



**Larvas de *Bactrocera oleae* (Rossi, 1790) tratadas com o
bioinseticida *Beauveria bassiana*: avaliação do impacto na
predação por *Forficula auricularia* L. (Dermaptera:
Forficulidae)**

José Carlos Bianchini Júnior

*Dissertação apresentada à Escola Superior Agrária de Bragança para obtenção do Grau de
Mestre em Agroecologia no Instituto Politécnico de Bragança*

Orientado por:

Filipe José Nogueira Madeira

José Alberto Cardoso Pereira

**Bragança
2024**

A minha família e amigos, sobretudo à DEUS.

Agradecimentos

Certamente estes parágrafos não irão atender a todas as pessoas que fizeram parte dessa importante fase da minha vida. Portanto, desde já peço desculpas àquelas que não estão presentes entre estas palavras, mas podem estar certas que fazem parte do meu pensamento e da minha gratidão.

Agradeço ao meu orientador Filipe Madeira, pela sabedoria, paciência e ensinamentos, no qual me guiou nesta trajetória desde o meu primeiro dia no laboratório até a conclusão deste trabalho. Ao meu coorientador José Alberto, pela oportunidade, conversas e conselhos.

Aos meus amigos que foram base de toda a minha estrutura emocional. Mesmo aqueles que de longe, faziam questões de realizarem ligações, vídeo chamadas, áudios e compartilhar fotos. Obrigado por me permitir ser digno de nossa amizade. Reservei a cada de um de vocês um espaço de gratidão em meu peito, desejando muito sucesso em nossas jornadas.

Gostaria de deixar registrado também, o reconhecimento à minha família, em especial ao meu pai, irmãos, primas e primos e as minhas tias de consideração e de sangue. E claro, a minha mãe, que está sempre iluminando o meu coração e me protegendo aonde eu estiver.

Enfim, a todos os que por algum motivo contribuíram para a realização desta dissertação, ficará registrado o meu muito obrigado!!!

Índice

Resumo.....	x
Abstract.....	xi
CAPÍTULO 1 - Introdução Geral e Objetivos.....	1
CAPÍTULO 2 - Revisão bibliográficas	4
2.1. Agroecologia.....	5
2.2. Oliveira.....	6
2.2.1. Importância econômica	6
2.3. A mosca-da-zeitona, <i>Bactrocera oleae</i> (Rossi, 1790).....	8
2.3.1. Taxonomia.....	8
2.3.2. Distribuição geográfica	9
2.3.3. Morfologia.....	11
2.3.4. Ciclo biológico	13
2.3.5. Danos econômicos	16
2.4. Meios de proteção.....	16
2.4.1. Proteção cultural	16
2.4.2. Proteção química	17
2.4.3. Proteção biológico	18
2.5. Bicha-cadela, <i>Forficula auricularia</i> (Linnaeus, 1758).....	19
2.5.1. Taxonomia.....	19
2.5.2. Distribuição geográfica	20
2.5.3. Morfologia.....	20
CAPÍTULO 3 - Efeitos da aplicação de inseticidas sobre a mosca-da-zeitona na taxa de predação provocados por <i>F. auricularia</i>.....	25
3.1. Introdução.....	27

3.2 Materiais e métodos	27
3.2.1. Local em que se realizou o estudo	27
3.2.2. Obtenção dos insetos	27
3.2.3. Preparação dos produtos à base de <i>Beauveria bassiana</i> e neonicotinoide	29
3.3. Análise de dados	31
3.4. Resultados	32
3.5. Discussão	32
3.6. Conclusão	33
CAPÍTULO 4 - Sobrevivência de <i>F. auricularia</i> quando alimentadas com larvas de <i>B. oleae</i> expostas aos inseticidas	34
4.1. Introdução	36
4.2. Materiais e métodos	36
4.2.1. Local em que se realizou o estudo	36
4.2.2. Ensaio de sobrevivência	36
4.3. Análise de dados	37
4.4. Resultados	37
4.5. Discussão	39
4.6. Conclusão	40
CAPÍTULO 5 - Emergência de pupas da mosca-da-azeitona	41
5.1. Introdução	43
5.2. Materiais e métodos	43
5.2.1. Local em que se realizou o estudo	43
5.2.2. Ensaio de emergência	43
5.3. Análise de dados	44
5.4. Resultados	45
5.5. Discussão	46

5.6. Conclusão	47
Conclusão Geral	48
Referências.....	50
7.1 Webrefêrencias.....	57

Índice de figuras

Figura 2.1. Média da produção de azeitonas entre os países pertencentes a U.E. no decorrer dos anos.....	7
Figura 2.2. Distribuição geográfica de <i>B. oleae</i> , a nível mundial.....	10
Figura 2.3. Macho de <i>B. oleae</i> , (A) Fêmea de <i>B. oleae</i> , (B).....	11
Figura 2.4. Ovo de <i>B. oleae</i> (Rossi, 1790) acoplado na polpa de azeitona.....	12
Figura 2.5. Larva de <i>B. oleae</i> (Rossi, 1790) em seu último instar (L3).....	12
Figura 2.6. Pupa de <i>B. oleae</i> (Rossi, 1790) dentro de uma azeitona.....	13
Figura 2.7. Ciclo de vida da <i>B. oleae</i>	15
Figura 2.8. Distribuição geográfica de <i>F. auricularia</i> (Linnaeus, 1758), entre outras espécies desse gênero a nível Europeu.....	20
Figura 2.9. Bicha-cadela europeia fêmea em fase adulto, (A), cerco do inseto macho (B), cerco da fêmea (C).....	22
Figura 2.10. Pormenor de asas anteriores da bicha-cadela.....	22
Figura 2.11. Ovos de <i>F. auricularia</i> em agrupamento no solo.....	23
Figura 2.12. Ninfa de <i>F. auricularia</i> macho em seu terceiro instar.....	24
Figura 2.13. Ciclo de vida da <i>F. auricularia</i>	24
Figure 3.1. Coleta das <i>F. ricularia</i> em Romeu, (A) Coleta no IPB, (B).....	28
Figure 3.2. <i>F. auricularia</i> em jejum por 48 h, contendo uma gota de hidrogel.....	29
Figure 3.3. Caixas contendo azeitonas para a coleta das larvas de 3 ^o instar de <i>B. oleae</i>	29
Figure 3.4. Produtos utilizados nos diferentes tratamentos.....	30
Figure 3.5. Bandejas com terra esterilizada após a borrifação dos diferentes tratamentos, água (Controlo), bioproduto à base de <i>B. bassiana</i> , e inseticida químico sintético.....	31

Figura 3.6. Média \pm erro padrão da percentagem de predação dos machos e fêmeas de <i>F. auricularia</i> sobre larvas do 3 ^o instar de <i>B. oleae</i> tratadas com água (Controlo), <i>B. bassiana</i> e neonicotinoide em 24 h de avaliação.....	32
Figura 4.1. Sobrevivência dos machos de <i>F. auricularia</i> , quando alimentadas durante 25 dias sucessivos com larvas de <i>B. oleae</i> expostas em terra tratada com água (Controlo), <i>B. bassiana</i> e neonicotinoide.....	38
Figura 4.2. Sobrevivência das fêmeas de <i>F. auricularia</i> , quando alimentadas durante 25 dias sucessivos com larvas 3 ^o instar de <i>B. oleae</i> expostas em terra tratada com água (Controlo), <i>B. bassiana</i> e neonicotinoide.....	38
Figura 5.1. Média \pm erro padrão da percentagem da mosca-da-azeitona emergida, nos tratamentos com água (controlo), <i>B. bassiana</i> e neonicotinoide.....	45
Figura 5.2. Média \pm erro padrão do tempo de emergência (dias) da mosca-da-azeitona, tratada com água (controlo), <i>B. bassiana</i> e neonicotinoide.....	46

Índice de quadros

Quadro 2.1. Sistemática da árvore taxonômica da <i>Bactrocera oleae</i> (Rossi, 1970).....	8
Quadro 2.2. Sistemática da árvore taxonômica da <i>F. auricularia</i>	19
Quadro 3.1. Tratamentos utilizados no ensaio de predação, conforme a dosagem comercial....	30
Quadro 4.1. Resultados dos testes de Log-rank, comparando de forma pareada as curvas de sobrevivência de Kaplan-Meier dos tratamentos para machos e fêmeas de <i>F. auricularia</i>	39

Resumo

Forficula auricularia é um inseto predador generalista presentes em diversos agroecossistemas. Nos olivais, estes insetos desempenham um papel fundamental na proteção biológica das pragas, entre essas *Bactrocera oleae*. No entanto, a proteção contra a mosca-da-azeitona nos olivais, é sobretudo realizado por inseticidas químicos sintéticos, e mais recentemente por bioprodutos. No entanto, pouco se sabe sobre os efeitos dos bioprodutos no comportamento de insetos não-alvo. Sendo por isso, importante compreender como estes influenciam na fisiologia e comportamento dos insetos não-alvo, presente no mesmo agroecossistema. Diante a isso, este trabalho foi dividido em três partes. Na primeira (capítulo 3) foram avaliados os efeitos da aplicação dos inseticidas à base de *Beauveria bassiana* e neonicotinoide sobre a mosca-da-azeitona na taxa de predação exercida por *F. auricularia*. Na segunda parte (capítulo 4), foi avaliado a sobrevivência em 25 dias de *F. auricularia*, quando alimentada com larvas da mosca-da-azeitona, expostas nos diferentes tratamentos mencionado anteriormente, e na terceira parte como complemento (capítulo 5), foi avaliado a emergência da mosca-da-azeitona, quando submetidas aos diferentes inseticidas. Os resultados deste trabalho mostram, que a taxa de predação por *F. auricularia* foi maior nas fêmeas do que nos machos. Tendo as fêmeas mostrado uma maior predação em larvas tratadas com *B. bassiana* em comparação com larvas tratadas com água (Controlo). Por outro lado, mesmo quando adultos de *F. auricularia* foram alimentadas durante 25 dias com larvas tratadas com os produtos fitossanitários se observou uma elevada sobrevivência (>60%). No entanto, observou-se uma sobrevivência significativamente menor nos machos de *F. auricularia*, quando alimentados com larvas tratadas com neonicotinoide em comparação com o Controlo. Por último, observou-se uma elevada (>80%) emergência de moscas-da-azeitona adultos independentemente do tratamento aplicado nas larvas. Porém, o tempo de emergência das pupas foi significativamente maior para aquelas em que as larvas foram tratadas com *B. bassiana* e neonicotinoide. Os resultados obtidos neste trabalho contribuem para uma melhor compreensão, sobre a importância de estudar os efeitos da aplicação de fitossanitários em insetos não-alvo, e como esses, afetam o comportamento e a fisiologia desses predadores.

Palavras-chave: Bioprodutos; Entomopatógenos, Proteção do olival; Insetos não-alvo.

Abstract

Forficula auricularia is a generalist predatory insect present in various agroecosystems. In olive groves, these insects play a fundamental role in the biological control against pests, including *Bactrocera oleae*. However, the protection against the olive fruit fly in olive groves is primarily achieved through synthetic chemical insecticides, and more recently, through bioproducts. Nevertheless, little is known about the effects of bioproducts on the behavior of non-target insects. Therefore, it is important to understand how this influences the physiology and behavior of non-target insects present in the same agroecosystem. In light of this, the study was divided into three parts. In the first part (Chapter 3), the effects of the application of insecticides based on *Beauveria bassiana* and neonicotinoids on the olive fruit fly and the predation rate by *F. auricularia* were evaluated. In the second part (Chapter 4), the 25-day survival of *F. auricularia* was assessed when fed with olive fruit fly larvae exposed to the different treatments mentioned earlier. In the third part as a complement (Chapter 5), the emergence of the olive fruit fly when subjected to the different insecticides was evaluated. The results of this study show that the predation rate by *F. auricularia* was higher in females than males. The females showed higher predation on larvae treated with *B. bassiana* compared to larvae treated with water (Control). On the other hand, even when adult *F. auricularia* were fed for 25 days with larvae treated with phytosanitary products, high survival rates (>60%) were observed. However, significantly lower survival was observed in male *F. auricularia* when fed with larvae treated with neonicotinoids compared to the Control. Lastly, a high (>80%) emergence of adult olive fruit flies was observed regardless of the treatment applied to the larvae. However, the emergence time of pupae was significantly longer for those whose larvae were treated with *B. bassiana* and neonicotinoids. The results obtained in this study contribute to a better understanding of the importance of studying the effects of the application of phytosanitary products on non-target insects, and how these affect the behavior and physiology of these predators.

Keywords: Bioproducts; Entomopathogens; Olive grove protection; Non-target insects.

CAPÍTULO 1

Introdução Geral e Objetivos



Na região do mediterrâneo, notável pela sua rica história, biodiversidade, importância econômica e principalmente por diversas culturas agrícola, destaca-se o olival (Macías Hernández, 1990). Portugal, é um país que faz parte desta extensa região, nele a agricultura é bastante conhecida pelos seus olivais, com viés a produção de azeitonas de mesa e seu famoso produto, o azeite (Dolci & Perrin, 2018). Contudo o aumento na produção dos olivais no país, ocorreu devido a introdução do sistema intensivo (cerca de 900 árvores/hectare) e superintensivo (mais de 900 árvores/ha), sobretudo na região do Alentejo sob sistema de regadio, seguindo pela região de Trás-os-Montes, como segunda principal região produtora do país em mais de 80.000/ha de olivais plantados (INE, 2019). Diante do manejo dos olivais, uma das principais pragas que recebe mais atenção pelo efeito de seus danos é a *Bactrocera oleae* (Rossi, 1790), popularmente conhecida como mosca-da-zeitona (Martins, 2018).

A *B. oleae* é uma mosca pertencente a ordem Diptera, e é em sua fase larval, que esse inseto mais causa danos nas azeitonas (Vilarinho, 1999). Após a eclosão de seus ovos, as larvas dessa espécie se alimentam do mesocarpo dos frutos, abrindo galerias internas, posteriormente servindo como porta de entrada para novos patógenos se instalarem, conseqüentemente ocasionando a perda da qualidade físico-química do azeite (Pereira, 2000). Após esse período, as larvas ao atingirem seu último estágio larval, saem do fruto em busca do solo para pupar, posteriormente a essa fase se tornando inseto adulto (Broumas et al., 2002). Por conta disso, diversos tipos de proteção são realizados para a diminuição ou eliminação dessa praga, nesta podemos destacar proteção cultural, química e principalmente a biológica (Martins, 2018).

Forficula auricularia (Linnaeus, 1758) ou popularmente conhecida como bicha-cadela em Portugal, é um inseto da ordem Dermaptera, amplamente distribuído pelo mundo, mas de origem Europeia (Walker, 1933). Este indivíduo está presente em diversos agroecossistemas e é classificado como um inseto onívoro de hábito noturno, frequentemente encontrado sob cascas, troncos, folhas ou em ambientes ausentes de luz. Esse, é considerado como um excelente aliado na predação de larvas de *B. oleae* (Baratella, 2009). Nos campos de olivais, a predação por *F. auricularia* em larvas da mosca-da-zeitona ocorre quando essas saem do fruto para pupar no solo, (Dinis, 2016).

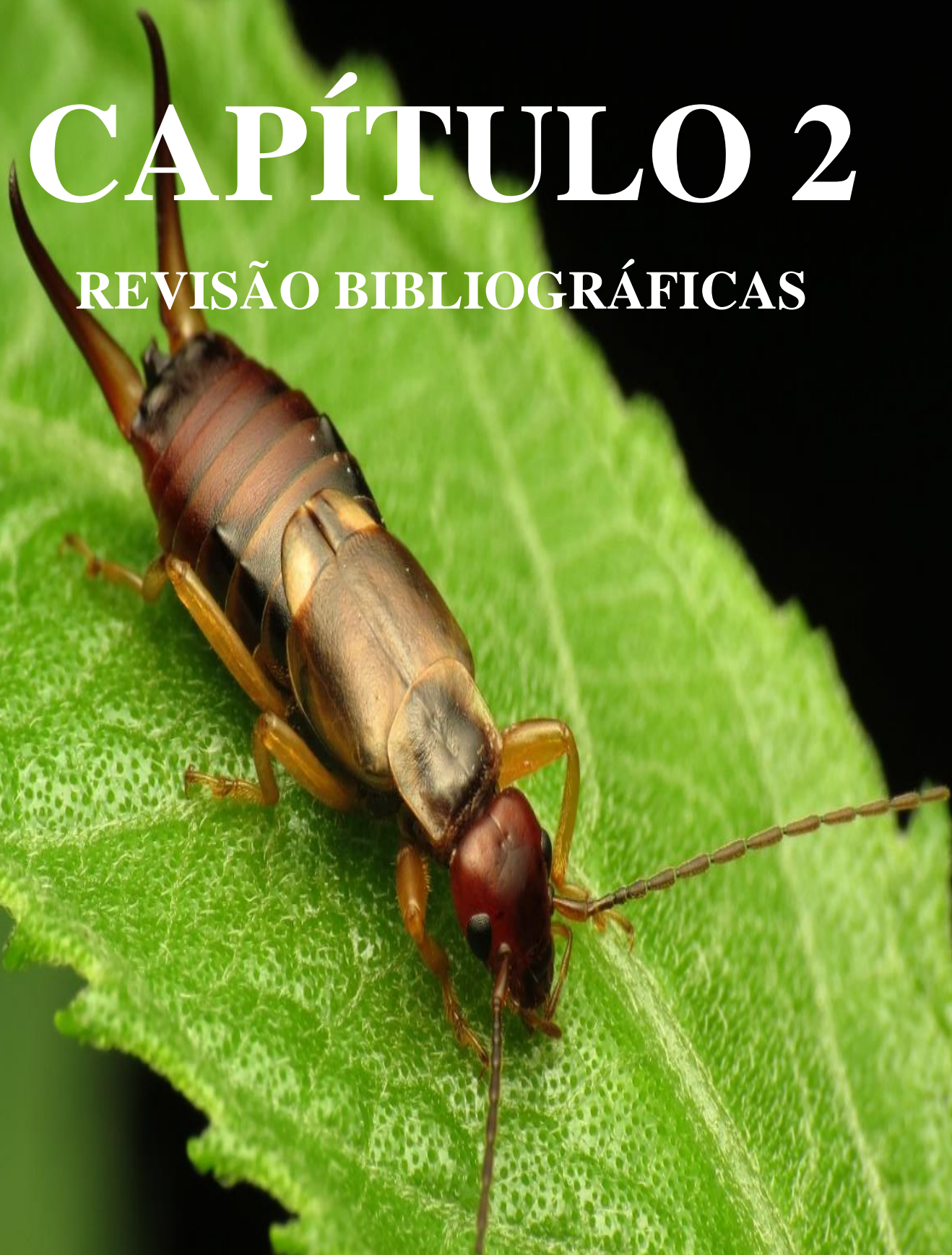
Por outro lado, quase não há disponível na literatura informações sobre os efeitos dos bioprodutos no comportamento em insetos não-alvo, como por exemplo os predadores. E se faz importante compreender como esses influenciam na interação desses insetos quando submetidos

a esses tipos de inseticidas no controle das pragas. Por isso, a importância de realizar este tipo de estudo nos ajuda a entender como os predadores se comportam, após o contato com inseticidas normalmente utilizado no controle da mosca-da-azeitona.

