

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE AGRONOMIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FITOTECNIA

CRIAÇÃO DE *Anastrepha fraterculus* (WIED.) (DIPTERA: TEPHRITIDAE) EM
DIETA ARTIFICIAL E AVALIAÇÃO DE PRODUTOS FITOSSANITÁRIOS
UTILIZADOS NO SISTEMA ORGÂNICO DE PRODUÇÃO SOBRE ESTA
ESPÉCIE E INSETOS BENÉFICOS

Caio Fábio Stoffel Efrom
Engenheiro Agrônomo/UFRGS

Tese apresentada como um dos requisitos
à obtenção do Grau de Doutor em Fitotecnia
Área de Concentração Fitossanidade

Porto Alegre (RS), Brasil
Agosto de 2009

AGRADECIMENTOS

- Aos meus pais, Dante Vanderlei Efrom e Belkis Mari Stoffel Efrom, pelo amor, educação, caráter, incentivo e auxílio em todos os momentos de minha vida, além da compreensão por minha ausência.
- Aos meus irmãos: Bianca, Andreas, Cora e Tito, sempre importantes para mim.
- À Raquel Barro por tudo que fez por mim.
- À professora Dra. Luiza Rodrigues Redaelli pela orientação, confiança, sincera amizade, dedicação e incentivo nesta década de convívio.
- Ao professor Dr. Fábio Kesler Dal Soglio pela co-orientação.
- Ao professor Dr. Josué Sant'Ana e à professora Dra. Simone Mundstock Jahnke pelos diversos auxílios durante o curso.
- Ao Dr. Marcos Botton, Embrapa Uva e Vinho, pelo incentivo e apoio neste trabalho.
- Ao Dr. Fernando F. Silva, pelo incentivo no início do trabalho com as moscas-das-frutas e posteriores sugestões.
- Ao Dr. Gilmar Schäffer pelas sugestões e pronta disponibilidade em participar da banca de avaliação.
- Ao Dr. Rogério P. da Silva, pela cordialidade no empréstimo do micro-aplicador.
- À Dra. Teresa Vera, EEAOC – Tucumán, Argentina, além de todo seu pessoal, pela recepção, oportunidade de conhecer seu laboratório e me aprofundar na metodologia de criação das moscas-das-frutas.
- À Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS) e ao CNPq pela oportunidade e concessão da bolsa de estudos.
- Aos amigos, professores e colegas da Faculdade de Agronomia e do Departamento de Fitossanidade pela convivência e colaboração.
- Ao amigo e colega Rafael Meirelles, pela convivência, mas principalmente pelo grande e precioso auxílio em todos os experimentos.
- À “premiada” bolsista de iniciação científica Cláudia Ourique, pela dedicação e entusiasmo neste final de trabalho.
- Aos grandes amigos e colegas que fiz nestes 10 anos no Laboratório de Biologia, Ecologia e Controle Biológico de Insetos (Bioecolab), os que já seguiram seu rumo, os que estudaram comigo, Ricardo Bisotto e Rosana Moraes, e os que permanecem, mas em especial nestes últimos tempos a Deisi Altafini, Nahiana Schäffer, Diogo Pereira Rêgo, Shana Ximenes, Thiago Della Nina e Rafael Lorcheister, pelos risos e convivência.
- A todos que de alguma maneira se envolveram, participaram e contribuíram na minha vida, carreira e especificamente neste trabalho.

CRIAÇÃO DE *Anastrepha fraterculus* (WIED.) (DIPTERA: TEPHRITIDAE) EM DIETA ARTIFICIAL E AVALIAÇÃO DE PRODUTOS FITOSSANITÁRIOS UTILIZADOS NO SISTEMA ORGÂNICO DE PRODUÇÃO SOBRE ESTA ESPÉCIE E INSETOS BENÉFICOS¹

Autor: Caio Fábio Stoffel Efrom
Orientador: Luiza Rodrigues Redaelli
Co-orientador: Fábio Kessler Dal Soglio

RESUMO

A mosca-das-frutas sul-americana, *Anastrepha fraterculus* (Wied.) é um dos principais problemas à produção de frutíferas no Brasil. No sistema orgânico de produção, há diversas alternativas para o controle das moscas-das-frutas, como óleos, extratos de plantas e caldas. Entretanto, para a maioria dessas substâncias, não há a comprovação científica, quanto à eficiência de controle e seletividade a insetos benéficos. Experimentos que avaliam a ação inseticida de agrotóxicos demandam grande número de indivíduos produzidos de forma padronizada. No Brasil, não há, para *A. fraterculus*, uma metodologia de criação eficiente que atenda esta demanda. Assim, os objetivos deste trabalho foram: desenvolver uma metodologia para criação de *A. fraterculus* em dieta artificial e avaliar os produtos fitossanitários utilizados no sistema orgânico sobre *A. fraterculus* e os insetos benéficos, *Apis mellifera* L. (Hymenoptera; Apidae) e *Cryptolaemus montrouzieri* Mulsant (Coleoptera; Coccinellidae), em condições de laboratório. Para isso, se utilizou quatro múltiplos (0,25x, 0,5x, 1x e 2x) da dose recomendada pelos fabricantes dos produtos Rotenat CE[®] (600mL 100L⁻¹), Pironat[®] (250mL 100L⁻¹), Biopirrol 7M[®] (200mL 100L⁻¹), Organic neem[®] (500mL 100L⁻¹), Natuneem[®] (500mL 100L⁻¹), e calda sulfocálcica (5000mL 100L⁻¹), que foram testados em *A. fraterculus*, por ingestão/contato, aplicação tópica e residual. Posteriormente, observou-se o efeito de deterrência sobre a oviposição. Para *A. mellifera* foram testados por ingestão e aplicação tópica e para *C. montrouzieri*, por aplicação tópica e residual. Foi possível estabelecer uma criação de *A. fraterculus* em dieta artificial. Constatou-se que os produtos calda sulfocálcica, Organic Neem[®], Natuneem[®], Pironat[®] e Biopirrol 7M[®] não apresentam efeito inseticida sobre a mosca-das-frutas sul-americana. Rotenat CE[®] (1200mL 100L⁻¹) apresentou efeito inseticida (71,6% de mortalidade), via ingestão/contato. Calda sulfocálcica, Pironat[®] e Biopirrol 7M[®] não impediram a oviposição de *A. fraterculus* em frutos artificiais. Nos testes sobre insetos benéficos todos os produtos foram seletivos a adultos de *C. montrouzieri*. Para *A. mellifera*, calda sulfocálcica (5000mL 100L⁻¹ e 10000mL 100L⁻¹) e Rotenat CE[®] (1200mL 100L⁻¹) podem ser considerados tóxicos (mortalidade >30%), com ação diferenciada conforme o método de exposição.

