratamentos	Dosagem (ppm)	PORCENTAGEM DE MORTALIDADE (%)											
		3	6	9	12	15	18	21	24	27	30		
1. Testemunha	-	0	0	0	0	10	20	30	30	30	30	30	30
2. Oxicloreto de cobre	0,10%	0	0	0	0	20	30	40	50	50	50	50	50
3. Oxicloreto de cobre	0,12%	0	0	0	10	40	50	50	60	60	60	60	60
4. Avermectin	31	0	0	10	20	20	30	30	30	30	30	30	30
5. Avermectin	33	0	0	10	10	30	40	40	40	40	40	40	40
6. Avermectin	35	0	0	10	20	30	50	50	50	50	50	50	50
7. Avermectin	37	0	0	10	50	50	50	50	60	60	60	60	70

Quadro XIV. Porcentagem de eclosão de larvas de *C. capitata* procedentes de fêmeas (♀) alimentadas com dieta normal x machos (♂) alimentados com substâncias esterilizantes. T = 24 ± 2°C e U.R. = 70 ± 5%. ESALQ, Piracicaba-SP, dezembro de 1982 e janeiro de 1983.

Tratamentos	Dosagem (ppm)	PORCENTAGEM DE ECLOSÃO									
		21/12.	24/12	29/12	02/01	06/01	11/01	16/01	21/01		
1. Testemunha	-	70	73	80	79	76	69,4	72,2	67,3		
2. Oxicloreto de cobre	0,10%	7,4	29,18	57,3	70	66,2	38,9	23,2	18,2		
3. Oxicloreto de cobre	0,12%	9,2	21,34	31,2	38	31,4	26,86	13,2	14,6		
4. Avermectin	31	0	0	0	0	0	0	0	0		
5. Avermectin	33	1,41	0	0	0	0	0	0	0		
6. Avermectin	35	0	0	0	0	0	0	0	0		
7. Avermectin	37	0	0	0	0	0	0	0	0		

Quadro XV. Porcentagem de mortalidade acumulada de fêmeas (♀) alimentadas com dieta normal x machos (♂) alimentados com substâncias esterilizantes. T = 24 ± 2°C e U.R. = 70 ± 5%. ESALQ, Piracicaba-SP, janeiro de 1983.

Tratamentos	Dosagem (ppm)	PORCENTAGEM DE MORTALIDADE											
		3	6	9	12	15	18	21	24	27	30		
1. Testemunha	-	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	10	20
2. Oxicloreto de cobre	0,10%	0	0	0	10	10	10	20	20	20	20	40	40
3. Oxicloreto de cobre	0,12%	0	0	0	0	20	20	50	60	80	80	80	80
4. Avermectin	33	0	0	0	0	0	0	10	10	20	20	60	60
5. Avermectin	33	0	0	0	0	0	0	10	20	30	30	80	80
6. Avermectin	35	0	0	0	0	0	0	10	10	10	10	60	60
7. Avermectin	37	0	0	0	0	0	0	10	20	20	20	80	80



Quadro XVI. Porcentagem de eclosão de larvas de *C. capitata* procedentes de fêmeas (♀) e machos (♂) alimentados com dieta contendo esterilizantes. T =  $24 \pm 2^{\circ}\text{C}$  e U.R. =  $70 \pm 5\%$ . ESALQ, Piracicaba-SP, dezembro de 1982 e janeiro de 1983.

Tratamento	Dosagem (ppm)	PORCENTAGEM DE ECLOSÃO							
		21/12	24/12	29/12	02/01	06/01	11/01	16/01	21/01
1. Testemunha	-	87	69,2	70,5	88	59,6	77,8	65,3	71,3
2. Avermectin	31	0	0	0	0	0	0	0	0
3. Avermectin	33	0	0	0	0	0	0	0	0
4. Avermectin	37	0	0	0	0	0	0	0	0

Quadro XVII. Porcentagem de mortalidade acumulada de fêmeas (♀) e machos (♂) alimentados com dietas contendo esterilizantes. T =  $24 \pm 2\text{°C}$  e U.R. =  $70 \pm 5\%$ . ESALQ, Piracicaba-SP, dezembro de 1982 e janeiro de 1983.

Tratamento/dosagens (ppm)	Porcentagem de mortalidade/Após tratamento																
	3 dias	6 dias	9 dias	12 dias	15 dias	18 dias	21 dias	24 dias	27 dias	30 dias	♀	♂	♀	♂	♀	♂	
1. Testemunha	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2. Avermectin	0	0	0	10	10	10	10	10	20	20	20	20	30	30	30	50	30
3. Avermectin	0	0	10	10	10	10	20	20	20	20	30	20	40	20	60	40	70
4. Avermectin	0	0	10	10	20	10	30	20	30	20	30	60	30	60	30	60	40