Diante o exposto, esse trabalho teve por objetivo avaliar o efeito dos inseticidas *B. bassiana* e neonicotinoide na predação de *F. auricularia*, quando alimentadas com larvas de 3^o instar de *B. oleae*, sob condições de laboratório. Esse trabalho foi dividido em três partes, no primeiro (capítulo 03), foi avaliado o efeito da aplicação dos inseticidas à base de *Beuaveria bassiana* e neonicotinoide na taxa de predação de *F. auricularia* sobre a mosca-da-azeitona. A segunda parte (capítulo 04), foi avaliado a sobrevivência em 25 dias das *F. auricularia*, quando alimentada com larvas de 3^o instar, contaminadas nos diferentes tratamentos a base de *B. bassiana* e neonicotinoide e a terceira parte (capítulo 05), foi avaliado a emergência da mosca-da-azeitona, quando submetidas nos diferentes inseticidas, *B. bassiana* e neonicotinoide.

CAPÍTULO 2

REVISÃO BIBLIOGRÁFICAS



2.1. Agroecologia

O termo agroecologia, cada vez mais, vem sendo discutido, estudado e praticado em todo o canto do mundo. Seu primeiro aparecimento em publicações científicas foi realizado pelo agrônomo russo Basil Besin (1928, 1930), e recentemente adaptado por Gliessman (2007) e Warner (2007), buscando a entender como essa ciência se comporta nos diferentes continentes (Wezel et al., 2009).

Inicialmente o significado da agroecologia, era apenas entendido por “ecologia aplicada na agricultura”, significado ainda empregado por outros cientistas nas décadas posteriores até meados de 1950 (Altieri, 1989). Com o passar dos anos, o conceito da agroecologia foi tomando diferentes formas dentro da agricultura, constituindo-se como uma ciência sustentável, um manejo alternativo com baixo uso de insumos químicos e principalmente uma integração entre a produção agrícola, ecossistema e questões socioeconômicas (Gliessman, 2018).

Por ser uma prática agrícola, e por fazer parte de uma ciência que busca produzir de forma a minimizar ao máximo os impactos ambientais, qualquer canto do planeta é visto esse sistema de produção (Wezel, 2014). No continente europeu muito se fala da agroecologia, de uma agricultura mais sustentável, com uma abordagem a uma agricultura de conservação, por proteção integrada, além de acordos futuros que visa produzir mais e impactar menos o meio ambiente (Vasconcelos & Moraes Mello, 2021).

Embora mencionado anteriormente, a variação da prática agroecológica é ligeiramente interpretada de diferentes formas dependendo da origem da sua fonte, porém esses pilares que constitui a prática de um plantio mais sustentável buscam sempre um mesmo objetivo. Nessas, podemos incluir diversificação de cultivo, rotação de cultura, conservação do solo, manejo integrado de pragas e doenças, uso eficiente de recursos naturais, participação e envolvimento comunitários, entre outras bases dessa ciência, que promove um sistema resiliente, equitativo e sustentável (Brandenburg, 2002).

Na região do mediterrâneo, característico por verões quentes e secos e invernos húmidos e chuvosos, refere-se aqueles continentes que circunda a bacia do mar mediterrâneo, sendo essa, uma extensa área aquática que passa pela Europa, Ásia e África. Nessa, é muito comum a agricultura de espécies adaptadas para esse tipo de clima, como vinhas, citrinos, cereais, algumas hortaliças e principalmente os olivais (Macías Hernández, 1990).

Portugal, é um dos 27 países que constitui a União Europeia, nele a prática da agroecologia compreende-se integrar conhecimentos sustentáveis, especialmente devido à crescente preocupação com a preservação dos recursos naturais, lidando com questões complexas, intervindo em sistemas de agricultura intensivos, posteriormente promovendo um sistema agroecológico (Dolci & Perrin, 2018).

2.2. Oliveira

A oliveira, cientificamente conhecida como *Olea europaea* L., é membro da família Oleaceae, sendo uma árvore perene nativa da região do mediterrâneo, mas encontrada em outras parte do mundo com climas semelhantes. Esta, é cultivada há séculos, possuindo grande importância econômica, cultural e histórica (Ray et al., 2015). Dentro dos 29 gêneros dessa família, o gênero *Olea* é um dos mais relevantes economicamente, compreendendo entre 30 e 35 espécies (Rodrigues & Correia, 2009).

Suas características morfológicas representa uma árvore de médio a grande porte, atingindo alturas que varia de 2 a 10 metros, com histórico de potencial produtivo por séculos. Sua notável capacidade de sobreviver em climas adversos, se dá pela estrutura de suas raízes que possibilita alcançar grandes profundidades no solo por busca de água (Raina, 2023). Suas flores são pequenas e apresentam formas tubulares que se assemelha com sinos, isso se deve, pelas suas características de simetria radial, formadas geralmente em cachos, possuindo cores que varia do creme ao amarelo. (Lucena et al., 2017).

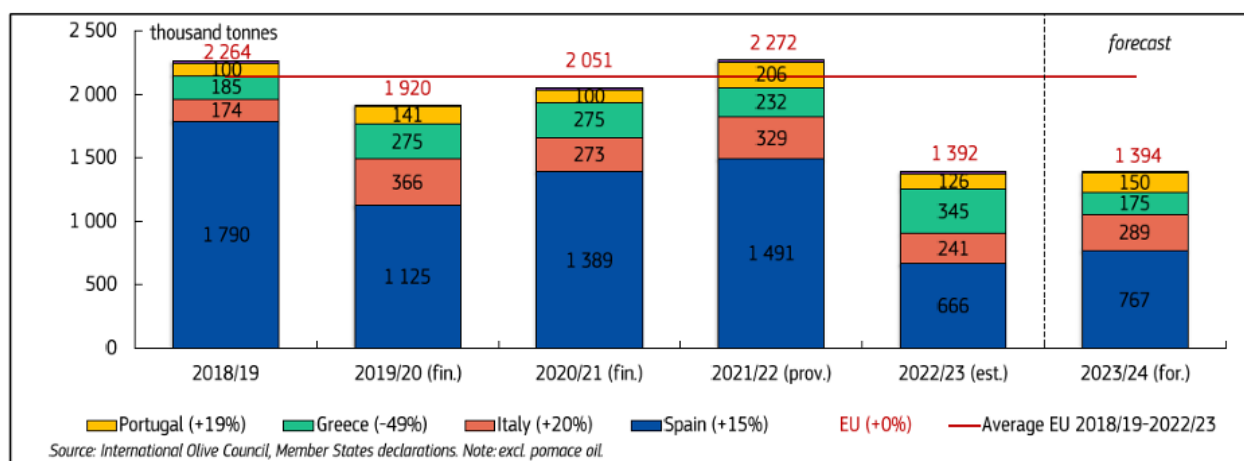
Não se sabe ao certo sobre seu aparecimento e expansão na bacia do mediterrâneo, o que se diz é, que o seu desenvolvimento surgiu através das civilizações desta região. No continente Europeu a oliveira se destaca em países como, Espanha, Grécia, Itália, Portugal, entre outros (Wrege et al., 2015). Especificamente em Portugal, essa cultura é de grande importância econômica, movimentando parte do PIB do país, através dos seus produtos como o azeite. Sua dominância é encontrada principalmente nas regiões do Alentejo, Trás-os-Montes, Beira interior e Ribatejo, mas podendo ser possível à sua presença por todo o país (Bento, 1999).

2.2.1. Importância econômica

A União Europeia (UE) é a principal responsável por produzir, consumir e exportar azeitonas e azeite no mundo, isso corresponde mais de 61% da produção mundial, conforme

dados da FAOSTAT (2018). Segundo essa agência especializada sobre dados na agricultura, a mesma relata que, a quantidade de azeitonas produzidas no mundo no ano de 2018, ultrapassou mais de 19 milhões de toneladas. Embora, esses valores tenham diminuído na safra 2023/2024, por conta das condições climáticas como verões quentes e secos na região Europeia, drasticamente a produção de azeitonas e, posteriormente a produção de azeites houve quedas significativas (CAP, 2024).

De acordo com Agriculture and rural development (2024) os principais países produtores de azeitonas na UE são Espanha (+600 mil ton.), liderando em primeiro lugar, seguido por Itália (+250 mil ton.) e logo atrás a Grécia (+200 mil ton.). O mesmo acontece na produção de azeite conforme os respectivos países mencionados. Já Portugal, ocupa o quarto lugar entre os maiores produtores de azeitonas e azeite a nível europeu, com produções de cerca de 100 mil toneladas do fruto (GPP, 2020). Na colheita do ano de 2022/2023 o país representou produções superiores na ordem das 120 mil toneladas (figura 2.1), este aumento de produção deve-se aos olivais de regadio do Alentejo, já que na maior parte das regiões produtoras dessa cultura predominam olivais oriundos de sequeiros, no qual, foram os que mais sofreram com a queda de produção por consequência do clima nos últimos anos (CAP, 2024).



Fonte: CE

Figura 2.1. Média da produção de azeitonas entre os países pertencentes a U.E. no decorrer dos anos. **Fonte:** CAP, 2024).

De acordo com INE (2023), a região Trás-os-Montes, lidera a segunda maior região produtora de azeitonas no país, ficando para atrás apenas pela região do Alentejo. Nesse mesmo

ano de 2023, sua produção ultrapassou mais de 70 mil toneladas. Conforme Peres et al. (2011), o olival de Trás-os-Montes assume um importante papel em termos econômicos, social e paisagístico.

Assim como, em qualquer agricultura, as oliveiras estão susceptíveis ao ataque de doenças e pragas. Na qual, diretamente essas, trazem prejuízos não somente para planta, mas também na produção da qualidade do seu produto final (Malheiro et al., 2016). Diante das principais pragas da oliveira, podemos destacar a traça-da-oliveira, *Prays oleae* (Bernard, 1788), a cochonilha-negra, da oliveira *Saissetia oleae* (Olivier, 1791), o algodão-da-oliveira, *Euphyllura olivina* (Costa, 1839), o tripe-da-oliveira, *Liothrips oleae* (Costa, 1857), o caruncho-da-oliveira, *Phloeotribus scarabaeoides* (Bernard, 1788), a traça-verde, *Palpita vitrealis* (Rossi, 1794), a euzofora, *Euzophera pinguis* (Haworth, 1811) e *B. oleae* sendo essa, uma das mais importante em termos de danos econômicos (Vivero et al., 2014).

2.3. A mosca-da-azeitona, *Bactrocera oleae* (Rossi, 1790)

2.3.1. Taxonomia

A mosca-da-azeitona, como é conhecida popularmente em Portugal ou cientificamente como *B. oleae*, pertence à família Tephritidae, da ordem Diptera, sendo da Classe Insecta, conforme o quadro 2.1 (Varikou, 2014). Há relatos que a ordem Diptera, já possui mais de 4.500 espécies descritas, onde algumas são uma das pragas agrícolas com maior significância pelo seu poder de danos na agricultura (Duyck et al., 2004).

Quadro 2.1. Sistemática da árvore taxonômica da *Bactrocera oleae* (Rossi, 1970). **Fonte:** Varikou, 2014).

Domínio: Eucariota

Reino: Animália

Phylum: Arthropoda

Subphylum: Uniramia

Classe: Insecta

Ordem: Diptera

Família: Tephritidae

Gênero: *Bactrocera*

Espécie: *oleae*

Ainda conforme Varikou (2014), essa mesma espécie de mosca-da-azeitona apresenta diferentes nomes científicos na literatura:

- *Bactrocera* (*Daculus*) *oleae*;
- *Daculus oleae* (Gmelin);
- *Dacus oleae* (Gmelin);
- *Musca oleae* (Gmelin).

Por ser conhecida mundialmente, *B. oleae* também é citada em vários países como (Canteiro., 1997):

- França: mouche de l'olive, mouche des olives, ver de l'olive;
- Espanha: mosca de las aceitunas, mosca del olivo, mosca olearia;
- Inglaterra e Estados Unidos: fruit fly, olive fly, olive fruit fly.

Em Portugal, este inseto já é atendido pelos seguintes nomes (Vilarinho, 1999):

- Mosca-da-azeitona;
- Mosca-da-oliveira;

2.3.2. Distribuição geográfica

Bactrocera oleae, é uma praga agrícola normalmente associada com o gênero de plantas *oleae*, sendo possível observar sua dispersão através da figura 2.2, estando presente em diferentes continentes como, norte-americano, africano, europeu e eurásia (Caleca et al., 2012; CABI, 2016).

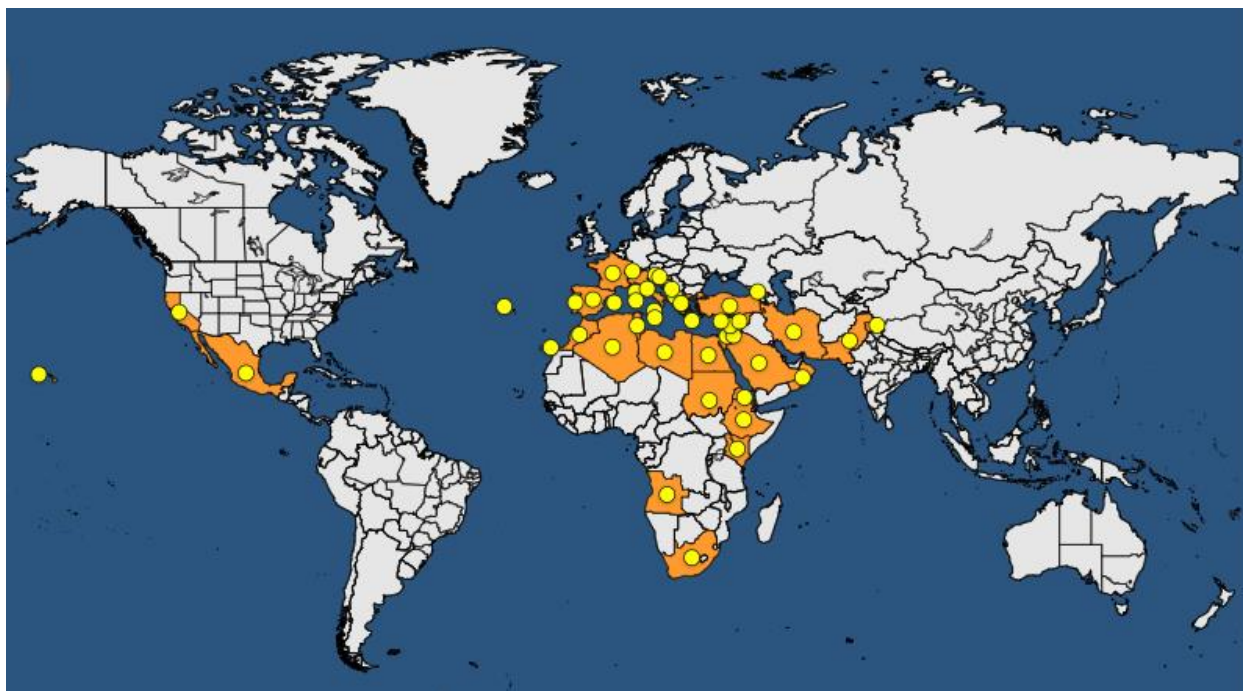


Figura 2.2. Distribuição geográfica de *B. oleae*, a nível mundial. **Fonte:**(EPPO, Global Database, 2024).

Por mais visível que seja sua expansão geográfica, conforme a imagem acima. É notável que sua maior concentração está localizada na bacia do mediterrâneo. Entretanto, há relatos que a mosca-da-azeitona não seja originária do sul Europeu, mas sim, do continente Africano (Nardi et al., 2005, 2010). Análises moleculares mais recentes, mostram que *B. oleae* surgiu na África, se expandindo pela área do Mediterrâneo, centro-sul da África e posteriormente Califórnia (Nardi et al., 2005).

Sua transição mundial pode ser agravada em consequência das alterações climáticas, como explica o estudo realizado por Gutierrez et al., (2009), que teve por objetivo avaliar os efeitos do aquecimento climático sobre *B. oleae*, em que nos mostra como o comportamento deste inseto pode estar associado ao clima. Este estudo foi realizado na Califórnia e Itália, mostrando que com o aumento da temperatura este inseto se torne menos problemático em algumas regiões. Já em regiões costeiras com temperaturas nos verões mais amenas e humidade relativa mais altas, quando comparado a regiões continentais são fatores que proporciona maior presença deste inseto (Daane et al., 2015).