¹ Tese de Doutorado em Fitotecnia, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brasil. (89 p.). Agosto, 2009.

REARING *Anastrepha fraterculus* (WIED.) (DIPTERA: TEPHRITIDAE) IN
ARTIFICIAL DIET AND EVALUATION OF PHYTOSANITARY PRODUCTS USED
IN THE ORGANIC SYSTEM OF PRODUCTION ON THIS SPECIE AND
BENEFICIAL INSECTS²

Author: Caio Fábio Stoffel Efrom
Adviser: Luiza Rodrigues Redaelli
Co-adviser: Fábio Kessler Dal Soglio

ABSTRACT

The South American fruit fly, *Anastrepha fraterculus* (Wied.) is one of the main problems for the fruit production in Brazil. In the organic system of production there are several alternatives to control the fruit fly such as oils, plant extracts, and soaps. However, for the majority of these substances there are no scientific probes of their control efficiency or the selectivity for beneficial insects. Experiments that aim to evaluate the insecticide action of phytosanitary products need a large number of individuals produced in a standardized form. In Brazil, there is no efficient methodology for rearing *A. fraterculus* that supports this demand. Thus, the main goals of the present work were: to develop a methodology for rearing *A. fraterculus* in a artificial diet and to evaluate the phytosanitary products used in the organic system on *A. fraterculus* and on the beneficial insects, *Apis mellifera* L. (Hymenoptera; Apidae) and *Cryptolaemus montrouzieri* Mulsant (Coleoptera; Coccinellidae), in laboratory conditions. To develop the work, four multiples (0,25x, 0,5x, 1x e 2x) doses recommended by the manufacturer of the products Rotenat CE[®] (600mL 100L⁻¹), Pironat[®] (250mL 100L⁻¹), Biopiro 7M[®] (200mL 100L⁻¹), Organic neem[®] (500mL 100L⁻¹), Natuneem[®] (500mL 100L⁻¹) and lime sulfur (5000mL 100L⁻¹), were tested in *A. fraterculus*, by ingestion/contact, topic and residual application. Later, it was observed deterrence effects on the oviposition. In *A. mellifera* the products were tested by ingestion and topic application and in *C. montrouzieri* by topic and residual applications. It was possible to establish an alternative methodology for rearing *A. fraterculus* in a artificial diet. It was observed that the products Organic Neem[®], Natuneem[®], lime sulfur, Pironat[®], and Biopiro 7M[®] did not present insecticide effect on the South American fruit fly, only Rotenat CE[®](1200mL 100L⁻¹) showed a control (71,6% of mortality) when ingested/contact. Lime sulfur, Pironat[®], and Biopiro 7M[®] did not halt oviposition of *A. fraterculus* in artificial fruits. In the tests with beneficial insects, all products were selective for adults of *C. montrouzieri*. For *A. mellifera* lime sulfur (5000mL 100L⁻¹ e 10000mL 100L⁻¹) and Rotenat CE[®] (1200mL 100L⁻¹) can be considered toxic (mortality >30%) with differentiated action depending on the exposure method.

² Doctoral Thesis in Agronomy, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brazil (89 p.) August, 2009.

SUMÁRIO

	Página
1 INTRODUÇÃO.....	1
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	3
2.1 Moscas-das-frutas e danos.....	3
2.2 Criação artificial de <i>Anastrepha fraterculus</i>	6
2.3 Sistema orgânico de produção	7
2.4 Manejo e controle de mosca-das-frutas no sistema orgânico de produção	9
2.5 Métodos e técnicas para avaliar efeitos de inseticidas em laboratório	16
2.6 Seletividade de produtos fitossanitários.....	18
2.7 <i>Cryptolaemus montrouzieri</i> (Coleoptera; Coccinellidae)	24
2.8 <i>Apis mellifera</i> (Hymenoptera; Apidae)	27
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	31
3.1 Criação de <i>Anastrepha fraterculus</i>	31
3.1.2 Avaliação de parâmetros biológicos.....	34
3.2 Bioensaios com <i>Anastrepha fraterculus</i>	35
3.2.1 Avaliação da ação de ingestão de produtos fitossanitários em <i>Anastrepha fraterculus</i> em laboratório	35
3.2.2 Ação de contato em <i>Anastrepha fraterculus</i>	37
3.2.3 Ação residual em <i>Anastrepha fraterculus</i>	38
3.2.4 Avaliação dos experimentos de ação de ingestão, contato e residual em <i>Anastrepha fraterculus</i>	38
3.2.5 Avaliação de repelência e deterrência/dissuasão a <i>Anastrepha fraterculus</i>	39
3.3 Avaliação dos efeitos dos produtos fitossanitários em insetos benéficos ...	40
3.3.1 Ação de contato em <i>Cryptolaemus montrouzieri</i>	40
3.3.2 Ação residual em <i>Cryptolaemus montrouzieri</i>	41
3.3.3 Avaliação dos bioensaios com <i>Cryptolaemus montrouzieri</i>	42
3.3.4 Bioensaios com <i>Apis mellifera</i>	42

	Página
3.3.4.1 Ação de contato em <i>Apis mellifera</i>	42
3.3.4.2 Ação por ingestão em <i>Apis mellifera</i>	44
3.3.4.3 Avaliação dos bioensaios sobre <i>Apis mellifera</i>	44
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	45
4.1 Parâmetros biológicos de <i>Anastrepha fraterculus</i> obtidos na criação artificial	45
4.2 Ação de produtos fitossanitários em <i>Anastrepha fraterculus</i> em laboratório	47
4.3 Avaliação dos efeitos dos produtos fitossanitários em insetos benéficos ..	57
4.3.1 Ação em <i>Cryptolaemus montrouzieri</i>	57
4.3.2 Ação em <i>Apis mellifera</i>	62
5 CONCLUSÕES	67
6 CONSIDERAÇÕES FINAIS	70
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	71