2.3.3. Morfologia

Adultos: A mosca (figura 2.3A), normalmente tem cerca de 4 – 5 milímetros (mm) de comprimento por 10 a 12 mm de envergadura (Cantero, 1997; Alvarado et al., 2017). Sua cabeça possui cor que varia do amarelo ao avermelhado, composto por um par de olhos grandes com reflexos violeta ao esverdeado (Neuenschwander et al., 1986). Seu tórax é castanho-escuro ou amarelo avermelhado, possuindo quatro faixas longitudinais de cores acinzentadas ao preto, sendo seu escutelo quase inteiramente amarelo-marfim (Neuenschwander et al., 1986; López-Villalta, 1999). O abdômen é castanho-avermelhado com duas faixas mais escuras nas laterais de cada segmento (Neuenschwander et al., 1986). As asas possuem nervuras negras e uma pequena mancha escura em cada ponta, sendo hialinas e iridescentes (Daane et al., 2004). As moscas fêmeas, geralmente são fáceis de serem distinguidas em relação aos machos, pelo fato de serem maiores e pelo seu último segmento ser prolongado originando a bainha protetora do ovipositor (figura 2.3B) que é retrátil (Cantero, 1997).



(A)



(B)

Figura 2.3. Macho de *B. oleae*, (A) Fêmea de *B. oleae*, (B). **Fonte:** Center for Invasive Species and Ecosystem Health, 2018).

Ovos: Os ovos possuem formato alongado e cilíndrico (figura 2.4), sendo convexos dorsalmente e planos ventralmente. Normalmente sua cor é esbranquiçada ao amarelo claro, sendo bem pequenos, variando seu tamanho por volta de 0,7 mm de comprimento por 0,2 mm de largura (Neuenschwander et al., 1986; López-Villalta, 1999).



Figura 2.4. Ovo de *B. oleae* (Rossi, 1790) acoplado na polpa de azeitona. **Fonte:** Center for Invasive Species and Ecosystem Health, 2018.

Larvas: As larvas (figura 2.5) possuem três fases larvais no decorrer do seu desenvolvimento, sendo ápodas de formato cilíndrico. Sua coloração varia do esbranquiçado ao creme dependendo do tipo de fruto que estão ingerindo, e logo após sua eclosão, medem cerca de 1 mm de comprimento e em sua última fase larval podem chegar por volta de 7 – 8 mm ou mais de comprimento (Neuenschwander et al., 1986; Civantos, 1999; López-Villalta, 1999).

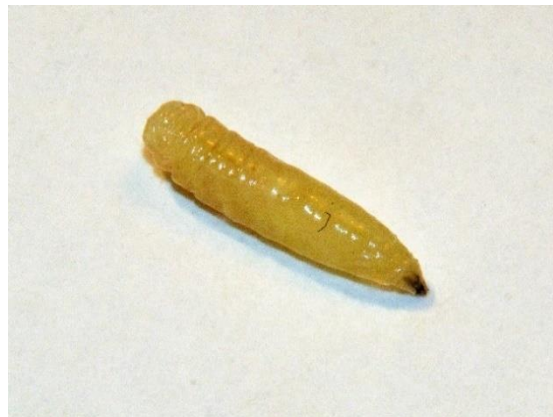


Figura 2.5. Larva de *B. oleae* (Rossi, 1790) em seu último instar (L3). **Fonte:** Center for Invasive Species and Ecosystem Health, 2018.

Pupas: As pupas (figura 2.6), possuem formato elíptico com cabeça pontiaguda. Sua cor varia do branco, creme ao amarelo claro, dependendo da polpa da azeitona que foi infestada

(Daane et al., 2004). Seu tamanho pode variar, mas em média as pupas possuem cerca de 4-5 mm de comprimento por 2 mm de largura (Cantero, 1997; Civantos, 1999). Em acordo com a maioria das espécies da família Tephritidae, as larvas de *B. oleae* permanecem no interior da polpa da azeitona no verão, deixando-as no período de outono-inverno, para formar pupas no solo (Daane et al., 2004).



Figura 2.6. Pupa de *B. oleae* (Rossi, 1790) dentro de uma azeitona. **Fonte:** Center for Invasive Species and Ecosystem Health, 2018.

2.3.4. Ciclo biológico

Como forma estratégica de sobrevivência contra as baixas temperaturas que ocorrem no período de inverno em regiões como o norte e sul da Europa, as *B. oleae* encontra-se no estágio de pupas, enterradas no solo dos olivais em profundidade entre 1 e 3 cm (Neuenschwander et al., 1986; Daane et al., 2004).

Os adultos normalmente iniciam suas atividades na primavera, nesta fase, as moscas procuram por comida, como substâncias açucaradas oriundas de flores, melado de insetos, exsudatos de frutas, entre outras fontes orgânicas (Daane & Johnson, 2010). Período no qual é muito importante para *B. oleae*, garantindo sua sobrevivência, acasalamento e novas reproduções. Por esse motivo, *B. oleae* podem ser encontradas em diferentes plantas que proporciona sua fonte de alimento, sendo diferente em sua fase larval que possui hábitos monófagos, ou seja, se alimentando apenas de um único alimento, no caso das azeitonas do gênero *Oleae*, como *O. europeia* L. (Daane & Johnson, 2010). Sua longevidade corresponde

entre 50 e 80 dias para aqueles que emergem em setembro e de 168 a 175 dias para aqueles que emergem em novembro (Katsoyannos, 1992).

Ainda em sua fase adulta, a mosca-da-azeitona possui grande capacidade de percorrer longas distâncias, posteriormente garantindo a perpetuação de sua espécie e colonizando novos olivais (López-Villalta, 1999). As fêmeas possuem hábitos oligogâmicos e se acasalam entre 1 a 3 vezes durante seu ciclo de vida (Tzanakakis et al., 1968). Segundo o autor, as moscas fêmeas põem cerca de 10 a 40 ovos por dia, geralmente sendo um ovo em cada fruto hospedeiro, numa pequena câmara que perfura a epiderme do mesmo, e de 200 a 500 ovos durante todo o seu ciclo de vida (Tzanakakis, 1989; Daane et al., 2004). Já por outro lado, os machos são polígamos e podem acasalar diariamente no decorrer do seu ciclo de vida, conforme a disponibilidade das fêmeas receptivas (Zervas, 1982). Ainda sobre a postura, a mosca-da-azeitona necessita de temperaturas entre 20 °C e 30 °C, cessando a postura quando a temperatura chega inferior a 15°C e superior a 35 °C (Katsoyannos, 1992).

Os ovos da mosca-da-azeitona, necessitam de um período de incubação entre 12 a 19 dias, variando conforme a temperatura no período do fim de outono/inverno, logo para o período de verão, tipicamente sendo quentes e secos, esses dias são reduzidos entre 2 a 4 dias para sua eclosão (Katsoyannos, 1992). Segundo outros autores, o desenvolvimento larvar tem um período entre 12 a 13 dias em 18 °C, logo para 25 °C esse valor em dias diminui para 9 a 14 dias, dependendo também do estado fisiológico do fruto (Neuenschwander, et al., 1986).

Após a postura feita pelas fêmeas de *B. oleae* nas azeitonas, em seguida, irão eclodir as larvas, em que a velocidade de sua eclosão, varia conforme a temperatura exterior do ambiente (López-Villalta, 1999). Posteriormente a isso, inicia-se o seu desenvolvimento passando por três estágios larvais, como já mencionado anteriormente. Nesta, as larvas abrem galerias internas nos frutos (mesocarpo) que inicialmente são caminhos estreitos e com o passar das suas fases se tornam mais largo. Ao chegar em seu último estágio, as larvas tendem-se aproximar da superfície do fruto, em seguida, abandonando-o para pupar no solo, dando origem a novos insetos adultos, diante as condições climáticas favoráveis (Neuenschwander et al., 1986). Ainda sobre o desenvolvimento larval, apresentam valores como 18 a 47 dias no outono, 63 ou mais no inverno, 18 a 20 dias na primavera e aproximadamente 14 a 18 dias no verão (Katsoyannos, 1992).

Em resumo, o ciclo de vida da *B. oleae* (figura 2.7) varia conforme vários fatores como já supracitados, sobretudo em relação ao clima. Em média, desde a sua fase de ovos até se tornarem insetos adultos, esse tempo varia entre 30 a 80 dias no verão ou em zonas de clima ameno, e entre 130 a 160 dias no inverno ou em zonas mais frias (Neuenschwander et al.,1986).

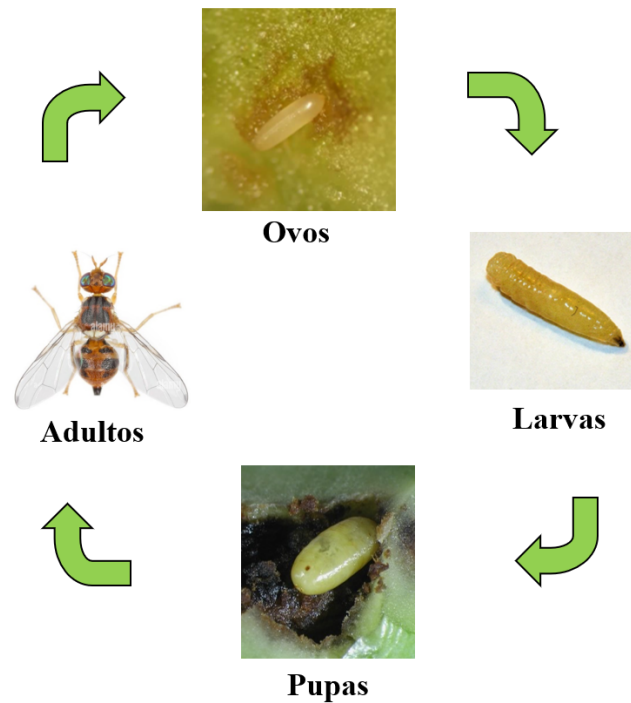


Figura 2.7. Ciclo de vida da *B. oleae*.

Em acordo com outras espécies de tefritídeos, as moscas-da-azeitona realiza suas posturas dentro do fruto hospedeiro como mecanismo de defesa. Isso ocorre, principalmente nos meses mais quentes, como forma de proteger os ovos por desidratação, além da predação de outros insetos (Kapatos & Fletcher, 1983; Daane et al., 2004). Embora a mosca-da-azeitona não tenha uma verdadeira diapausa, o desenvolvimento é retardado durante o inverno, conseqüentemente para que as pupas produzidas no final do outono emergem na próxima primavera, sendo essa, respectivo ao final do mês de março, início de abril em Portugal (Conti, 2007).

2.3.5. Danos econômicos

Os danos causados pela *B. oleae* nas azeitonas ocorre principalmente em seu estágio larval. As larvas se alimentam da polpa da fruta (mesocarpo), ocasionando danos consideráveis, podendo resultar perda de produção de até 80%, quando o fruto se destina para a produção de azeite (Tzanakakis, 2006). Já em países em que esta praga agrícola é considerada endêmica e de difícil controle, o seu ataque pode resultar perdas totais, quando à azeitona se destina a mesa (Broumas et al., 2002).

Os danos diretos estão associados com a queda prematura e ataque nos frutos que dependendo do ano, pode comprometer mais de 90% na produção dos olivais (Bento et al., 1999, 2003, 2009). Em relação aos danos indiretos, nesta está relacionada a qualidade do azeite. A presença de galerias formadas pela larva no interior dos frutos, é uma porta de entrada para patógenos como, bactérias, fungos (*Colletotrichum spp.*), entre outros se instalarem, consequentemente refletindo de forma negativa na composição físico-química e organolépticas do azeite, aumentando a hidrólise e a oxidação, e diminuindo os compostos antioxidantes, fazendo que o azeite perca valor comercial (Pereira, 2000; Vossen et al., 2004). Contudo são diversas estratégias que podem ser adotadas nos olivais como ferramentas de proteção desta praga, variando por meio da luta cultural, química, biológica e entre outros (Torres, 2007a).

2.4. Meios de proteção

2.4.1. Proteção cultural

Assim como, os diferentes tipos de proteção já existente na agricultura, a proteção cultural também visa um conjunto de práticas agrícolas com o objetivo de garantir o desenvolvimento, a saúde e a produtividade do plantio através de tratos culturais (Amaro, 2003). Nesta, podemos destacar uma série de fatores que auxilia na intervenção da mosca-da-zeitona, como visando uma boa preparação do solo (análise e correção); Plantio (mudas selecionadas e certificadas, sendo oriundas de viveiros com certificação, compasso adequada entre plantas e entre linhas); Adubação adequada, pois conforme Conti (2007), ressalta que mosca-da-zeitona fêmeas são particularmente atraídas por compostos voláteis de azoto; Podas nos momentos certos (formação e produção); Monitoramento de pragas e doenças, e colheita (colher os frutos no momento ideal e evitar deixar o máximo de frutos caídos no chão após a colheita, consequentemente servindo como fonte de novos ciclos do inseto). Torres (2007a), ainda ressalta

que esses tratamentos culturais, quando realizados de forma integrada e adequada, contribuem significativamente na sustentabilidade e rentabilidade do olival.

A escolha da variedade da oliveira, também está diretamente ligada ao ataque por *B. oleae*, visto que existem diferentes cultivares mais susceptíveis a essa espécie de inseto (Malheiro et al., 2015). Entre estas variedades mais cultivadas na região de Trás-os-Montes são Cobrançosa, Madural, Verdeal Transmontano, Negrinha de Freixo e Santulhana (Cordeiro et al., 2010). De acordo com o estudo realizado por Gonçalves (2012), que teve por objetivo avaliar a relação entre parâmetros físico-químicos e a possível influência destes no processo da infestação da mosca-da-azeitona em diferentes cultivares na região de Trás-os-Montes. Resultou que a preferência de infestação pela mosca-da-azeitona ocorreu nas cultivares como Madural e Verdeal Transmontano, sendo a cultivar Cobrançosa a que menos foi infestada pelo inseto. Ainda conforme outro trabalho realizado por Malheiro (2016), ressalta que a cultivar Cobrançosa obteve níveis de infestação mais baixos (22%) pela mosca-da-azeitona, enquanto as cultivares Verdeal Transmontano obteve níveis de infestação de 64%, seguido pela cultivar Madural com 46%. Sendo assim, um fator muito importante é o tipo de variedade que venha escolher na instalação de um olival, levando em consideração cultivares menos susceptíveis ao ataque deste inseto.

2.4.2. Proteção química

A proteção química na agricultura, normalmente é o mais utilizado, pois neste, utiliza-se de moléculas químicas sintéticas, ou seja, moléculas muitas vezes oriundas do meio ambiente, que posteriormente foram sintetizadas em laboratório (Jordão, 2014). Este tipo de proteção é popularmente conhecido como pesticidas ou inseticidas químicos sintéticos, com o objetivo de intervir ou eliminar populações de pragas que causam danos econômicos nas culturas (Amaro, 2003).

Esses inseticidas, normalmente possui características sistêmicas, atuando nos vasos condutores (floema e xilema) da planta, sendo esses, responsáveis pela translocação dos fotoassimilados para a mesma. Após o inseto ingerir a seiva, perfurar ou consumir qualquer parte da planta, estará contaminado, levando-o a morte pela ação do produto que em grande parte atuará no seu sistema nervoso central. Já em sua ação por contato, o efeito do produto, acontece quando o inseto entra em contato direto com ele (Matsumura, 1975).

2.4.3. Proteção biológico

A utilização de fungos entomopatogênicos na proteção contra a mosca-da-azeitona, tem demonstrado grande potencial (Anagnou-Veroniki et al., 2006). Esses, agem normalmente quando entra em contato com o inseto, produzindo esporos que aderem à superfície de seu corpo, posteriormente penetrando em sua cutícula, se multiplicando em seu interior e causando sua morte em 7 a 10 dias por destruição dos seus órgãos vitais e por liberação de toxinas (Federici, 1999). Estirpes de fungos entomopatogênicos como *Beauveria bassiana* (Balsamo, 1912) Vuillemin, é muito utilizado na agricultura, principalmente em um manejo mais sustentável através de ferramentas no combate de pragas por biológicos (Konstantopoulou & Mazomenos, 2005). Alguns trabalhos preliminares já testados em laboratório, semicampo e a campo, mostraram que *B. oleae* é susceptível à infecção causada por *B. bassiana* (Mahmoud, 2009).

NATURALIS[®], como é conhecido pelo seu nome comercial, é um produto entomopatogênico à base de *B. bassiana* estirpe ATCC 74040 com grande ação inseticida em *B. oleae*. Trabalhos como de Anagnou-Veroniki et al., (2006), teve por objetivo avaliar o impacto desse produto em adultos da mosca-da-azeitona sob condições de laboratório. Os resultados demonstraram controle de mais de 95% de mortalidade nas moscas, quando comparado com outras estirpes de fungos entomopatogênico, também utilizado neste trabalho, ocasionando mortalidade de 11,3% sobre os insetos adultos.

Pesquisas mostraram que *B. bassiana* pode ser eficaz contra uma ampla gama de insetos-praga, incluindo insetos da ordem Diptera (Bissolli et al., 2014). Em estudo realizado por Ismal et al., (2022), que utilizou *B. bassiana* no controle de insetos adultos de *B. zonata*, concluiu que este fungo entomopatogênico pode ser considerado agente de biocontrole promissor contra pragas dessa espécie, além do seu uso para a supressão de moscas através da aplicação no solo em programas como o Manejo Integrado de Pragas (MIP).

Por outro lado, em sistema de proteção biológica de conservação tem por objetivo a preservação dos inimigos naturais de pragas, presentes no agroecossistema, como parasitoides, patógenos e predadores (Landis, 2000). A presença de artrópodes como *F. auricularia* nos campos de olivais, é um dos predadores mais significativos no momento em que a mosca-da-azeitona sai do fruto para pupar no solo (Dinis, 2016). Há relatos que essa família de Forficulidae, possui mais de 1.700 espécies descritas, sendo considerada como uma das menores ordens de inseto, porém de grande importância (Zhang, 2011). Ainda conforme Baratella (2009)

os artrópodes pertencentes às ordens Dermaptera, Opiliones, assim como os pertencentes às famílias Formicidae, Carabidae etc., estão muitas vezes presentes nas copas, troncos, folhas e no solo dos olivais.

Visto que sua origem é Europeia, *F. auricularia* é facilmente encontrada nos olivais de Portugal. Neste ela desempenha um papel fundamental como predadora de insetos e reciclagem de matéria orgânica no solo (Kölliker, 2007; Baratella, 2009). De acordo com Dinis (2006), os indivíduos dessa espécie predominam a predação de larvas de *B. oleae* em períodos de inverno, momento no qual as larvas da mosca-da-azeitona saem para pupar no solo. Já em outro estudo semelhante realizado por Rosamara et al., (2022), avaliou o potencial de predação por *Euborellia annlipes* em larvas de *Drosophila melanogaster* (Diptera), concluindo que essa espécie da ordem Dermaptera é predadora de larvas da mosca-da-fruta.

2.5. Bicha-cadela, *Forficula auricularia* (Linnaeus, 1758)

2.5.1. Taxonomia

A tesourinha ou bicha-cadela, como é conhecida popularmente em Portugal ou cientificamente como *F. auricularia* na literatura, pertence à família Forficulidae, da ordem Dermaptera, sendo da Classe insecta, conforme o quadro 2.2 (Walker, 1933; Capinera, 2010).

Quadro 2.2. Sistemática da árvore taxonômica da *F. auricularia*. **Fonte:** Walker, 1933; Capinera, 2010).

Domínio: Eucariota

Reino: Animália

Phylum: Arthropoda

Classe: Insecta

Ordem: Dermaptera

Família: Forficulidae

Gênero: *Forficula*

Espécie: *auricularia*

A bicha-cadela, pode ser encontrada em diversas culturas agrícolas, possui hábitos de predação preferencialmente noturno, sendo considerada como um inseto onívoro, ou seja, seus

hábitos alimentares são diversificados, podendo preda diferentes tipos de presas (Capinera, 2010).

2.5.2. Distribuição geográfica

Atualmente a bicha-cadela é vista em quase todos os continentes do mundo (figura 2.8), conforme Linnaeus, seus primeiros registros foram em meados de 1758 na Europa, oeste da Ásia e norte da África, posteriormente sendo introduzida na América do Norte, Austrália e Nova Zelândia (Lamb, 1976). Especificamente na Europa, esse inseto é relatado desde tempos antigos, seu nome “Forficula” vem do latim, que significa “pequena tesoura”, devido às pinças (cercos) presentes no último segmento de seu abdômen (Horton, 2002).

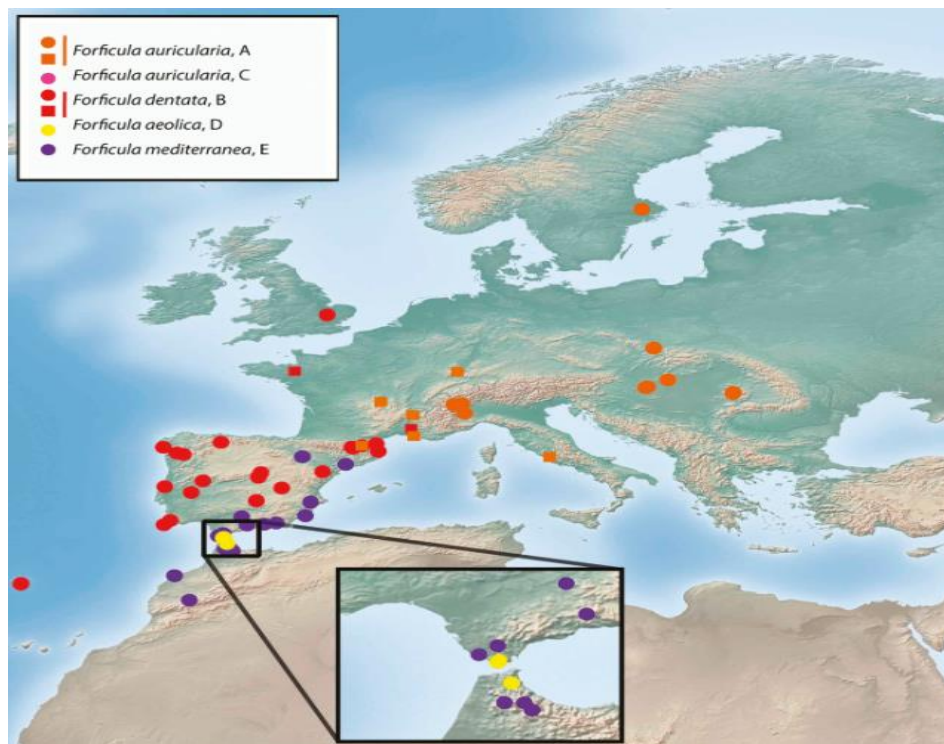


Figura 2.8. Distribuição geográfica de *F. auricularia* (Linnaeus, 1758), entre outras espécies desse gênero a nível Europeu. **Fonte:** Miguéns et al., 2020.

2.5.3. Morfologia

Adulto: Os adultos dessa espécie, normalmente em média medem entre 13 a 14 mm de comprimento (figura 2.9A), excluindo os cercos em forma de pinça, embora é possível encontrar indivíduos que sejam menores ou maiores (Walker, 1993; Horton, 2002). Suas antenas filiformes possuem 14 segmentos, em acordo com o desenvolvimento do inseto e o instar em que se

encontra, sendo estas, as responsáveis pelo olfato do inseto e servem principalmente para farejarem comida e identificar diferentes tipos de substâncias químicas e orgânicas na natureza (Horton, 2002). A característica da sua mandíbula desenvolvida, é do tipo mastigadora, logo a maxila, por conta do prognatismo é alongado, facilitando a trituração do alimento (Romeu, 2012). Em geral, sua coloração varia entre o castanho-escuro ao avermelhado, embora mais pálido ventralmente com características de tons castanho-claro em suas pernas, antenas, cercos e tórax (Lamb, 1975).

Os insetos adultos machos, apresentam cercos fortemente curvados (figura 2.9B), sendo ligeiramente arqueados e mais robusto, distinguindo facilmente das fêmeas. Já em relação aos cercos das fêmeas (figura 2.9C), essas se curvam levemente nas pontas (Jacob, 2009). Ainda conforme Jacob (2009), essas pinças variam de tamanho no decorrer de cada fase do inseto, essas variam entre 3 a 5 mm de comprimento, que tem por objetivo como um mecanismo de defesa, utilizada muitas vezes para enfrentar inimigos (Jacob, 2009).

Apesar da aparência de não possuírem asas, os insetos adultos apresentam longas asas traseiras (figura 2.10) dobradas sob as suas asas anteriores abreviadas. Entretanto, raramente se observa *F. auricularia* voarem, quando prontas para isso, esses indivíduos sobem sob topos de vegetação ou árvores e decolam de um alvo para outro (Horton, 2002).

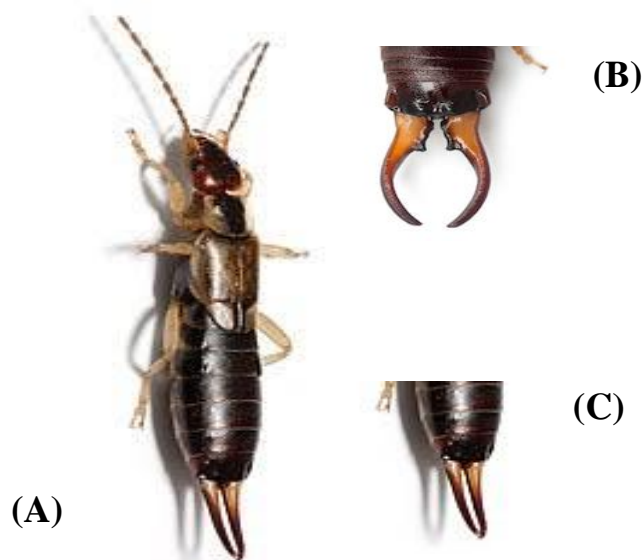


Figura 2.9. Bicha-cadela europeia fêmea em fase adulto, (A), cerco do inseto macho (B), cerco da fêmea (C). **Fonte:** Capineira, 2010.



Figura 2.10. Pormenor de asas anteriores da bicha-cadela. **Fonte:** Kasimir, 2021.

Ovos: Os ovos da bicha-cadela, possuem coloração branca perolada em formato oval elíptico (figura 2.11), podendo medir entre 0,80 a 1,10 mm de comprimento, quando recém-depositados, posteriormente os mesmo absorvem água, dobrando de tamanho antes de sua eclosão (Bruxton & Madge, 1974). Normalmente as fêmeas dessa espécie ovipositam seus ovos em galerias de 5 cm da superfície do solo, troncos de árvores ou em lugares ausentes de luz (Horton, 2002). O número médio de ovos depositados varia de 30 a 60 ovos no primeiro agrupamento, já no segundo agrupamento esse valor diminui para metade (Lamb, 1975). Seu tempo de eclosão varia muito conforme as condições climáticas, em média são 70 dias em condições de inverno, de 50 a 60 dias, a temperaturas primaveris (12 a 22°C) como na primavera (Bruxton & Madge, 1974). Segundo Horton (2002) a temperaturas mais altas (verão), de 23 a 35°C, a eclosão dos ovos ocorre apenas em 20 dias. Após a postura dos ovos, as fêmeas têm hábitos de proteção e cuidado, movendo os ovos, frequentemente de local de modo a evitar a proliferação de fungos e ataque de outros insetos (Bruxton & Madge, 1974).



Figura 2.11. Ovos de *F. auricularia* em agrupamento no solo. **Fonte:** Hedin, 2019.

Ninfas: As ninfas dessa espécie, passam por 5 instares até se tornarem insetos adulto (Jacob, 2009). O cerco, está presente desde o momento da sua eclosão, porém o mesmo, só é visível a partir do seu segundo instar, aumentando de tamanho e ganhando forma na medida que vai mudando de estágio (Lamb, 1974, 1975). Ainda conforme Lamb (1974), o mesmo acontece com os seus pares de asas, estando visivelmente a partir do quarto instar. Sua coloração nos primeiros instares varia entre branco perolado a castanho-claro (figura 2.12), contudo à medida que vai mudando de instar, a tonalidade do seu corpo vai ganhando mais pigmentos até atingirem as suas cores características (Cordeiro, 1974, 1975; Jacob, 2009).

O tamanho das ninfas, também variam conforme o estágio em que se encontram, normalmente no primeiro instar seu tamanho é de 4 mm, no segundo instar 5,5 mm, de 6,5 a 7 mm no terceiro instar, entre 8 e 9 mm no quarto instar e 9 e 13 mm no quinto instar (Horton, 2002). No entanto, a cada instar em que o inseto se encontra está diretamente relacionado ao seu ciclo de biológico, influenciado por condições como temperatura e disponibilidade de comida (Buxton & Madge, 1974).



Figura 2.12. Ninfa de *F. auricularia* macho em seu terceiro instar. **Fonte:** Tjarlz, 2021.

Sua geração se renova a cada 7 meses ao um ano, sendo esse ciclo de vida (figura 2.13) influenciado pelas condições climáticas. Nesse período, a hibernação ocorre em sua fase adulta, posteriormente as fêmeas depositam seus ovos em galerias no solo no final do inverno, com sua eclosão no final da primavera e início do verão (Walker, 1993).

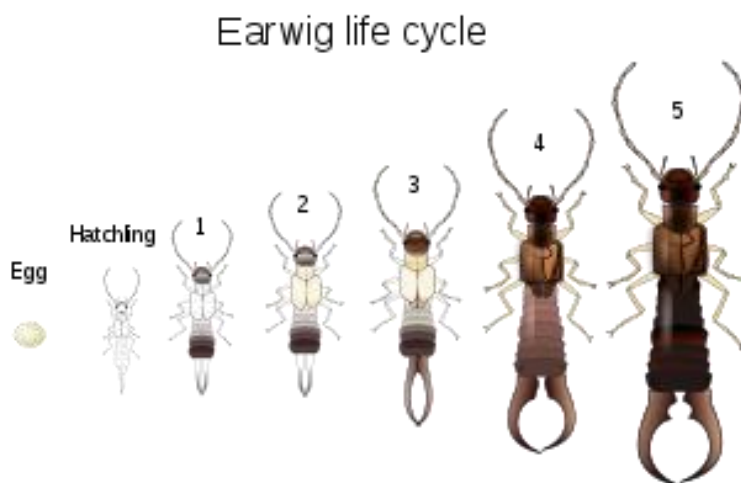
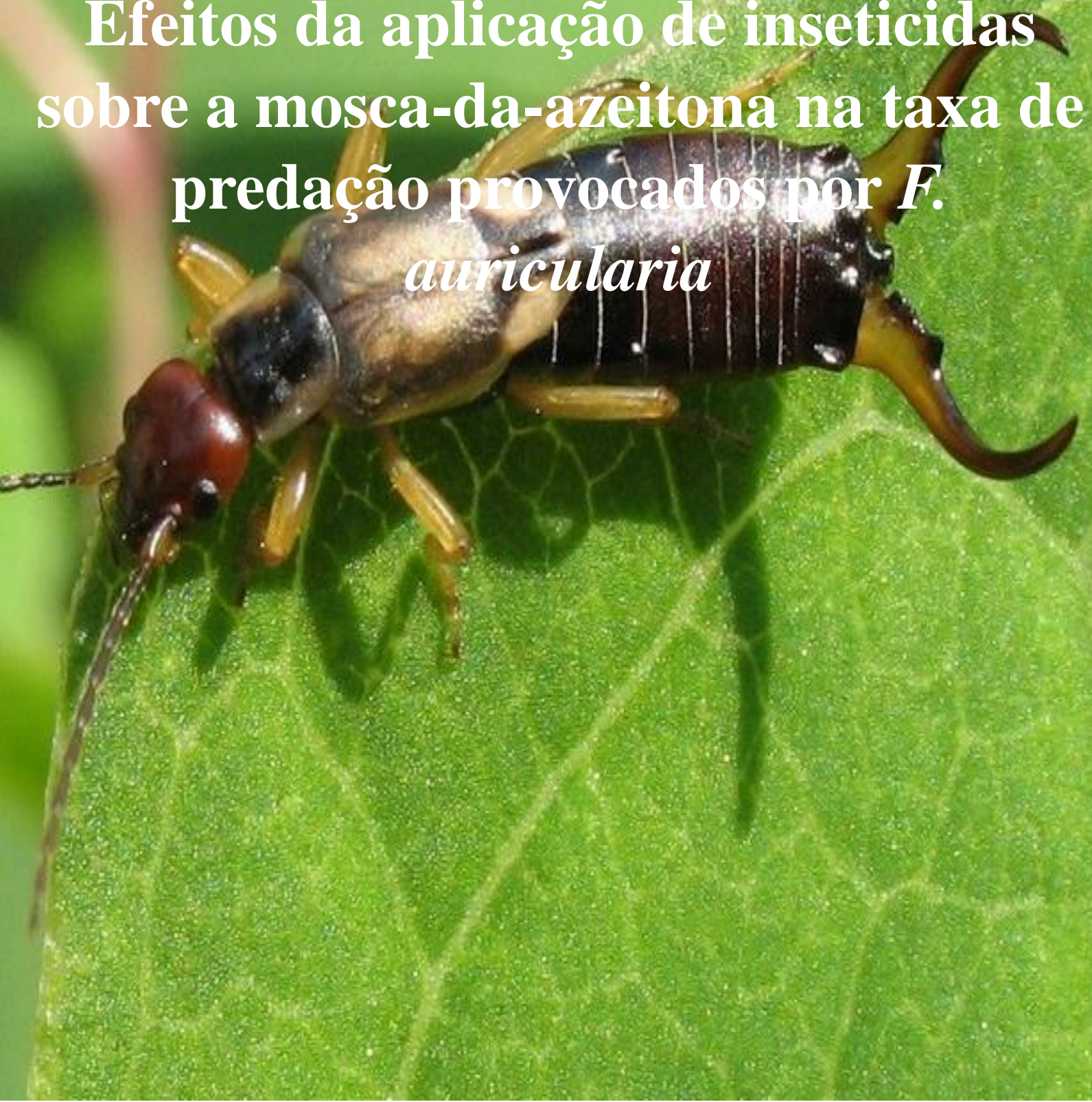


Figura 2.13. Ciclo de vida da *F. auricularia*. **Fonte:** Capineira, 2010.

CAPÍTULO 3

Efeitos da aplicação de inseticidas sobre a mosca-da-azeitona na taxa de predação provocados por *F. auricularia*



RESUMO

O uso de bioprodutos, como *Beauveria bassiana*, tem se tornado cada vez mais comum no controle da mosca-da-azeitona no solo. *F. auricularia* é um dos predadores mais abundantes durante o período em que a mosca-da-azeitona sai da azeitona para pupar no solo. No entanto, pouco se sabe sobre o efeito destes bioprodutos nos organismos não-alvo, como por exemplo os predadores do solo. Neste sentido, o objetivo deste trabalho foi avaliar os efeitos na taxa de predação de *F. auricularia* sobre larvas de 3º instar de *B. oleae*, quando expostas sobre produtos fitossanitários. Em laboratório, em três bandejas com terra esterilizada, foi aplicado um tratamento diferente a cada uma delas, inseticida biológico composto por *B. bassiana*, inseticida químico sintético pertencente ao grupo neonicotinoide e a testemunha sendo, água mais tween®. Após a aplicação de cada tratamento, 5 larvas de *B. oleae* foram colocadas em cada bandeja e onde permaneciam por um período de 10 minutos. Posteriormente as 5 larvas foram transferidas para uma placa de Petri com um adulto de *F. auricularia*. No total, para cada tratamento, foram utilizados 25 *F. auricularia* machos e 25 fêmeas, e um total de 750 larvas de *B. oleae*. O ensaio foi realizado à temperatura de $26 \pm 2^\circ\text{C}$, umidade relativa (HR%) de $65 \pm 10\%$ e fotoperíodo de 12 horas. A avaliação ocorreu após 24 horas, contabilizando a taxa de predação. *F. auricularia* predou nos três tratamentos, tendo as fêmeas consumido significativamente mais larvas que os machos. No caso das fêmeas observou-se um consumo significativamente maior de larvas que estiveram expostas na terra tratada com *B. bassiana* em relação as larvas expostas na terra tratada com água.

Palavras-chaves: Proteção biológica; Bioproduto; Insetos não-alvo; Mosca-da-azeitona.