RELAÇÃO DE TABELAS

	Página
1. Produtos e doses avaliados sobre <i>Anastrepha fraterculus</i> , <i>Cryptolaemus montrouzieri</i> e <i>Apis mellifera</i> , em laboratório.....	36
2. Parâmetros biológicos (médias \pm DP) de <i>Anastrepha fraterculus</i> em dieta artificial, por três gerações, (25 ± 2 °C, 70 ± 10 % U.R., fotofase de 14 horas).....	45
3. Número médio de insetos vivos (\pm DP) e mortalidade corrigida (% - Mc) de <i>Anastrepha fraterculus</i> , 24, 48, 72 e 96 horas após tratamento via ingestão/contato. (25 ± 2 °C; 70 ± 10 % U.R.; fotofase: 14 horas).....	49
4. Número médio de insetos vivos (\pm DP) e mortalidade corrigida (% - Mc) de <i>Anastrepha fraterculus</i> , 24, 48, 72 e 96 horas após tratamento de contato via aplicação tópica. (25 ± 2 °C; 70 ± 10 % U.R ; fotofase: 14 horas).....	52
5. Número médio de insetos vivos (\pm DP) e mortalidade corrigida (% - Mc) de <i>Anastrepha fraterculus</i> , 24, 48, 72 e 96 horas após tratamento residual. (25 ± 2 °C; 70 ± 10 % U.R.; fotofase: 14 horas).....	53
6. Número médio de insetos vivos (\pm DP) e mortalidade corrigida (% - Mc) de <i>Cryptolaemus montrouzieri</i> , 24, 48, 72 e 96 horas após tratamento via aplicação tópica (0,5 μ L/inseto). (25 ± 2 °C; 70 ± 10 % U.R.; fotofase: 14 horas).....	60
7. Número médio de insetos vivos (\pm DP) e mortalidade corrigida (% - Mc) de <i>Cryptolaemus montrouzieri</i> , 24, 48, 72 e 96 horas após tratamento via residual. (25 ± 2 °C; 70 ± 10 % U.R.; fotofase: 14 horas).....	61
8. Porcentagem média de sobrevivência (\pm DP) de operárias de <i>Apis mellifera</i> , 24 e 48 horas após tratamento via contato. (29 ± 1 °C; 70 ± 10 % U.R.; sem fotofase).....	63
9. Porcentagem média de sobrevivência (\pm DP) de operárias de <i>Apis mellifera</i> , 24 e 48 horas após tratamento via ingestão. (29 ± 1 °C; 70 ± 10 % U.R.; sem fotofase).....	65

RELAÇÃO DE FIGURAS

	Página
1. Etapas da criação de <i>Anastrepha fraterculus</i> em dieta artificial: A) corte de lâminas do substrato de oviposição contendo ovos; B) particionamento das lâminas; C) pedaços de substrato e ovos em suspensão com água destilada; D) papel de filtro com ovos de 48 horas colocados sobre a dieta artificial de larvas.....	33
2. Gaiola de acrílico e vidro com adultos de <i>Cryptolaemus montrouzieri</i> , utilizada na avaliação da ação residual de produtos fitossanitários: (A) abertura para entrada de ar; (B) orifício para fornecimento de alimento e água (adaptada de Jacas & Viñuela, 1994).....	41
3. Gaiola de cano PVC, fechada na parte inferior com espuma e na superior com tela metálica (16 malhas/cm ²), com operárias de <i>Apis mellifera</i> , contendo algodão umedecido com água destilada e recipiente com mel cristalizado (10g).....	43
4. Macho de <i>Anastrepha fraterculus</i> se alimentando de solução inseticida contendo corante vermelho Ponceau (Sigma Chemical Co.), oferecida através de pano Spontex Resist [®]	48

1 INTRODUÇÃO

A mosca-das-frutas sul-americana, *Anastrepha fraterculus* (Wied.) (Diptera: Tephritidae), é um problema presente em várias frutíferas no país e responsável por grandes perdas na produção. Seu controle permaneceu, nas décadas passadas, estagnado do ponto de vista técnico e conceitual, sendo realizado basicamente através da utilização de fosforados, que possuem elevada toxicidade e são pouco seletivos.

O surgimento de sistemas alternativos de produção, como o orgânico, que visa à sustentabilidade, com a preservação ou incremento da diversidade biológica e a redução, ao mínimo, de todas as formas de contaminação, torna fundamental a busca de alternativas de controle, seletivas e não impactantes, principalmente sobre populações de inimigos naturais e polinizadores.

No sistema orgânico existem diversas alternativas para o controle das moscas-das-frutas em pomares, como óleos, extratos de plantas e caldas. Entretanto, para a maioria dessas substâncias, não há a comprovação científica quanto à eficiência sobre as pragas e à sustentabilidade ao sistema, bem como, se são seletivos a insetos benéficos.

Os experimentos que visam avaliar a ação inseticida de diferentes produtos demandam um grande número de indivíduos com idade padronizada, mantidos e alimentados em condições controladas. No Brasil ainda não há, para *A. fraterculus*, uma metodologia de criação eficiente, de rápido estabelecimento e que atenda esta demanda.

Desta maneira os objetivos do presente trabalho foram: desenvolver uma metodologia para criação de *A. fraterculus*, utilizando dieta artificial; avaliar a ação inseticida por ingestão/contato, aplicação tópica e residual de múltiplos da dose recomendada pelo fabricante (0,25x, 0,5x, 1x e 2x) dos produtos: calda sulfocálcica (5000mL 100L⁻¹ de água), Rotenat CE[®] (600mL 100L⁻¹), Pironat[®] (250mL 100L⁻¹), Biopiról 7M[®] (200mL 100L⁻¹), Organic neem[®] (500mL 100L⁻¹), Natuneem[®] (500mL 100L⁻¹); avaliar a ação de deterrência à oviposição em *A. fraterculus* da calda sulfocálcica, Pironat[®] e Biopiról 7M[®], na dose recomendada pelo fabricante; avaliar a ação seletiva dos mesmos produtos e concentrações em *A. mellifera*, por ingestão e aplicação tópica e em *C. montrouzieri*, por aplicação tópica e residual.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Moscas-das-frutas e danos

Um dos maiores empecilhos à produção e livre comercialização de frutas frescas no mundo, incluso o Brasil, é a presença de insetos denominados de moscas-das-frutas, referindo-se a Diptera, Tephritidae (Malavasi, 2000). De acordo com Nascimento & Carvalho (2000), os frutos destinados à comercialização são invariavelmente atacados por espécies de moscas-das-frutas, com danos que podem comprometer até 100% da produção (Carvalho, 2006a).