3.1. Introdução

Nos últimos 50 anos, a proteção das culturas agrícola dependia sobretudo de pesticidas químicos sintéticos, cujo seu uso excessivo selecionaram pragas mais resistentes na agricultura (Georghiou, 1990). Devido a isso, táticas alternativas e novos produtos foram sendo adotadas na proteção das culturas. *Beauveria bassiana*, é um grande exemplo de bioinseticida difundido mundialmente no controle de diversas pragas, entre elas a mosca-da-azeitona (Hamzah, 2021).

Em produções de olivais tradicionais em Portugal, a proteção contra a mosca-da-azeitona é crucial para garantir a sua produtividade e qualidade (Hladnik, 2017). Logo a presença de *F. auricularia* nesse sistema de produção é fundamental na predação dessa praga (Daane et al., 2004). Sua aptidão em predação de larvas da mosca-da-azeitona, praga na qual causa grandes danos econômicos na cultura, ocorre no seu último estágio larval, momento em que a larva busca o solo para pupar, (Kölliker, 2007; Dinis, 2016).

Por outro lado, pouco se sabe sobre o efeito do uso desses bioprodutos em insetos não-alvo, e como estes afetam o seu comportamento. Conforme estudo realizado por Ndakidemi et al. (2016) nos ajuda a compreender os efeitos secundários de bioinseticidas sobre insetos não-alvo e como estes impactam negativamente na sua fisiologia.

Este capítulo, teve como objetivo avaliar o efeito da aplicação do fungo entomopatogênico *B. bassiana* e inseticida químico sintético pertencente ao grupo dos neonicotinoide em larvas de *B. oleae* na atividade predatória de *F. auricularia* em condições de laboratório.

3.2 Materiais e métodos

3.2.1. Local em que se realizou o estudo

O trabalho foi realizado no laboratório de Agro-Biotecnologia-Insetos, da Escola Superior Agrária do Instituto Politécnico de Bragança (IPB), especificamente. Os experimentos, se realizaram, em condições controladas, com temperaturas de $26 \pm 2^\circ\text{C}$, humidade relativa (HR%) de $65 \pm 10\%$ e fotoperíodo de 12 horas.

3.2.2. Obtenção dos insetos

Através do auxílio de papelões canelados envolvidos nos troncos das árvores (figura 3.1A e B), os predadores *F. auricularia*, foram coletados na fase adulta, num olival na aldeia de

Romeu (41° 31' 42"N, 7° 03' 37"O), concelho de Mirandela, e nas azeiteiras do *campus* do IPB (41° 47' 47.50918"N, 6° 45' 5.71990"W). Os insetos, ao chegarem ao laboratório, foram separados por o sexo, colocados em caixa de criação (25x35x5 cm) e alimentados com dieta à base de ração de aves. Antes de iniciar os experimentos, para reduzir as diferenças relacionadas com os níveis variáveis de fome, as *F. auricularia* foram individualmente submetidas à privação de alimento (jejum) por 48 horas dentro de placas de Petri de vidro esterilizadas (100 x 20 mm), contendo uma gota de hidrogel (figura 3.2.).

Para a coleta das larvas de *B. oleae*, foram colhidas azeitonas infestadas com mosca-da-azeitona no lagar da Casa de Santo Amaro, localizado em Sucções (41° 29' 48"N, 7° 15' 31"O), concelho de Mirandela. As azeitonas foram despejadas em peneiras (37x57x7cm), sobre caixas plásticas (37x57x7cm) com a finalidade de coletar as larvas ao cair do fruto no fundo das caixas (figura 3.3.). Foram colocadas as peneiras em dois ambientes diferentes, dentro e fora da sala de criação. O objetivo, era controlar a queda das larvas através do fruto, uma vez que, em temperaturas mais altas, observou-se que sua queda era de maior frequência.

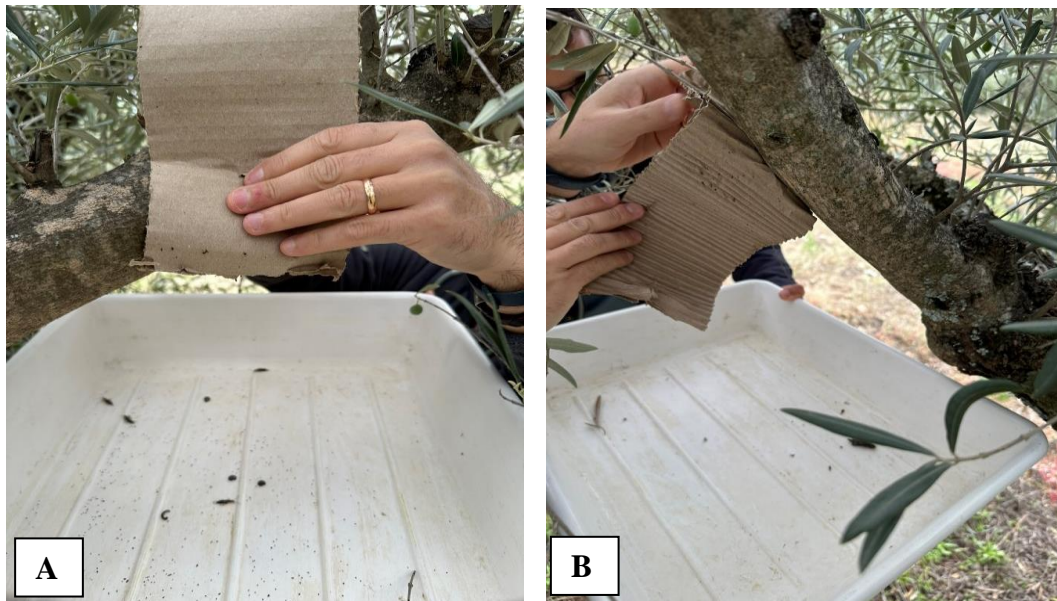


Figure 3.1. Coleta das *F. auricularia* em Romeu, (A) Coleta no IPB, (B).



Figure 3.2. *F. auricularia* em jejum por 48 h, contendo uma gota de hidrogel.



Figure 3.3. Caixas contendo azeitonas para a coleta das larvas de 3^o instar de *B. oleae*.

3.2.3. Preparação dos produtos à base de *Beauveria bassiana* e neonicotinoide

Para a realização dos experimentos, foi utilizado o bioproduto NATURALIS[®] à base de *B. bassiana* estirpe ATCC 74040, o inseticida químico sintético pertencente ao grupo dos neonicotinoide EPIK SG[®] e água destilada com 1 gota de Tween[®]. Os tratamentos utilizados nos experimentos foram preparados através da dosagem comercial de cada produto, conforme o quadro 3.1. Posteriormente, adicionadas em frascos plásticos com capacidade de 1 litro (figura

3.4.), e após utilização eram armazenadas no frigorífico à 6° C, sendo semanalmente preparadas novas soluções.



Figure 3.4. Produtos utilizados nos diferentes tratamentos.

Quadro 3.1. Tratamentos utilizados no ensaio de predação, conforme a dosagem comercial.

TRATAMENTOS	AGENTES	CONCENTRAÇÕES
CONTROLO	Água+Tween®	50 µL (gota)/L
1	<i>Beauveria bassiana</i> (NATURALIS®)	2.3x10 ⁻¹⁰ UFC/L
2	Neonicotinoide (EPIK SG®)	17 g/hL

Para este ensaio, foram preparadas 3 bandejas (25x35x5cm), contendo 1/3 do seu volume, terra esterilizada, sendo esta, trocada toda as vezes, conforme a realização dos experimentos. Em cada bandeja, foi borrifado um tratamento, até observar que toda a terra, estava molhada com o produto (figura 3.5.). Em seguida, larvas do 3° instar de *B. oleae* foram colocadas sobre a terra, durante um período de 10 minutos. Após isso, para cada repetição, foram colocadas 5 larvas da mosca-da-azeitona por placa de Petri com um adulto de *F. auricularia*. No

total, foram usadas 25 *F. auricularia* machos e 25 fêmeas por tratamentos e 750 larvas. Os ensaios foram realizados em condições controladas, conforme supracitado no capítulo 3.2.1. A avaliação das larvas predadas foi realizado 24 h após a colocação das larvas.

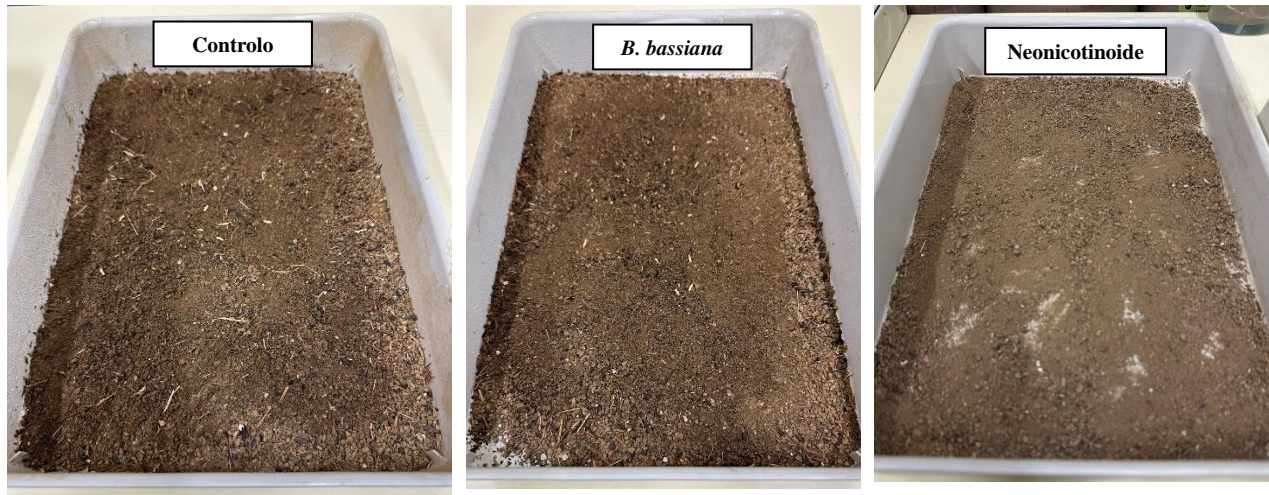


Figure 3.5. Bandejas com terra esterilizada após a borrifação dos diferentes tratamentos, água (Controlo), bioproduto à base de *B. bassiana*, e inseticida químico sintético.

3.3. Análise de dados

A análise de dados foi realizada utilizando o software R versão 3.5.3 (R Development Core Team (2019)). A variável resposta, “percentagem de predação de *F. auricularia*” foi analisada usando um Modelo Linear Generalizado (GLM) com uma distribuição binomial com a função *logit*. As variáveis explicativas utilizadas no modelo foram “Tratamento” (Controlo, *B. bassiana* e Neonicotinoide), e “sexo” (fêmea vs. macho) como fatores e interação dos dois fatores. Quando se observaram diferenças significativas nas variáveis explicativas, foi efetuado um teste Tukey para análise post-hoc (pacote emmeans, software R).

3.4. Resultados

Tanto machos como fêmeas de *F. auricularia* predaram larvas da mosca-da-azeitona nos três tratamentos (figura 3.6.). As fêmeas de *F. auricularia* consumiram significativamente ($X^2 = 94,1$; g.l = 1; $P < 0,001$), mais larvas que os machos, independentemente do tratamento em que as larvas da mosca-da-azeitona foram submetidas (figura 3.6.). No entanto, observou-se uma maior taxa de predação das fêmeas ($X^2 = 8,1$; g.l = 2; $P = 0,02$) sobre larvas expostas no solo tratado com *B. bassiana* em comparação ao Controlo (figura 3.6.).

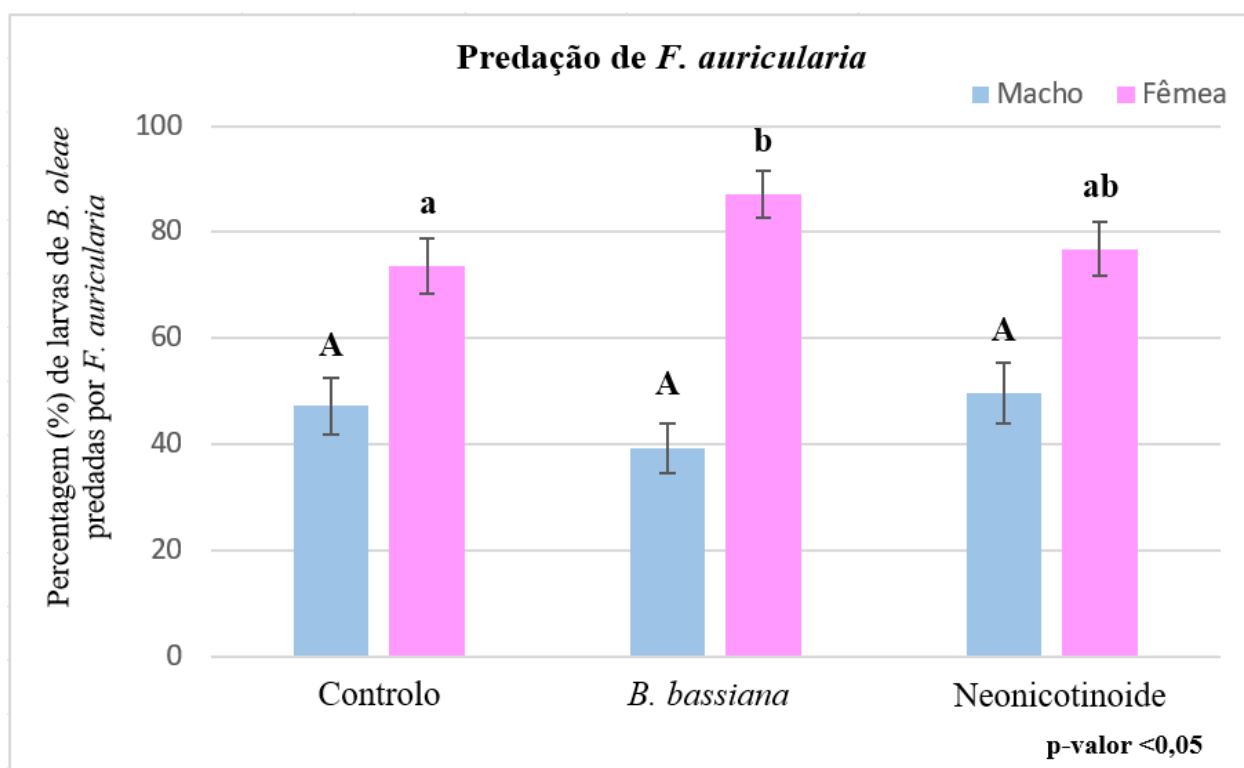


Figura 3.6. Média \pm erro padrão da percentagem de predação dos machos e fêmeas de *F. auricularia* sobre larvas do 3^o instar de *B. oleae* tratadas com água (controle), *B. bassiana* e neonicotinoide em 24 h de avaliação. Letras minúsculas e maiúscula representam a comparação entre tratamentos para as fêmeas e machos, respetivamente. Letras diferentes, representam diferenças significativas entre tratamentos (Tukey, $P < 0,05$).

3.5. Discussão

Neste estudo, observou-se que tanto fêmeas como machos de *F. auricularia* foram capazes de predação larvas do 3^o instar de *B. oleae* tratadas com o bioproduto à base de *B. bassiana*

e com o produto de síntese, neonicotinoide. Dinis et al., (2016), observou que *F. auricularia* era um dos principais predadores desta praga em campo. Adulto de *Doru luteipes* (Dermaptera: Forficulidae), mostrou ser tolerantes aos inseticidas (Simões et al., 1998). Tal como neste estudo, (Weiss & McDonald, 1998) observou que as fêmeas de *F. auricularia*, possuem hábitos de predação superior ao dos machos. Tal como neste estudo, as fêmeas de *Euborellia annlipes* L. (Dermaptera) predaram mais larvas de mosca-da-fruta, em relação aos machos (Rosamara et al., 2022).

Neste trabalho, observou-se uma maior predação das fêmeas de *F. auricularia* em larvas tratadas com *B. bassiana* em relação às larvas apenas tratadas com água. Simões et al., (1998), observou a tolerância de diferentes inseticidas químicos e bioprodutos no comportamento da *Dorus luteipes* (Dermaptera: Forficulidae), sendo os adultos dessa espécie tolerantes aos inseticidas. Semelhante resultado foi encontrado por Moreira et al., (2002), que avaliou a exposição de diferentes inseticidas químicos e bioinseticidas na resposta fisiológica da *D. luteipes*, concluindo que adultos dessa espécie foram resistentes para estes fitossanitários utilizados.

Ainda neste estudo, foi observado que após as larvas de *B. oleae* serem submetidas em placas de Petri, independente do tratamento a qual foram expostas, em média 3 horas após, as mesmas já se encontravam em fase de pupa, sendo este estágio, não atrativo na atividade predatória de *F. auricularia*, visto que esta espécie não preda pupas de *B. oleae* conforme observado no experimento. Logo, o fato das larvas tratadas com *B. bassiana* terem sido significativamente mais predadas por *F. auricularia*, pode ser devido a ação do produto sob as larvas deixando-as imóveis e sem resquícios de odor, consequentemente facilitando sua atividade predatória. Já para o tratamento com neonicotinoide, as larvas em contato com o produto também ficava imóveis, no entanto, estas exalava ligeiramente o odor do produto.

3.6. Conclusão

Os resultados obtidos no decorrer deste ensaio, apontam que machos e fêmeas de *F. auricularia* predaram larvas do 3^o instar de *B. oleae* tratadas com água (Controlo), *B. bassiana* e Neonicotinoide. Contudo, a maior taxa de predação ocorreu pelas *F. auricularia* fêmeas sobre larvas expostas no solo tratadas com *B. bassiana*. Além disso, foi observado que as fêmeas dessa espécie, predaram mais larvas (>70%) de mosca-da-azeitona em todos os tratamentos, do que os machos (<60%), respectivamente.