Para a maioria dos países, em especial os em desenvolvimento, as espécies de moscas-das-frutas de importância econômica são uma das maiores preocupações com relação à produção, comercialização no mercado interno e exportação de frutas frescas e vegetais (Malavasi, 2000).

Os maiores prejuízos são resultantes das larvas de moscas-das-frutas, que ao se alimentarem, destroem a polpa dos frutos (Aguiar-Menezes *et al.*, 2004). Isto resulta em alterações fisiológicas, acelerando a maturação e levando o fruto à queda prematura (Salles, 1999; Botton *et al.*, 2005). As fêmeas também podem danificar diretamente os frutos, no momento em que introduzem o ovipositor através da epiderme (punctura) para depositar seus ovos. Estas perfurações permitem a entrada de patógenos, que resultam em apodrecimento. O dano causado pela fêmea é, de acordo com Salles (1995), irreversível. Em frutos, como

pêra e maçã, a epiderme fica marcada no local da punctura, formando-se uma concavidade ou deformação, à medida que o fruto se desenvolve, depreciando o valor comercial. Esses fatores, além de restringirem a exportação, devido a barreiras quarentenárias impostas por muitos países, também inviabilizam o comércio *in natura* (Malavasi *et al.*, 1994; Salles, 1995; Brasil, 1999; Nascimento & Carvalho, 2000; Aguiar-Menezes *et al.*, 2004; Carvalho, 2005).

A mosca-das-frutas é a principal praga da fruticultura, constituindo-se num fator limitante para a produção (Moraes *et al.*, 1995; Silva, 1998; Malavasi, 2000; Keske, 2004; Ribeiro, 2004; Rupp, 2005; Gonçalves *et al.*, 2005)

No Brasil, as espécies de moscas-das-frutas de importância econômica pertencem a quatro gêneros: *Anastrepha* Schiner, *Ceratitidis* Macleay, *Bactrocera* Macquart e *Rhagoletis* Loew (Zucchi, 2000a). Em todo país e especialmente no Rio Grande do Sul, uma grande importância é dada para o gênero *Anastrepha*, em função do grande número de espécies existentes e a ocorrência nas mais diversas plantas frutíferas (Salles & Kovaleski, 1990; Kovaleski *et al.*, 2000; Silva *et al.*, 2006). Segundo Sequeira *et al.* (2001) as espécies deste gênero são as mais destrutivas dos tefritídeos, atacando frutíferas de regiões tropicais e subtropicais.

O gênero *Anastrepha* encontra-se distribuído na América do Norte (apenas no México, no Texas e Sul da Flórida), América Central, praticamente toda América do Sul (exceto Chile e Sul da Argentina) e na maioria das ilhas do Caribe (Aluja, 1994). Segundo Zucchi (2000a), *Anastrepha* é o gênero de maior importância no Brasil, onde, até o momento, são conhecidas 94 espécies, das 195 já descritas para o mundo. As espécies de maior importância econômica na fruticultura mundial, segundo Aluja (1994), são *A. fraterculus*, *Anastrepha grandis* (Macquart), *Anastrepha ludens* (Loew), *Anastrepha obliqua* (Macquart),

Anastrepha serpentina (Wiedemann), *Anastrepha striata* (Schiner) e *Anastrepha suspensa* (Loew).

Destacando-se por ser muito polífaga, *A. fraterculus* é amplamente dispersa pelo continente Americano (Kovaleski *et al.*, 1999; Kovaleski *et al.*, 2000). Sua importância varia conforme o local de ocorrência, sendo considerada praga primária na Argentina, Uruguai e estados do Sul e Sudeste do Brasil (Malavasi *et al.*, 2000).

No Rio Grande do Sul, *A. fraterculus* é a espécie dominante em diversas frutíferas, com valores de frequência superiores a 80% (Salles & Kovaleski, 1990; Kovaleski, 1997; Silva *et al.*, 2006; Gattelli *et al.*, 2008).

As moscas-das-frutas têm reprodução sexuada, sendo os ovos depositados isolados ou em grupos, dentro do fruto, a distâncias variáveis da superfície, na região do epicarpo ou do mesocarpo destes (Aluja, 1994). A escolha do local da oviposição é influenciada por fatores olfativos e visuais, mas os fatores que influenciam na escolha final são pouco entendidos (Aluja, 1994; Salles, 1995).

No Brasil, espécies de *Anastrepha*, apesar de possuírem trinta e uma famílias de plantas hospedeiras, estão fortemente associadas a Myrtaceae (37% das espécies do gênero com hospedeiros conhecidos) e Sapotaceae (24%). Entretanto, para aproximadamente 56% das espécies de *Anastrepha* não se conhece os hospedeiros, já que os levantamentos são realizados principalmente com frascos caça-moscas, não permitindo associá-las com segurança aos hospedeiros (Zucchi, 2000b).

Na maior parte das frutíferas comerciais, onde as moscas-das-frutas causam danos, estes são em consequência da incursão de adultos originários de outros hospedeiros localizados nas áreas adjacentes do pomar, como mirtáceas, presentes na mata nativa (Malavasi *et al.*, 1994). Ribeiro *et al.* (1995) observaram

que os frutos da periferia de pomares comerciais e os localizados mais próximos das áreas de mata, são os primeiros a serem atacados por mosca-das-frutas, sugerindo que a migração tem origem de hospedeiros silvestres. Em experimento de recaptura, em pomar de macieira, localizado em Vacaria, RS, Kovaleski *et al.* (1999) verificaram que moscas que utilizavam o pomar para alimentação e oviposição eram provenientes das matas nativas das cercanias. Esta característica, juntamente com o fato de *A. fraterculus* não apresentar diapausa (Salles, 1993), possibilita a ocorrência de infestações durante todo ano (Garcia *et al.*, 2003), dificultando o manejo e controle da praga.