CAPÍTULO 4

Sobrevivência de *F. auricularia*
quando alimentadas com larvas de *B.*
oleae expostas aos inseticidas



RESUMO

A mosca-da-azeitona é uma praga que causa grandes danos econômicos nos olivais em Portugal. O uso de inseticidas tem se tornado cada vez mais comum. A presença de artrópodes predadores de solos, tais como *F. auricularia* é fundamental na proteção contra essa praga, principalmente em olivais em modo de proteção biológica. No entanto, pouco se sabe sobre o efeito do uso de inseticidas químicos e bioinseticidas no comportamento desse predador. Neste sentido, o objetivo deste trabalho foi avaliar a sobrevivência de *F. auricularia* machos e fêmeas, quando alimentadas com larvas de *B. oleae* expostas a produtos fitossanitários, durante 25 dias consecutivos em condições de laboratório. Em três bandejas com terra esterilizada, foi aplicado um tratamento diferente a cada uma delas, inseticida biológico composto por *B. bassiana*, inseticida químico sintético pertencente ao grupo neonicotinoide e o controle, (água mais tween®). Após a aplicação de cada tratamento, larvas de *B. oleae* foram colocadas e onde permaneceram por 10 minutos. Posteriormente 1 larva era transferida para uma placa de Petri com um adulto de *F. auricularia*. No total, para cada tratamento, foram utilizados 25 *F. auricularia* machos e 25 fêmeas. O ensaio foi realizado à temperatura de $26 \pm 2^\circ\text{C}$, humidade relativa de $65 \pm 10\%$ e fotoperíodo de 12 horas. A avaliação ocorreu no decorrer de 25 dias sucessivos, onde diariamente se registava a predação da larva e a sobrevivência dos insetos. A maioria (> 60%) das *F. auricularia* sobreviveram durante os 25 dias, independentemente do tipo de tratamento aplicado às larvas da mosca-da-azeitona. No entanto, os machos mostraram uma menor sobrevivência quando alimentados com larvas expostas ao neonicotinoide em relação as larvas expostas na terra tratada com água.

Palavras-chaves: Bicha-cadela; Sobrevivência; Bioprodutos; Insetos não-alvo.

4.1. Introdução

A preservação de artrópodes nos agroecossistemas é fundamental, principalmente na proteção contra pragas que trazem danos econômicos na agricultura (Baratella, 2009). Visto que esse filo, em sua grande maioria são predadores de larvas, como em acordo com trabalho realizado por Dinis et al., (2016).

F. auricularia é um exemplo de inseto predador generalista contra a mosca-da-azeitona em olivais tradicionais como os encontrados em Portugal (Hlandnik, 2017). Esse possui grande aptidão em predação de larvas da mosca-da-azeitona, momento no qual a larva saem dos frutos dos olivais em direção ao solo para pupar (Dinis, 2016). Todavia o uso de inseticidas químicos e bioprodutos no controle da mosca-da-azeitona está cada vez mais aumentando na proteção contra essa praga (Jordão, 2014). Visto que seus danos econômicos, causados por esta mosca, trazem prejuízos diretos e indiretos na produção e na qualidade das azeitonas (Neuenschwander et al., 1986; Tzanakakis, 2006).

Por outro lado, pouco se sabe dos impactos que o uso desses fitossanitários no controle da mosca-da-azeitona trazem em insetos não-alvo, como em *F. auricularia*, e como esses afetam na sua fisiologia e comportamento. Trabalhos como de Laure et al., (2015), ajuda a compreender como o efeito do uso de inseticidas químico sintético impacta negativamente na sobrevivência desses predadores em seus agroecossistemas.

Diante o exposto, esse capítulo teve como objetivo avaliar a sobrevivência em 25 dias das *F. auricularia* machos e fêmeas, quando alimentadas com larvas de *B. oleae* expostas em produtos à base de *B. bassiana* e inseticida químico sintético pertencente ao grupo dos neonicotinoídeos, em condições de laboratório.

4.2. Materiais e métodos

4.2.1. Local em que se realizou o estudo

O local em que se realizou o trabalho, ocorreu conforme já mencionado no capítulo 3.2.1.

4.2.2. Ensaio de sobrevivência

A obtenção dos materiais utilizados neste ensaio e a preparação dos produtos se repetem conforme os capítulos 3.2.2. e 3.2.3. respectivamente.

O processo inicial neste ensaio de sobrevivência, ocorreu concomitantemente ao primeiro parágrafo até a quarta linha do segundo parágrafo do capítulo 3.2.3., respectivamente.

Em seguida, para cada tratamento composto por 25 *F. auricularia* machos e 25 fêmeas individualmente em placas de Petri, eram alimentadas diariamente com uma larva do 3° instar de *B. oleae*, por um período de 25 dias sucessivos, em condições de laboratório (capítulo 3.2.1.).

O parâmetro de avaliação ocorreu no decorrer dos 25 dias, observando a sobrevivência das *F. auricularia* machos e fêmeas.

4.3. Análise de dados

A análise de dados foi realizada utilizando o software R versão 3.5.3 (R Development Core Team 2019). As curvas de sobrevivência de machos e fêmeas de *F. auricularia* para cada “Tratamento” (Controlo, *B. bassiana* e neonicotinoide) foram calculadas usando o método de Kaplan-Meier e comparadas através do teste Log-rank. Para isso, foram utilizados os pacotes survival (Therneau et al. 2022) e survminer (Kassambara et al. 2021) do software R.

4.4. Resultados

Tanto machos (figura 4.1.) como fêmeas (figura 4.2.) de *F. auricularia* alimentadas durante 25 dias consecutivos com larvas de mosca-da-azeitona tratadas com água (Controlo), *B. bassiana* e neonicotinoide, apresentaram uma alta (> 60%) sobrevivência, independentemente do tratamento. Sendo que no caso das fêmeas de *F. auricularia* não se observaram diferenças significativas na sobrevivência (figura 4.2., quadro 4.1.), mas no caso dos machos, foi possível observar menor sobrevivência ($X^2 = 4,4$; g.l. = 1; P = 0,04) quando alimentados com larvas tratadas com neonicotinoide em relação ao controlo (figura 4.1., quadro 4.1.).

Visto que o p-valor ilustrado na curva de sobrevivência dos machos de *F. auricularia* (figura 4.1.) representa a análise dos dados entre todos os tratamentos. Entretanto, quando realizado esta mesma análise entre dois à dois tratamentos (quadro 4.1.), observou-se diferença significativas.

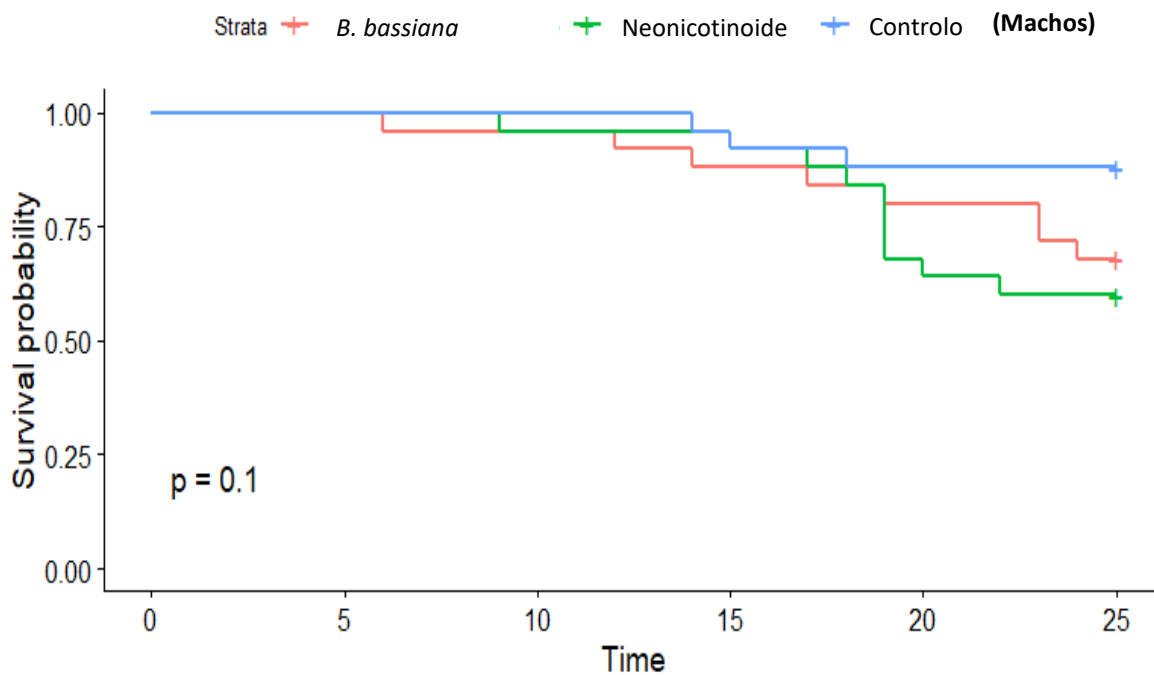


Figura 4.1. Sobrevivência dos machos de *F. auricularia*, quando alimentadas durante 25 dias sucessivos com larvas de *B. oleae* expostas em terra tratada com água (controle), *B. bassiana* e neonicotinoide.

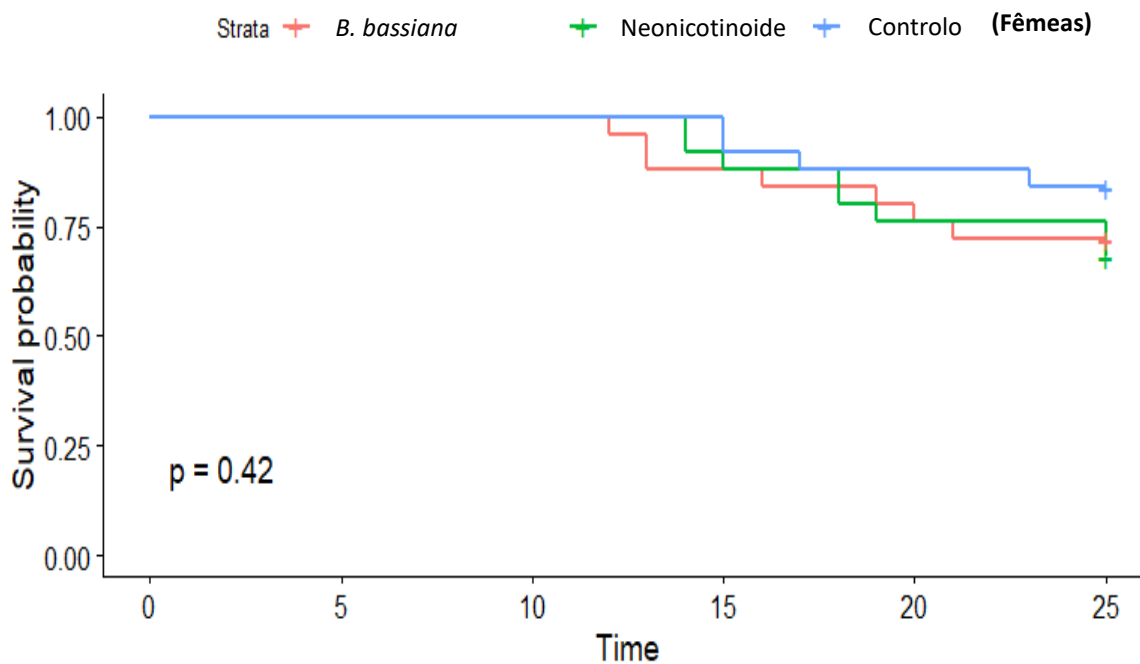


Figura 4.2. Sobrevivência das fêmeas de *F. auricularia*, quando alimentadas durante 25 dias sucessivos com larvas 3° instar de *B. oleae* expostas em terra tratada com água (controle), *B. bassiana* e neonicotinoide.

Quadro 4.1. Resultados dos testes de Log-rank, comparando de forma pareada as curvas de sobrevivência de Kaplan-Meier dos tratamentos para machos e fêmeas de *F. auricularia*.

TRATAMENTOS	MACHOS			FÊMEAS		
	Chisq	df	p-valor	Chisq	df	p-valor
Controlo vs. <i>Beauveria bassiana</i>	2,7	1	0,1	1,1	1	0,3
Controlo vs. Neonicotinoide	4,4	1	0,04	1,6	1	0,2
<i>Beauveria bassiana</i> vs. Neonicotinoide	0,3	1	0,6	0	1	0,8

4.5. Discussão

Neste estudo, observou-se que a maioria dos machos e fêmeas de *F. auricularia* foram capazes de sobreviver após 25 dias de serem alimentados com larvas expostas nos diferentes produtos fitossanitários (Controlo, *B. bassiana* e neonicotinoide). No entanto observou-se uma maior mortalidade nos machos que se alimentaram com larvas tratadas com neonicotinoide. Semelhante resultados foram observados por Laure et al., (2015), onde a sobrevivência de machos de *F. auricularia* L., quando alimentadas com pulgões da macieira (*Eriosoma lanigerum* H.) exposto a inseticidas químicos sintéticos, entre estes, o Acetamiprida (neonicotinoide) foi significativamente menor (< 28%) em comparação ao controlo. Também Heidrun et al., (2010) observou alta sobrevivência de *F. auricularia* em pomares de macieira durante 10 semanas consecutivas quando expostas a quatro inseticidas químicos sintéticos (tiaclopride, espinosade, indoxacarbe e flonicamida). No qual o inseticida pertencente ao grupo dos neonicotinoides (tiaclopride), apresentou redução de 56% na sobrevivência da *F. auricularia*, quando comparado com a população controlo.

Os resultados deste estudo estão de acordo com o observado por Queiroz, et al., (2011), para o caso da dermaptera (*Euborellia annulipes* L.), quando exposta em solo tratado com o bioproduto à base de *B. bassiana*, tanto para machos como fêmeas, não houve um efeito negativo, quando comparado com o Controlo, e com sobrevivências entre 80 e 100%, respetivamente.

4.6. Conclusão

Machos e fêmeas de *F. auricularia* sobreviveram durante um período de 25 dias consecutivos quando alimentados com larvas de 3º instar de *B. oleae* tratadas com *B. bassiana* e neonicotinoide. No entanto, a alimentação contínua com larvas de mosca-da-azeitona tratadas com o inseticida neonicotinoide pode contribuir para um aumento da mortalidade de machos de *F. auricularia*.

CAPÍTULO 5

EMERGÊNCIA DE PUPAS DA
MOSCA-DA-AZEITONA



RESUMO

A mosca-da-zeitona é uma das principais pragas do olival, causando grandes danos econômicos. A medida de controle mais comumente usada é a aplicação de inseticidas químicos sintéticos. No entanto, o uso de bioprodutos à base de fungos entomopatogênicos tem vindo a aumentar. Neste sentido, o objetivo deste trabalho foi avaliar os efeitos da aplicação de um bioproduto à base de *B. bassiana*, e dum inseticida químico sintético pertencente ao grupo dos neonicotinoides na emergência da mosca de *B. oleae*. Em condições controladas, em bandejas com terra esterilizada, foi aplicado um tratamento diferente a cada uma delas, bioproduto composto por *B. bassiana*, inseticida químico sintético pertencente ao grupo neonicotinoide e água mais tween®(controlo). Após a aplicação de cada tratamento, 5 larvas de *B. oleae* foram colocadas em cada bandeja e onde permaneciam por um período de 10 minutos. Posteriormente as 5 larvas foram transferidas para uma placa de Petri. No total, foram realizadas 19 repetições por tratamento (95 larvas por tratamento). O ensaio foi realizado à temperatura de $26 \pm 2^\circ\text{C}$, humidade relativa de $65 \pm 10\%$ e fotoperíodo de 12 horas. Avaliou-se o tempo (dias) que os adultos tardaram a emergir assim como a taxa de emergência. A taxa de adultos emergidos foi superior aos 80% independentemente do tratamento aplicado nas larvas. No entanto observou-se maior tempo na sua emergência nos tratamentos com *B. bassiana* e neonicotinoide.

Palavras-chaves: Mosca-da-zeitona; Produtos fitossanitários; Emergência;

5.1. Introdução

Portugal se destaca como um dos principais países dentro da União Europeia produtor de azeitonas de mesa e azeite, sendo o olival de grande importância econômica, cultural e histórica (Ray et al., 2015). Sua maior predominância se encontra nas regiões do Alentejo, Trás-os-Montes, Beira interior e Ribatejo, mas podendo ser possível à sua presença por todo o país (Bento, 1999).

Bactrocera oleae é uma das pragas chave desta cultura, causando grandes danos econômicos para os agricultores (Vivero et al., 2014). É na fase larval que esta praga causa os prejuízos econômicos, consumindo com voracidade o mesocarpo do fruto, até saírem do mesmo para pupar no solo (Neuenschwander et al., 1986; López-Villalta, 1999). Os danos são causados no fruto, mas podem influenciar a qualidade do seu produto, o azeite (Dolci & Perrin, 2018). Como medidas diretas de proteção contra a mosca-da-azeitona, o mais comumente usado é a aplicação de produtos químicos sintéticos, e o uso de bioprodutos à base de fungos entomopatogênico (Torres, 2007a).

Este capítulo, teve como objetivo avaliar o efeito da aplicação do fungo entomopatogênico *B. bassiana* e inseticida químico sintético pertencente ao grupo dos neonicotinoídeos em larvas de *B. oleae* na sua sobrevivência (taxa de emergência) e tempo até à emergência dos adultos, em condições de laboratório. De acordo com Bissolli et al., (2014), este tipo de bioensaios ajuda a compreender a patogenicidade de bioinseticidas no controle de pragas, e seus efeitos na taxa e no tempo de sua emergência.

5.2. Materiais e métodos

5.2.1. Local em que se realizou o estudo

O local do trabalho realizado, ocorreu conforme já mencionado no capítulo 3.2.1.

5.2.2. Ensaio de emergência

A obtenção dos materiais utilizados no ensaio e a preparação dos produtos se repetem conforme os capítulos 3.2.2. e 3.2.3. respectivamente.

O processo inicial neste ensaio de emergência, ocorreu concomitantemente ao primeiro parágrafo até a quarta linha do segundo parágrafo do capítulo 3.2.3., respectivamente.

Em seguida, nos três tratamentos para cada repetição, foram colocadas 5 larvas da mosca-da-azeitona por placa de Petri, com 19 repetições por tratamento, totalizando 285 larvas

em todo o ensaio. Os ensaios foram realizados em condições controladas, conforme supracitado no capítulo 3.2.1. A avaliação ocorria em acordo com a taxa de emergência e o tempo de emergência das mosca-da-azeitona.