Na produção orgânica de frutíferas, diversos autores têm relatado que a presença e os danos ocasionados por moscas-das-frutas são um dos principais problemas para manutenção do sistema (Silva, 1998; Keske, 2004; Ribeiro, 2004; Rupp, 2005; Gonçalves *et al.*, 2005). Além disso, produtos permitidos nas normas de produção orgânica, como preparados homeopáticos, extratos de plantas e repelentes, não têm apresentado real eficácia em trabalhos de campo no manejo de *A. fraterculus* (Keske, 2004; Rupp, 2005; Gonçalves *et al.*, 2005). Para Gonçalves *et al.* (2005), o manejo de mosca-das-frutas em sistemas orgânicos ainda persiste como uma área que necessita de mais pesquisas.

2.2 Criação artificial de *Anastrepha fraterculus*

Estudos sobre a criação artificial de *A. fraterculus* já foram realizados, porém sem muito êxito (Simón *et al.*, 1971; González, 1971). Os principais problemas constatados são relacionados às baixas viabilidade nas fases de ovo (Barros *et al.*, 1983; Petelincar *et al.*, 1985) e larval (Martins, 1986).

Salles (1992) obteve resultados satisfatórios utilizando como substrato para a oviposição, frutos artificiais de ágar semi-esféricos, feitos com polpa de amora-

preta (*Rubus* sp.) e envoltos em parafilme. Para as larvas, a dieta era à base de açúcar, levedura de cerveja e gérmen de trigo. Todavia, este método de criação apresentou problemas, principalmente relacionados à viabilidade dos ovos e no estabelecimento das larvas na dieta artificial.

O trabalho de Jaldo *et al.* (2001), avançou com relação a estes problemas, utilizando uma metodologia fundamentada, principalmente, na oviposição das fêmeas em painéis de silicone, semelhante aos utilizados para outras espécies de *Anastrepha*, obtendo-se ao final, uma alta viabilidade dos ovos ($84,0 \pm 5,3\%$) e permitindo a coleta destes com manuseio mínimo.

O método de coleta de ovos utilizado por Jaldo *et al.* (2001) entretanto, exige que no início da criação exista uma grande quantidade de pupários para o estabelecimento da criação. Além disso, as moscas selvagens são pouco adaptadas ao painel de silicone, resultando em reduzida oviposição na fase inicial de implementação, tornando o processo relativamente lento. No entanto, até o momento, este é o método que vem sendo utilizado para a criação de *A. fraterculus* e tem dificultado a rápida execução de pesquisas que buscam o desenvolvimento de métodos de controle mais eficientes para mosca-das-frutas sul-americana.

2.3 Sistema orgânico de produção

O conceito de sistema orgânico de produção agropecuária e industrial abrange os denominados: ecológico, biodinâmico, natural, regenerativo, biológico, agroecológico, a permacultura e outros, que atendam os princípios estabelecidos pela Lei 10.831/2003 (Brasil, 2003).

No Brasil, a Instrução Normativa 64/2008 (Brasil, 2008c), o Decreto 6.323/2007 (Brasil, 2007) e a Lei 10.831/2003 (Brasil, 2003), estabelecem os

procedimentos para o sistema orgânico de produção agropecuária. De acordo com esta legislação, por sistema orgânico de produção entende-se todo aquele em que se adotam técnicas específicas, mediante a otimização do uso dos recursos naturais e socioeconômicos disponíveis e o respeito à integridade cultural das comunidades rurais, tendo por objetivo a sustentabilidade econômica e ecológica, a maximização dos benefícios sociais, a minimização da dependência de energia não-renovável, empregando, sempre que possível, métodos culturais, biológicos e mecânicos, em contraposição ao uso de materiais sintéticos, a eliminação do uso de organismos geneticamente modificados e radiações ionizantes, em qualquer fase do processo de produção, processamento, armazenamento, distribuição e comercialização, bem como a proteção do meio ambiente (Brasil, 2003).

Entre as finalidades do sistema orgânico de produção, pode-se destacar a preservação da diversidade biológica dos ecossistemas naturais e a recomposição ou incremento da biodiversidade dos ecossistemas modificados em que se insere o sistema de produção, além de promover um uso saudável do solo, da água e do ar e, redução, ao mínimo, de todas as formas de contaminação desses elementos que possam resultar das práticas agrícolas (Brasil, 2003).

A produção orgânica somente é reconhecida oficialmente para fins de exportação, se possuir a certificação de alguma organização jurídica, credenciada junto ao MAPA, a qual estabelece as normas de certificação mais adequadas às características da região em que atuam, em acordo com a legislação (Liu, 2003; Brasil, 2007).

Produtos oriundos da produção orgânica possuem um mercado em consolidação, que vem crescendo significativamente, porém, o volume produzido ainda se encontra abaixo da demanda. De acordo com estimativas da FAO, em

2006, o mercado orgânico mundial era de aproximadamente US\$ 40 bilhões (2% do mercado varejista mundial de alimentos) e espera-se que chegue a US\$ 70 bilhões em 2012. A agricultura orgânica ocupa aproximadamente 31 milhões de hectares de cultivos certificados e pastagens e mais de 62 milhões de hectares de áreas de extrativismo certificado (FAO, 2007; Willer & Yussefi, 2007).

No Brasil existem 15 mil produtores e 800 mil ha no sistema orgânico, ou seja, 0,3% da terra agricultável do país (Willer & Yussefi, 2007; Brasil, 2008a).

De acordo com Yussefi (2004), o Brasil, juntamente com a Argentina, constitui um dos maiores exportadores de produtos orgânicos da América Latina, que é a terceira região do mundo em número de hectares no sistema (19%), atrás da Oceania (39%) e da Europa (23%) (Willer & Yussefi, 2007). O Brasil tem potencial de crescimento neste sistema de produção, onde grandes áreas cultivadas estão em fase de conversão (Liu, 2003). Lernoud & Piovano (2007) estimam que o crescimento anual da produção orgânica no país seja de 30 a 50%.

Segundo Sahota (2007), mais de 90% dos alimentos orgânicos produzidos em países da América Latina, como Argentina, Brasil e México são exportados. Entretanto, com relação às frutas, a maior parte da produção do país é vendida no mercado interno. No período de agosto/2006 a maio/2008, o Brasil exportou somente 770 t de frutas, sendo que, deste total, 768 t foram unicamente de mangas (Brasil, 2008b).

2.4 Manejo e controle de mosca-das-frutas no sistema orgânico de produção

Analisado numa escala histórica e mundial, verifica-se que o controle de moscas-das-frutas, principalmente de *Anastrepha* spp., permaneceu, nas décadas

passadas, estagnado do ponto de vista técnico e conceitual, baseando-se na utilização de armadilhas McPhail para o monitoramento, na aplicação de iscas tóxicas e de tratamentos pós-colheita térmicos e com fumigantes (Aluja, 1994). No Brasil, atualmente, o método químico é ainda a forma de controle das moscas-das-frutas mais utilizada, empregando-se inseticidas fosforados, os quais possuem elevada toxicidade e carência, além de não serem seletivos aos inimigos naturais (Kovaleski & Ribeiro, 2003; Scoz *et al.*, 2004).

Nos sistemas de produção orgânica, apesar de ser reconhecida a redução na quantidade de impactos negativos causados ao ambiente e o incremento na renda familiar (Magano *et al.*, 2003), ainda há uma escassez de tecnologias apropriadas para o manejo de pragas e doenças. Estas tecnologias, muitas vezes, são utilizadas de maneira empírica, baseadas em observações isoladas e, geralmente, sem a devida comprovação científica.

Nos pomares manejados no sistema de produção orgânica, de acordo com a Instrução Normativa nº 64/2008, são diversas as opções de controle de pragas (Brasil, 2008c). Entretanto, poucos trabalhos têm demonstrado que os produtos preconizados nesse sistema são efetivos para o controle desses insetos-praga.

Azevedo *et al.* (2002), em trabalho realizado junto à Associação de Produtores Ecológicos da Região Sul do Estado do Rio Grande do Sul (ARPA-Sul), verificaram a predominância de meios físicos, culturais e aplicações de extratos de plantas, dentre as medidas de controle fitossanitário utilizadas pelos produtores orgânicos.

Os óleos e extratos de plantas, principalmente os obtidos de espécies de Meliaceae, como o nim (*Azadirachta indica* A. Juss.) e o cinamomo (*Melia azedarach* L.), se destacam pelas propriedades inseticidas (Schmutterer, 1990; Vendramin & Scampini, 1997; Mordue (Luntz) & Nisbet, 2000). Mais de 540

espécies de insetos, incluindo todas as pragas-chave da agricultura apresentam alguma suscetibilidade ao nim, exibindo diversos efeitos comportamentais e fisiológicos (Schmutterer & Singh, 2002).

Em relação às moscas-das-frutas, dentre as alternativas para o controle na produção orgânica, vários trabalhos têm referido a utilização de extratos vegetais, principalmente, o óleo de nim, extraído das sementes de *A. indica* (Stark *et al.*, 1990; Van Randen & Roitberg, 1998; Di Ilio *et al.*, 1999; Salles & Rech, 1999; Singh, 2003).

O triterpenóide azadiractina é o principal componente do extrato e atua interferindo no funcionamento das glândulas endócrinas que controlam a metamorfose em insetos, atuando principalmente sobre os tubos de Malpighi e no *corpus cardiacum* do inseto, afetando o desenvolvimento na fase larval. Os insetos que atingem a fase adulta podem apresentar em deformações do tegumento, asas, pernas e outras partes do corpo. A azadiractina também pode inibir o desenvolvimento do embrião nos ovos. Além disso, este terpenóide possui um potente efeito anti-alimentar e fago-repelente em muitos insetos (Godfrey, 1994; Viegas Jr., 2003; Martinez, 2002; Isman, 2006).

Diversos estudos identificaram uma acentuada similaridade estrutural entre a ecdisona e a azadiractina, entretanto não está claro se os efeitos sobre este hormônio são diretos ou indiretos, de acordo com Viegas Jr. (2003). O autor relata que existem evidências que a azadiractina pode bloquear a liberação de várias substâncias localizadas no sistema nervoso central, assim como as responsáveis pela formação de quitina, além de impedir a comunicação sexual, causar esterilidade e diminuir a mobilidade (Rembold, 1989; Stone, 1992).

Na prática, somente a ação fisiológica, como reguladora de crescimento, é considerada eficaz, já que o efeito anti-alimentar é altamente variável entre

espécies de pragas e, mesmo insetos que possuem uma repelência inicial, são capazes de uma rápida dessensibilização à azadiractina (Bomford & Isman, 1996; Isman, 2006).

Stark *et al.* (1990) registraram efeito da azadiractina na metamorfose, longevidade e na reprodução de diversos tefritídeos. Van Raden & Roitberg (1998) constataram efeitos do nim sobre a viabilidade e maturação de ovos, além de afetar a sobrevivência de adultos de *Rhagoletis indifferens* Curran (Diptera; Tephritidae), quando alimentados com o extrato de nim misturado à água, logo após a emergência. Em *Rhagoletis pomonella* (Walsh) (Diptera; Tephritidae), Prokopy & Powers (1995) não verificaram inibição da oviposição nem aumento na mortalidade por azadiractina. Testando extratos aquosos de nim, oferecidos com a fonte de água para adultos de *Bactrocera cucurbitae* (Coquillett) e *Bactrocera dorsalis* (Hendel), Singh (2003), constatou efeitos severos significativos sobre a emergência dos adultos, fecundidade e fertilidade. Avaliando, em laboratório e a campo, o efeito de azadiractina (Aza-Direct[®] e Agroneem[®]) sobre *Rhagoletis mendax* Curran (Diptera: Tephritidae), Barry *et al.* (2005) verificaram que em laboratório, os produtos causaram baixa mortalidade tópica, nenhum efeito após exposição residual e nenhuma repelência. Em campo, os autores não observaram diferença significativa no número de adultos capturados, mas a quantidade de larvas nos frutos tratados foi significativamente menor, que a testemunha.

Em relação a *A. fraterculus*, Salles & Rech (1999) observaram redução na postura e no desenvolvimento larval e pupal, após aplicação de extratos de nim e de cinamomo, na forma líquida e pastosa. De acordo com os autores, as larvas não completaram a ecdise, as pupas apresentaram malformações e os adultos não expandiram normalmente suas asas. Já Botton *et al.* (2003), em laboratório, não encontraram efeito do nim sobre adultos e larvas de *A. fraterculus* no interior

dos frutos. Da mesma forma, em pomares de pessegueiro e ameixeira, em Rio do Sul, SC, avaliando a quantidade de larvas presentes nos frutos, Keske (2004) não conseguiu reduzir o dano causado pelas moscas-das-frutas, utilizando produtos à base de óleo de nim (Dalneem[®]) entre 0,3 a 0,5%, além de extrato pirolenhoso a 0,2%.