5.3. Análise de dados

A análise de dados foi realizada utilizando o software R versão 3.5.3 (R Development Core Team 2019). A variável resposta, “percentagem de adultos de *B. oleae* emergidos” foi analisada usando um Modelo Linear Generalizado (GLM) com uma distribuição binomial com a função *logit*. No caso da variável resposta, “tempo de emergência de *B. oleae*” esta foi analisada usando um Modelo Linear Generalizado (GLM) com uma distribuição gaussiana. A variável explicativa utilizada em ambos os modelos foi “Tratamento” (Controlo, *B. bassiana* e Neonicotinoide). Quando se observaram diferenças significativas na variável explicativa, foi efetuado um teste Tukey para análise post-hoc (pacote emmeans, software R).

5.4. Resultados

Nas larvas de mosca-da-azeitona, expostas em terra tratada com água (Controlo), *B. bassiana* e neonicotinoide, observou-se uma elevada emergência de adultos (> 80%) em todos os tratamentos (figura 5.1.), e onde não se observaram diferenças significativas entre os tratamentos ($X^2 = 3,43$; g.l = 2; $P = 0,18$). No entanto, as larvas tratadas com *B. bassiana* e neonicotinoide necessitaram significativamente mais tempo ($X^2 = 45,47$; g.l = 2; $P < 0,001$) para chegar à fase adulta (emergir) em relação ao controlo (figura 5.2.).

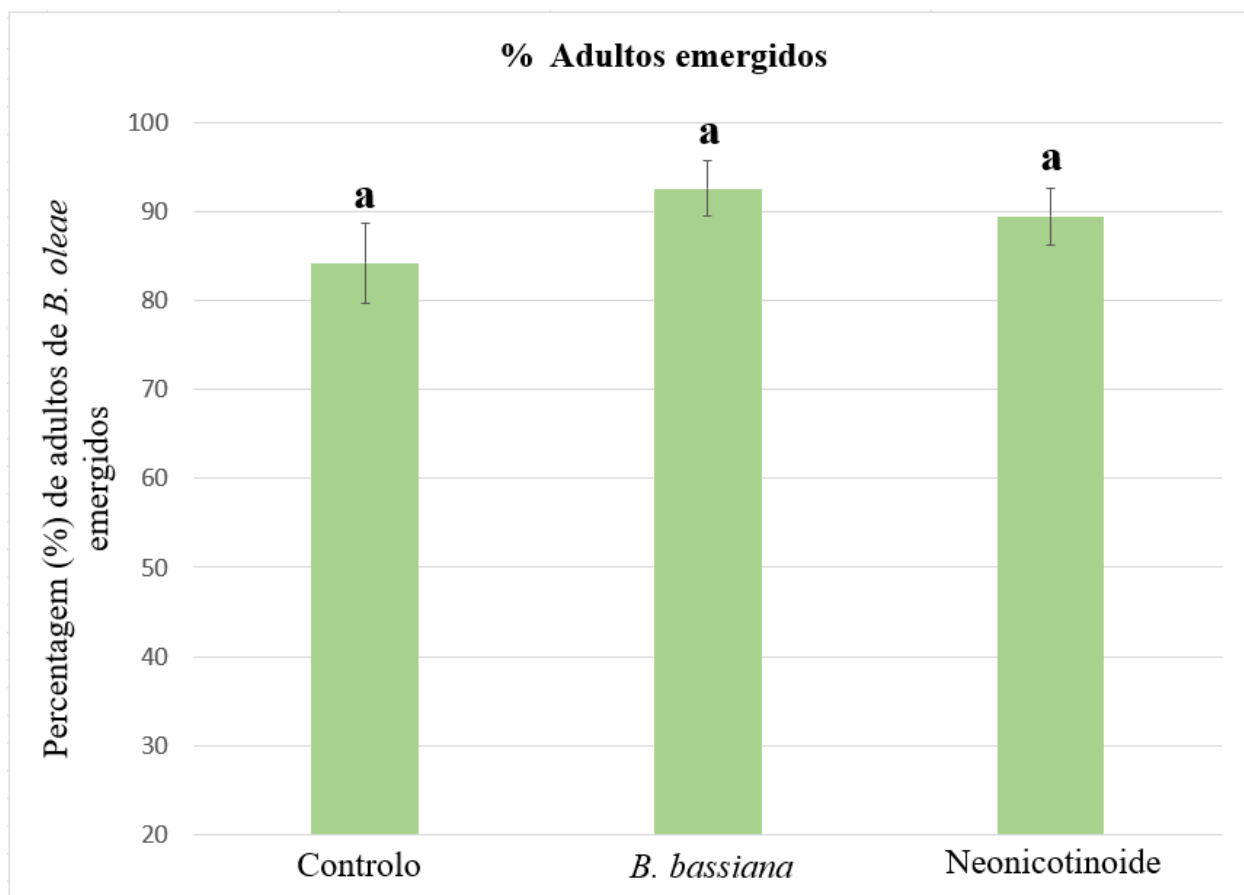
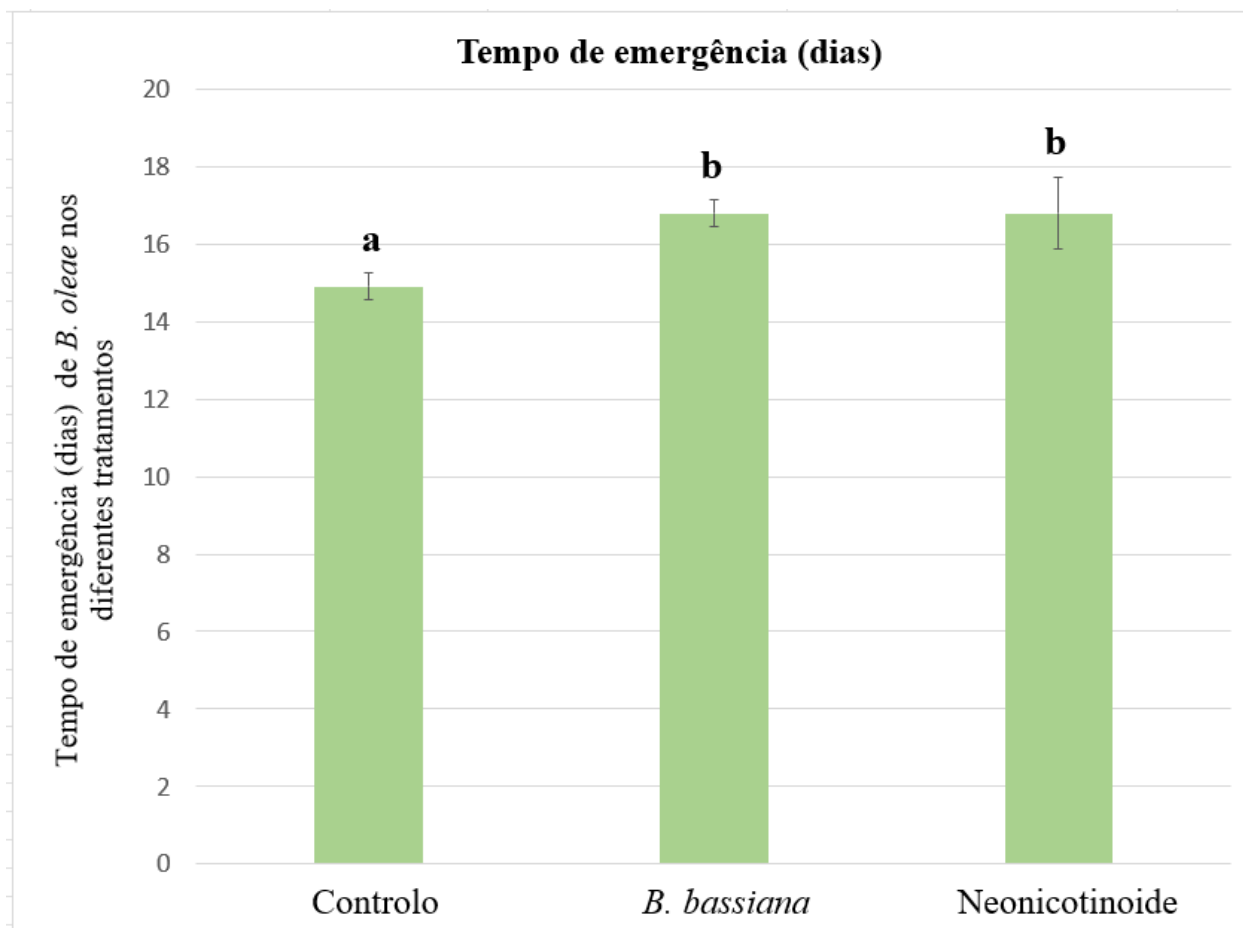


Figura 5.1. Média \pm erro padrão da percentagem da mosca-da-azeitona emergida, nos tratamentos com água (controlo), *B. bassiana* e neonicotinoide. Barras com letras diferentes representam diferenças significativas entre tratamentos (Tukey, $P < 0,05$).



p -valor < 0,05

Figura 5.2. Média \pm erro padrão do tempo de emergência (dias) da mosca-da-azeitona, tratada com água (controlo), *B. bassiana* e neonicotinoide. Barras com letras diferentes representam diferenças significativas entre tratamentos (Tukey, $P < 0,05$).

5.5. Discussão

Neste estudo, observou-se que a maioria das moscas-da-azeitona foram capazes de chegar à fase adulta independentemente do tratamento em que as larvas estiveram expostas. No entanto, e embora a mortalidade não tenha sido afetada pelo efeito dos tratamentos, o tempo até há emergência do adulto deste inseto, foi afetado, necessitando mais tempo quando as larvas foram tratadas com *B. bassiana* e neonicotinoide. Estes resultados estão em acordo com o observado por Bissolli et al., (2014), para a mosca-da-fruta, *Ceratitis capitata* (Wiedemann, 1824), com o retardamento da emergência, quando tratada com *B. bassiana* em comparação ao

controle. Resultados semelhantes foram observados por Ismail et al., (2022), onde observou que aplicação de *B. bassiana* no solo não afeta a emergência e sobrevivência de *Bactrocera zonata* (Saunders, 1842), e mesmo a diferentes concentrações. No entanto, o tempo de emergência foi afetado à medida que as concentrações aumentavam (Ismail et al., 2022). Já no estudo realizado por Coelho (2017), que avaliou a patogenicidade de quatro isolados de *B. bassiana*, estes foram capazes de reduzir a emergência de adultos de *B. oleae* e aumentar a taxa de mortalidade (variando de 20 a 96%) quando comparados ao controle

Por outro lado, a aplicação de inseticida pertencente ao grupo dos neonicotinoides em pupas de *Bactrocera dorsalis* (Handel, 1912), provocou uma redução na taxa de emergência e um aumento no seu tempo de emergência (Yuan et al., 2022).

5.6. Conclusão

A emergência de adultos da mosca-da-azeitona, não foi afetada pela aplicação do fungo entomopatogênico *B. bassiana* ou pelo inseticida químico sintético neonicotinoide. No entanto, a aplicação destes produtos nas larvas da mosca-da-azeitona, aumentaram o tempo até a emergência do adulto.

CONCLUSÃO GERAL



Os resultados obtidos neste trabalho, mostraram que as fêmeas de *F. auricularia* predam mais larvas de mosca-da-azeitona que os machos, independentemente do tratamento. As fêmeas de *F. auricularia* predam mais larvas de mosca-da-azeitona quando estas foram tratadas com o bioinseticida à base de *B. bassiana*, em comparação com larvas tratadas com água (controle).

Por outro lado, mesmo quando as *F. auricularia* foram alimentadas durante 25 dias com larvas tratadas com os produtos fitossanitários (*B. bassiana* e neonicotinoide), se observou uma elevada sobrevivência (>60%). No entanto, observou-se uma sobrevivência significativamente menor nos machos de *F. auricularia*, quando alimentados com larvas tratadas com neonicotinoide em comparação com o controle.

Por último, observou-se uma elevada (>80%) emergência de moscas-da-azeitona adultos, independentemente do tratamento aplicado nas larvas. Porém, o tempo de emergência das pupas foi significativamente maior para aquelas em que as larvas foram tratadas com *B. bassiana* e neonicotinoide.

O conhecimento obtido neste estudo, contribuem para uma melhor compreensão, sobre os efeitos da aplicação de fitossanitários em insetos não-alvo, e como estes, podem afetar o comportamento e a fisiologia desses predadores.

REFERÊNCIAS



- Altieri, M. A. (1989). Agroecology: a new research and development paradigm for world agriculture. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, **27**, 27-46.
- Amaro, P. (2003). A Protecção Integrada. ISA/Press, 1-458.
- Anagnou-Veroniki, M., Kontodimas, D. C., Adamopoulos, A. D., Tsimboukis, N. D., & Voulgaropoulou, A. (2005). Effects of two fungal based biopesticides on *Bactrocera* (*Dacus*) *oleae* (Gmelin) (Diptera: Tephritidae). *Integrated Protection of Olive Crops*, **28**, 49-51.
- Baratella, V. (2009). Biological Control and Integrated Pest Management of olive fly *Bactrocera oleae* (Rossi, 1790) (Diptera: Tephritidae) a briefly review. *Journal from the field of pomology in Croatia*, **14**, 129-142.
- Barranco, D. N., Faernández-Escobar, R., Rallo, R. L. (2017). El cultivo del olivo. Ediciones Mundi-Prensa, 7ª ed., 1008.
- Bento, A. A. (1999). Contribuição para o estabelecimento de um programa de proteção integrada contra a traça da oliveira, *Prays oleae* (Bern.) em Trás-os-Montes. Tese para a obtenção do grau de doutor em Engenharia Agrícola. Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro, Vila Real, 277.
- Bissolli, G. A., Correia, A. C. B., Barbosa, J. (2014). Selection of pathogenic fungi for the control of *Ceratitis capitata* (fruit fly) larvae and pupae. *Scientific*, **42**(4), 338-345.
- Brandenburg, A. (2002). Movimento agroecológico: trajetória, contradições e perspectivas. *Revista Desenvolvimento e Meio Ambiente*, **6**, 1-18.
- Broumas, T., Haniotakis, G., Liaropoulos, C., Tomazou, T., & Ragoussis, N. (2002). The efficacy of an improved form of the mass-trapping method, for the control of the olive fruit fly, *Bactrocera oleae* (Gmelin) (Diptera: Tephritidae). Pilot-scale feasibility studies. *Journal of Applied Entomology*, **126**, 217-223.
- Buxton J. H., Madge, D. S. (1974). Artificial incubation of eggs of the common earwig, *Forficula auricularia* (L.). *Entomologist's Monthly Magazine*, **110**, 55-57.
- Caleca, V., Belcari, A., & Sacchetti, P. (2012). Lotta alla mosca delle olive in olivicoltura integrata e biológica. *Protezione delle colture*, **5**, 27-33.
- Cantero, F. A. (1997). Enfermedades y plagas del olivo. Riquelme y Vargas Ediciones, 3ª ed., 1-646.
- Civantos, M. (1999). Olive pest and disease management. International Olive Oil Council. *Collection Practical Handbooks*, 207.
- Coelho, V., Baptista, P., Mexia, A., Bento, A. & Pereira, J. A. Pathogenicity of *Beauveria bassiana* isolates on *Ceratitis capitata*, *Rhagoletis cerasi* and *Bactrocera oleae* pupae

- under laboratory conditions. Tese para a obtenção do grau de doutor em Engenharia Agrícola. Universidade de Lisboa , Lisboa, 194.
- Conti, E. (2007). Integrated pest management of olive. University of Perugia, Perugi Post graduate specialization and Master of Science Programme. *In: Rouini, I., 2008. Olive fly management with allowed formulations in organic agriculture. Master of Science in "Mediterranean Organic Agriculture"*. Institute Agronomic of Mediterranean di Bari, Italy, 87.
- Cordeiro, A.M., Calado, M.L., Morais, N., Miranda, A., & Carvalho, M.T. (2010). Cobrançosa. *Vida Rural*, **117**, 19.
- Daane, K. M., Johnson, M. W. (2010). Olive fruit fly: managing an ancient pest in modern times. *Annual Review of Entomology*, **55**, 151-169.
- Daane, K. M., Rice, R. E., Zalom, F. G., Barnett, W. W., Johnson, M. W. (2004). Arthropod Pests of Olive. *In: G. S. Sibbett and L. Ferguson, eds. Olive Production Manual, 2^a ed. Oakland: University of California Agriculture and Natural Resources publication, 3353, 204–213.*
- Daane, K. M., Wang, X., Nieto, D. J., Pickett, C. H., Hoelmer, K. A., Blanchet, A., & Johnson, M. W. (2015). Classic biological control of olive fruit fly in California, USA: release and recovery of introduced parasitoids. *Biological Control*, **60**, 317-330.
- Dinis, A. M., Pereira, J. A., Pimenta, M. C., Oliveira, J., Benhadi-Marín, J., & Santos, S. A. P. (2016). Suppression of *Bactrocera oleae* (Diptera: Tephritidae) pupae by soil arthropods in the olive grove. *Journal of Applied Entomology*, **140**, 677-687.
- Dolci, P., & Perrin, C. (2018). Neo-farmers: drivers of farming systems innovation and of the transition to agro-ecology? The case of Alentejo (Portugal), 1-17.
- Duyck, P. F., David, P., Quilici, S. (2004). A review of relationships between interspecific competition and invasions in fruit flies (Diptera: Tephritidae). *Ecological Entomology*, **29**, 511–520.
- Federici, B. A. (1999). A perspective on pathogens as biological control agents for insects pests. *In: Bellows, T. S., & Fisher, T. W. (ed). Handbook of Biological Control, 517-548.*
- Georghiou, G. P. (1990). "Overview of Insecticide Resistance." *Journal of Agricultural Entomology*, **421**(2), 18-41.
- Gliessman, S. (2018). Defining agroecology. *Agroecology and Sustainable Food Systems*, **42**(6), 599-600.
- Gonçalves, M. F., Malheiro, R., Casal, S., Torres, L., & Pereira, J. A. (2012). Influence of fruit traits on oviposition preference of the olive fly, *Bactrocera oleae* (Rossi) (Diptera: Tephritidae), on three Portuguese olive varieties (Cobrançosa, Madural and Verdeal Transmontana). *Scientia Horticulturae*, **145**, 127-135.