Para Gonçalves *et al.* (2005), embora os extratos de nim, geralmente, apresentem resultados positivos na redução populacional de *A. fraterculus* em laboratório, isto não tem sido confirmado a campo pelos agricultores. Além disso, apesar de uma parcela dos trabalhos terem demonstrado efeito no controle das moscas-das-frutas, permanece a questão dos efeitos secundários destes produtos sobre inimigos naturais e polinizadores.

O extrato pirolenhoso, obtido da destilação do líquido resultante da condensação da fumaça durante o processo de carbonização da madeira (Myasaka *et al.*, 1999), é um produto alternativo que vem ganhando destaque e, em hipótese, apresenta propriedades inseticidas. De acordo com Miyasaka *et al.* (2001), o extrato pirolenhoso bruto não deve ser utilizado na agricultura sem ser purificado para eliminar o alcatrão. Apesar de ser usado há muitos anos, especialmente no Japão, são poucos os trabalhos que têm mostrado o seu efeito inseticida, deletério, sinergista ou repelente sobre insetos-praga, como os de Azevedo *et al.* (2005), em *Bemisia tabaci* (Genn.) (Hemiptera; Aleyrodidae), Morandi Filho *et al.* (2006), em *Argyrotaenia sphaleropa* (Meyrick) (Lepidoptera; Tortricidae), Souza-Silva *et al.* (2003), em *Atta sexdens rubropilosa* Forel (Hymenoptera; Formicidae) e Kim *et al.* (2008) em *Nilaparvata lugens* (Stål), e *Laodelphax striatellus* (Fallen) (Hemiptera: Delphacidae).

A repelência de extratos pirolenhosos, provenientes de três espécies arbóreas (*Eucalyptus grandis*, *Melia azedarach* e *Pinus caribaea*), sobre a

oviposição de *Tuta absoluta* (Lepidoptera; Gelechiidae) e *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera; Noctuidae) foi avaliada por Pansiera *et al.* (2003). Os autores constataram que só o extrato de *E. grandis* reduziu significativamente a oviposição de *T. absoluta*, enquanto para *S. frugiperda* nenhum dos produtos afetou a oviposição.

Outro produto que se destaca como uma alternativa para o controle de insetos-praga na produção orgânica é a calda sulfocálcica, tradicionalmente conhecida como um fungicida protetor à base de enxofre, que tem sido recomendada nos tratamentos erradicantes de ácaros no inverno, em geral, em frutíferas de clima temperado (Penteado, 2000). A calda é um polisulfeto de cálcio (CaS_x), formado da reação do hidróxido de cálcio com o enxofre. Conforme Polito (2001), as propriedades acaricidas e inseticidas da calda são resultantes da reação dos compostos da calda aplicada sobre a planta, com a água e o gás carbônico, que produzem gás sulfídrico e enxofre coloidal.

Utilizando cálculos baseados na produtividade estimada, nas perdas e no limite para viabilidade econômica de citros, Silva (2005) sugere que a calda sulfocálcica seria um método recomendável para o controle das moscas-das-frutas, somente no início da infestação em densidades baixas, em torno de 0,2 moscas/armadilha/dia e quando não houver estimativa de grande remuneração pela produção. Entretanto, embora a aplicação de calda sulfocálcica em pomar de citros tenha sido eficiente na diminuição da população da mosca-das-frutas, provocou impacto negativo na composição dos táxons presentes nos pomares, capturados através de armadilha, conforme Silva (2005) e Dal Soglio *et al.* (2007). Segundo Silva (2005) muitos aspectos relacionados à calda sulfocálcica ainda devem ser esclarecidos. Além disso, o autor ressalta que deveriam ser realizados estudos visando identificar, em laboratório, concentrações que apresentem

eficiência no controle das moscas-das-frutas e que não provoquem desequilíbrios nos pomares.

A rotenona é outro composto inseticida, permitido na produção orgânica, e que consiste de um dos vários isoflavonóides extraídos das raízes ou rizomas de espécies de *Derris*, *Lonchocarpus*, e *Tephrosia* (Leguminosae) (Aguiar-Menezes, 2005; Isman, 2006).

A rotenona impede o transporte de elétrons, nas mitocôndrias, atuando como inibidor da enzima NADH₂-desidrogenase glutâmica da cadeia respiratória, bloqueando a fosforilação oxidativa da adenosina difosfato (ADP) em adenosina trifosfato (ATP), o que leva à redução das taxas respiratórias, ataxia, convulsões, paralisia e morte por parada respiratória. É classificada como moderadamente tóxica para os mamíferos e altamente tóxica para peixes (Kathrina & Antonio, 2004; Aguiar-Menezes, 2005; Isman, 2006).

A rotenona apresenta, segundo Aguiar-Menezes (2005), amplo espectro de ação por contato e ingestão, mas decompõem-se rapidamente pela ação da luz e calor, apresentando curto período residual (uma semana ou menos).

Diversos trabalhos já demonstraram sua eficiência contra várias pragas, como *Musca domestica* L. (Diptera: Muscidae) (Costa *et al.*, 1997) e *Leptinotarsa decemlineata* (Say) (Coleoptera; Chrysomelidae) (Hamilton & Lashomb, 1997).

Claro (2001) ressalta a importância da utilização de produtos de origem animal ou vegetal como repelentes a muitas pragas, entre elas, a mosca-das-frutas. Entretanto, o autor afirma que estas indicações, embora pareçam eficientes, na maioria dos casos são em função de observações isoladas, sugerindo que ação desses produtos seja avaliada utilizando metodologias experimentais adequadas.

2.5 Métodos e técnicas para avaliar efeitos de inseticidas em laboratório

A escolha da técnica para avaliar um inseticida deve estar relacionada ao ciclo de vida da praga e ser voltada ao estágio suscetível da mesma. A fase mais suscetível, em geral, é aquela na qual o organismo está mais exposto ao inseticida (Matthews, 1997). Uma série de testes é necessária para investigar a efetividade da ação de diferentes formulações inseticidas, por contato, residual, tópica e ingestão (Thacker *et al.*, 2002).