- Gutierrez, A. P., Ponti, L., & Cossu, Q. A. (2009). Effects of climate warming on Olive and olive fly (*Bactrocera oleae* (Gmelin) in California and Italy. *Climatic Change*, **95**, 195-217.
- Hamzah, A. M., Mohsin, A. U., Naeem, M., & Khan, M. A. (2021). Efficacy of *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* (Ascomycota: Hypocreales) against *Bactrocera cucurbitae* (Coquillett) (Diptera: Tephritidae) under controlled and open-field conditions on bitter melon. *Egyptian Journal of Biological Pest Control*, **31**(1), 1-8.
- Heidrun, V., Jürgen, J., Anderson, G. (2010). Impact of four insecticides on the European earwig, *Forficula auricularia* L., in an apple orchard, **54**(1), 141-145.
- Hladnik, M. (2017). A review of plant protection against olive fly *Bactrocera oleae* (Rossi, 1790) and molecular methods for monitoring insecticide resistance alleles. *Agriculture Slovenia*, **109**(1), 1-12
- Horton, D. R., Broers, D. A., Hinojosa, T., Lewis, T. M., Miliczky, E. R., Lewis, R. R. (2002). Diversity and phenology of predatory arthropods overwintering in cardboard bands placed in pear and apple orchards of central Washington state. *Annals of the Entomological Society of America*, **95**, 469-480.
- Ismail, R., El-Gendy, M. F., Zawrah M., Mona, I., El-Banobi. (2022). Virulence effect of *Metarhizium anisopliae* (Met.) and *Beauveria bassiana* (Bals.) fungi against the peach fruit fly, *Bactrocera zonata* (Saunders) (Diptera: Tephritidae). *Egyptian Journal of Biological Pest Control*, **32**(1), 1-7.
- Jordão, P. (2014). Boas Práticas No Lagar e No Olival. Projeto PRODER-REMDER.
- Kalaitzaki, A., Perdikis, D., Marketaki, M., Gyftopoulos, N., & Paraskevopoulos, A. (2014). Natural enemy complex of *Bactrocera oleae* in organic and conventional olive groves. In: Perdikis, D., Latinović, J., & Lucchi, A. (eds), IOBC-WPRS *Integrated Protection of Olive Crops*, **108**, 61-68.
- Kassambara, A., Kosinski, M., & Biecek, P. (2021). *Package "Survminer"*.
- Kapatos, E. T., Fletcher, B. S. (1983). Seasonal changes in the efficiency of McPhail traps and a model for estimating olive fly densities from trap catches using temperature data. *Entomologia Experimentallis et Applicata*, **33**, 20-26.
- Katsoyannos, P. (1992). Olive pests and their control in the Near East. *FAO Plant Protection and Protection Paper*, **115**, 178.
- Kölliker, M. (2007). Benefits and costs of earwig (*Forficula auricularia*) family life. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, **61**, 1489-1497.
- Konstantopoulou, M. A., & Mazomenos, B. E. (2005). Evaluation of *Beauveria bassiana* and *B. brongniartii* strains and four wild-type fungal species against adults of *Bactrocera oleae* and *Ceratitis capitata*. *Journal of Biological Control*, **50**, 293-305.

- Lamb R. J. (1975). Effects of dispersion, travel, and environmental heterogeneity on populations of the earwig *Forficula auricularia* L. *Canadian Journal of Zoology*, **53**, 1855-1867.
- Lamb R. J., Wellington, W. G. (1974). Techniques for studying the behavior and ecology of the European earwig, *Forficula auricularia* (Dermaptera: Forficulidae). *Canadian Journal of Entomologist*, **106**, 881-888.
- Landis, D. A., Wratten, S. D., & Gurr, G. M. (2000). "Habitat Management to Conserve Natural Enemies of Arthropod Pests in Agriculture". *Annual Review of Entomology*, **45**(1), 175-201.
- Laure, M., Yvan, C., Magali, R. (2015). Impact of insecticide exposure on the predation activity of the European earwig *Forficula auricularia*. *Environmental Science and Pollution Research*, **22**(18), 14116-14126.
- López-Villalta, M. C. (1999). Olive Pest and Disease Management. Internacional Olive Oil Council, Madrid, 1-207.
- Lucena, B., Manrique, T., & Méndez, M. Á. (2017). La olivicultura en el mundo y em España. In Barranco, D., Fernández-Escobar, R., & Rallo, L. (Ed.), *El Cultivo Del Olivo*, (7ª. ed.) Madrid: Ediciones Mundi-Prensa, 1008.
- Macias Hernández, M. A. (1990). El papel de la agricultura en el desarrollo regional en la Europa mediterránea. *Revista de Ciencias Sociales*, **12**, 1750-1980.
- Mahmoud, M. F. (2009). Pathogenicity of three commercial products of entomopathogenic fungi, *Beauveria bassiana*, *Metarhizum anisopilae* and *Lecanicillium lecanii* against adults of Olive Fly, *Bactrocera oleae* (Gmelin) (Diptera: Tephritidae) in the laboratory. *Plant Protection Science*, **3**, 98-102.
- Malheiro, R., Casal, S., Cunha, S. C., Baptista, P., & Pereira, J. A. (2015). Olive volatiles from Portuguese cultivars Cobrançosa, Madural and Verdeal Transmontana: Role in oviposition preference of *Bactrocera oleae* (Rossi, 1790) (Diptera: Tephritidae). *PLOS ONE*, **10**, e0125070.
- Malheiro, R., Casal, S., Cunha, S. C., Baptista, P., Pereira, J. A. (2016). Identification of leaf volatiles from olive (*Olea europaea*) and their possible role in the ovipositional preferences of olive fly, *Bactrocera oleae* (Rossi) (Diptera: Tephritidae). *Phytochemistry*, **121**, 11-19.
- Martins, V. A. F. (2018). A mosca-da-azeitona, *Bactrocera oleae* (Rossi, 1790): avaliação da eficácia de meios de luta e impacto na fauna auxiliar. Dissertação para a obtenção do grau de mestre em Agroecologia. Instituto Politécnico de Bragança, Bragança, 70.
- Matsumura, F. (1975). Modes of Action of Insecticides. In: Matsumura, F. (eds). *Toxicology of Insecticides*, 105-163.
- Miguéns, R. G., Nozal, E. M., Ruiz, Y. J., Peinado, P. M., Ghanavi, H. R., París, M. G. (2020). Speciation patterns in the *Forficula auricularia* species complex: cryptic and not so cryptic

- taxa across the western Palaearctic region. *Zoological Journal of the Linnean Society*, **190**, (3), 788-823.
- Moreira, L. B., Lima, L. L. R., Farias, L. S., & Carvalho, G. A. (2022). Response of *Doru luteipes* (Dermaptera: Forficulidae) to insecticides used in maize crop as a function of its life stage and exposure route. *Environmental Science and Pollution Research*, 1-15.
- Nardi, F., Carapelli, A., Boore, J. L., Roderick, G. K., Dallai, R., Frati, F. (2010). Domestication of olive fly through a multi-regional host shift to cultivated olives: comparative dating using complete mitochondrial genomes. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, **57**, 678–686.
- Nardi, F., Carapelli, A., Dallai, R., Roderick, G. K., Frati, F. (2005). Population structure and colonization history of the olive fruit fly, *Bactrocera oleae* (Diptera, Tephritidae). *Molecular Ecology*, **14**, 2729-2738.
- Ndakidemi, B., Mtei, K., Ndakidemi, P. (2016). Impacts of Synthetic and Botanical Pesticides on Beneficial insects. *Agricultural Sciences*, **7**(6), 364-372
- Neuenschwander, P., Michelakis, S., Kapatos, E. (1986). *Dacus oleae* (Gmel). In Arambourg Y (Ed). Traite d'entomologie oleicole. *Conseil Oleicole International*, Madrid, 115-159.
- Pereira, J. (2000). Efeito da infestação pela mosca, *Bactrocera oleae* (Gmel.), e do tempo de armazenamento da azeitona na qualidade de azeites elementares das Cv. Cobrançosa, Madural e Verdeal. Dissertação para obtenção do grau de Mestre em Controlo de Qualidade, Faculdade de Farmácia da Universidade do Porto, 122.
- Peres, A. M., Baptista, P., Malheiro, R., Dias, L. G., Bento, A., Pereira, J. A. (2011). Chemometric classification of several olive cultivars from Trás-os-Montes region (northeast of Portugal) using artificial neural networks. *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems*, **105**, 65-73.
- Queiroz de Oliveira, F., Batista, J. L., Malaquias, J. B., Brito, C. H., Pereira, E. S. (2011). Susceptibility of the predator *Euborellia annulipes* (Dermaptera: Anisolabididae) to mycoinsecticides. *Revista Colombiana de Entomología*, **37**(2), 234-237.
- Raina, B.L. (2003). Olives. In *Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition*, 2^a. ed. Elsevier, 4260-4267.
- Ray, N. B., Lam, N. T., Luc, R., Bonvino, N. P., & Karagiannis, T. C. (2015). Cellular and Molecular Effects of Bioactive Phenolic Compounds in Olives and Olive Oil. *Olive and Olive Oil Bioactive Constituents*, 53-91.
- Rodrigues, M. Â. & Correia, C. M. (2009). Manual da safra e contra safra do olival. Instituto Politécnico de Bragança, Bragança, 111.

- Romeu, D. C., Espadaler, X., Piñol, J. (2012). Abundance, interannual variation and potential pest predator role of two co-occurring earwig species in citrus canopies. *Journal of Applied Entomology*, **136**, 501-509.
- Rosamara, S., Coelho., Marvin, Pec., Ana, L., Rodrigues, Silva., Maria, Fernanda, G., V., Peñafior., Rosangela, Cristina, Marucci. (2022). Predation potential of the earwig *Euborellia annulipes* on fruit fly larvae and trophic interactions with the parasitoid *Diachasmimorpha longicaudata*. *Journal of Applied Entomology*, **147**(2), 147-156.
- Simões, J. C., Cruz, I., & Salgado, L. O. (1998). Seletividade de inseticidas às diferentes fases de desenvolvimento do predador *Doru luteipes* (Scudder)(Dermaptera: Forficulidae). *Anais da Sociedade Entomológica do Brasil*, **27**, 289-294.
- Torres, L. (2007a). A proteção integrada do olival no contexto da produção integrada. In Torres, L. (ed), *Manual de Proteção Integrada Do Olival*. João Azevedo Editor, 31-125.
- Therneau, T. M., Lumley, T., Atkinson, E., & Crowson, C. (2022). *Package ‘survival’*.
- Tzanakakis, M. E. (1989). Small scale rearing. In: Robinson A. S., Hooper, G. (eds) *Fruit Flies: Their biology, natural enemies, and control*, **3**, 105–118.
- Tzanakakis, M. E.; Tsitsipis, J. A.; Economopoulos, A. P. (1968). Frequency of mating in females of olive fruit fly under laboratory conditions. *Journal of Economic Entomology*, **61**, 1309-1312.
- Vasconcelos, P. E. A., de Moraes Mello, C. (2021). Direitos humanos a luz da agenda 2030 e plano clima energia 2050: o uso das energias renováveis em prol do meio ambiente. *Revista Interdisciplinar do Direito-Faculdade de Direito de Valença*, **19**(1), 154-164.
- Vilarinho, M. A. (1999). Estudo Sobre a Mosca-da-azeitona *Bactrocera oleae* (Gmelin) Na Terra Quente: Bioecologia, Importância Económica e Estimativa de Risco. Dissertação para a obtenção do grau de Bacharelado em Produção Agrícola, Escola Superior Agrária do Instituto Politécnico de Bragança, 61.
- Vivero, A., Matallanas, B., Callejas, C., Ochando, M. D. (2014). More information about population genetic structure of *Bactrocera oleae* in the Mediterranean region. In Perdakis, D., Latinović, J., & Lucchi, A. (eds), IOBC-WPRS Working Group. *Integrated Protection of Olive Crops*, **108**, 15.
- Walker E. M. (1933). On the anatomy of *Grylloblatta campodeiformis*. Comparisons of head with those of other orthopteroid insects. – *Annals of the Entomological Society of America*, **26**, 309 – 344.
- Weiss, M. J., & McDonald, G. (1998). European earwig, *Forficula auricularia* L. (Dermaptera: Forficulidae), as a predator of the redlegged earth mite, *Halotydeus destructor* (Tucker) (Acarina: Penthalidae). *Australian Journal of Entomology*, **47**(2), 183-185.

- Wezel, A., Bellon, S., Doré, T., Francis, C., Vallod, D., & David, C. (2009). Agroecology as a science, a movement and a practice. A review. *Agronomy for sustainable development*, **29**, 503-515.
- Wezel, A., Casagrande, M., Celette, F., Vian, J. F., Ferrer, A., Peigné, J. (2014). Agroecological practices for sustainable agriculture. A review. *Agronomy for sustainable development*, **34**(1), 1-20.
- Wrege, M. S., Coutinho, E. F., Pantano, A. P., Jorge, R. O. (2015). Distribuição potencial de oliveiras no Brasil e no mundo. *Revista Brasileira de Fruticultura*, **37**, 656-666.
- Yuan, G-R., Chen, M., Peng, M., Lei, W., Meng, L., Wei, D., W, J-J. (2022). Knockdown of a Nicotinic Acetylcholine Receptor Subunit Gene *Bdorβ1* Decreases Susceptibility to Oxa-Bridged trans- instead of cis-Nitromethylene Neonicotinoid Insecticides in *Bactrocera dorsalis*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **70**(42), 13554-13562.
- Zervas, G. A. (1982). A new long live trap for olive fruit fly *Dacus oleae* (Gmelin) (Diptera, Tephritidae) and other Diptera. *Zeitschrift fuer Angewandte Entomologie*, **94**, 522-552.
- Zhang Z. Q. (2011). Phylum Arthropoda von Siebold. (1848). In: Zhang Z.-Q.(ed.). An outline of higher-level classification and survey of taxonomic richness. *Animal Biodiversity*, **3**, 99 – 103.

7.1 Webrefêrencias

- Agriculture and rural development (2024). Olive oil in Union European. URL: <https://agriculture.ec.europa.eu/data-and-analysis/markets/price-data/price-monitoring-sector/olive-oil_en>. Acessado em 03 de junho de 2024.
- CAP – Confederação dos Agricultores de Portugal (2024). Newsletter Azeite. URL: <chrome-extension://efaidnbmnnnibpcajpcglclefindmkaj/https://www.rederural.gov.pt/images/NEWSLETTER_AZEITE_-_Fevereiro_de_2024_1.pdf>. Acessado em 09 de maio de 2024.
- Capineira, J. L. (2010). Featured Creatures. Entomology & Nematology, University of Florida. URL: <https://entnemdept.ufl.edu/creatures/veg/european_earwig.htm>. Acessado em 16 de maio de 2024.
- Center for Invasive Species and Ecosystem Health (2018). URL: <<https://www.invasive.org/browse/subthumb.cfm?sub=7955>>. Acessado em 13 de maio de 2024.
- EPPO Global DataBase. (2024). Worldwide distribution of *Bactrocera oleae*. URL: <<https://gd.eppo.int/taxon/DACUOL/distribution>> Acessado em 03 de junho de 2024.
- FAO - Organização das Nações Unidas para a Alimentação e a Agricultura (2018). FAOSTAT. URL: <<http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC/visualize>>. Acessado em 09 de maio de 2024.

- GPP – Gabinete de Planeamento, Políticas e Administração Geral (2020). Análise Setorial do Azeite. URL: <chrome-extension://efaidnbmnnnibpcajpcglclefindmkaj/https://www.gpp.pt/images/PEPAC/Anexo_NDICE_ANLISE_SETORIAL__AZEITE.pdf>. Acessado em 09 de maio de 2024.
- INE - Instituto Nacional de Estatística (2018). Azeite produzido (hl) por localização geográfica (Região agrícola), Tipo de lagar de azeite, Grau de acidez e Sistema de extracção utilizado; Anual - INE, Inquérito anual à produção de azeite. URL: <https://www.ine.pt/xportal/xmain?xpid=INE&xpgid=ine_indicadores&indOcorrCod=0000709xlang=pt&contexto=bd&selTab=tab2>. Acessado em 09 de maio de 2024.
- INE, Instituto Nacional de Estatística (2019). Agricultural Statistics 2018. URL: <https://www.ine.pt/xportal/xmain?xpid=INE&xpgid=ine_publicacoes&>. Lisbon. 171 pp. Acessado em 09 de maio de 2024.
- INE, Instituto Nacional de Estatística (2023). Olive's production in Portugal. URL: <https://www.ine.pt/xportal/xmain?xpid=INE&xpgid=ine_indicadores&indOcorrCod=0000705&contexto=bd&selTab=tab2>. Acessado em 03 de junho de 2024.
- Jacobs, S. (2023). European earwigs. URL: <<https://extension.psu.edu/european-earwigs>>. Penn State Entomology. Acessado em 17 de maio de 2024.
- R Core Team (2019) R: A Language and Environment for Statistical Computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL: <<https://www.R-project.org/>>. Acessado em 12 de junho de 2024.
- Varikou, K. (2014). Institute for Olive tree and Subtropical Plants. URL: <<https://www.cabdigitalibrary.org/doi/10.1079/cabicompendium.17689>>. Acessado em 10 de maio de 2024.
- Vossen, P., Varela, L. G., Devarenne, A. (2004). Olive fruit fly. University of California. URL: <<http://cenapa.ucanr.edu/files/52578.pdf>>. Acessado em 14 de maio de 2024.
- Zalom, F. G., Van, S. R. A., Burrack, H. J., Johnson, M. W. (2009). Olive fruit fly. University of California. Agriculture and Natural Resources. URL: <<https://ipm.ucanr.edu/PMG/PESTNOTES/pn74112.html>>. Acessado em 14 de maio de 2024.