Conforme Samsoe-Petersen (1989), existem duas abordagens com relação à avaliação de risco e toxicidade de inseticidas: experimentos de campo e de laboratório. Experimentos a campo são essenciais para a obtenção de uma imagem completa das séries de reações, metabolismo e efeitos em todos os níveis dos sistemas. Entretanto, estes são de limitada reprodutibilidade e difícil interpretação, principalmente pela insuficiência dos métodos de mensuração de respostas em populações. Conforme o mesmo autor, experimentos de laboratório podem ser controlados e normatizados. Os resultados podem ser reproduzidos e fornecem informações precisas sobre as reações de uma ou várias espécies para um determinado composto. Porém, a interpretação desses resultados é dificultada pela mesma série de fatores que o fazem reproduzível. As poucas espécies envolvidas e as condições controladas, o tornam pouco natural e comprometem predições baseadas nos resultados. Matthews (1997), por sua vez, afirma que a normatização dos métodos é extremamente importante, especialmente, para a comparação dos resultados.

Associar condições laboratoriais com a realidade do campo não é tarefa fácil, já que um número muito grande de fatores pode incidir sobre uma dada resposta toxicológica de uma espécie (Cruz *et al.*, 2000). Entre estes fatores há

diferenças intrínsecas entre grupos de insetos (características inerentes a cada espécie, ao estágio de vida, ao peso, ao tamanho corporal e ao sexo), nas condições ambientais (fatores extrínsecos) e nas variáveis experimentais, como o método de aplicação (Matthews, 1997). De acordo com o mesmo autor, fêmeas de insetos freqüentemente possuem uma maior tolerância a inseticidas. Desta forma, todos os bioensaios deveriam ser realizados com somente um sexo, ou com igual proporção de cada sexo.

Os resultados obtidos por Humeres *et al.* (1999), exemplificam o exposto por Matthews (1997). Os autores verificaram uma estreita relação entre o sexo e o tempo letal para matar 50% da população (TL₅₀), em *A. fraterculus* submetida à fentiona, entretanto sendo os machos menos sensíveis que as fêmeas. Nigg *et al.* (1994) registraram resultados semelhantes para *A. suspensa*, porém com as fêmeas apresentando maior tolerância a malationa.

Diversos parâmetros devem ser considerados em um teste de eficiência de um produto fitossanitário sugerem Robertson & Worner (1990) e Robertson *et al.* (2007), como a utilização de bioensaios múltiplos, a avaliação de diferentes métodos de exposição, a observação de variáveis biológicas (sexo e idade) e a observação de outros efeitos além da mortalidade, como sobre o comportamento e a reprodução. Cruz *et al.* (2000) consideram que a avaliação de vários parâmetros, de maneira concomitante, é uma tarefa praticamente impossível. Assim, esses devem ser considerados ao longo das investigações, dependendo da realidade biológica de cada organismo e dos objetivos do estudo.

A escolha das técnicas experimentais, segundo Matthews (1997), vai depender dos objetivos da avaliação: aplicações tópicas fornecem uma dose mais precisa para medir a toxicidade intrínseca, enquanto que testes usando

superfícies tratadas ou pulverizações diretas sobre os insetos, representam um resultado mais próximo das condições de campo.

As técnicas clássicas para a determinação do efeito de inseticidas sobre insetos, conforme Cruz *et al.* (2000), freqüentemente envolviam o uso de aplicação tópica de uma concentração seriada de inseticida dissolvida em solvente apropriado. Os dados obtidos eram analisados a partir da dose letal mediana relacionada com o peso corporal (DL_{50}). Somente a partir da década de 80, é que ocorreram mudanças significativas na filosofia e nas metodologias toxicológicas, que passaram a ser enfatizadas nas relações entre dados laboratoriais e a realidade observada a campo.

Com relação às moscas-das-frutas, apesar de existir um grande número de inseticidas permitidos e utilizados há muito tempo, quando comparada com outros insetos, trabalhos toxicológicos são relativamente escassos (Cruz *et al.*, 2000).

2.6 Seletividade de produtos fitossanitários

O controle de insetos-praga, exclusivamente, com inseticidas químicos compromete as cadeias de inimigos naturais e insetos polinizadores, estreita a diversidade biológica e desencadeia o aparecimento de novas pragas. Com a intervenção do homem no ambiente natural, o equilíbrio das cadeias alimentares é profundamente alterado, pois muitas espécies desaparecem ou suas populações são reduzidas. Esta quebra do equilíbrio natural é uma das conseqüências negativas da ação dos agrotóxicos na entomofauna. Os insetos-praga que sobrevivem, após a aplicação dos agrotóxicos, vão se multiplicando e tornam-se cada vez mais resistentes aos produtos aplicados, sendo necessária a utilização de dosagens cada vez maiores para o controle efetivo das populações, com amplificação do impacto na entomofauna benéfica (Carvalho *et al.*, 2000).

Existe uma tendência, segundo Cruz *et al.* (2000), de consorciar a aplicação de inseticidas para mosca-das-frutas, com outros tipos de controle, como o biológico, tornando necessária a execução de estudos toxicológicos experimentais que avaliem o efeito de inseticidas sobre os inimigos naturais.

De maneira geral, a importância do conhecimento da ação de produtos fitossanitários sobre inimigos naturais e polinizadores já foi demonstrada em diversos trabalhos e em várias culturas, tais como as frutíferas (Hassan *et al.*, 1987; Hassan, 1992; Hassan *et al.*, 1994; Hassan, 1997; Mani *et al.*, 1997; Degrande *et al.*, 2002; Boyero *et al.*, 2005; Ferreira *et al.*, 2005; Cloyd & Dickinson, 2006; Rocha *et al.*, 2006; Moura, 2007, Rocha, 2008).

A associação dos métodos de controle biológico com produtos fitossanitários registrados, só é possível se estes produtos apresentarem alguma seletividade aos inimigos naturais (Ripper *et al.*, 1951; Croft, 1990; Rigitano & Carvalho, 2001). Dessa maneira, a manutenção de organismos não-alvos, a redução de impactos ambientais e o incremento da sustentabilidade do sistema seriam promovidos.

A seletividade é a propriedade de um produto fitossanitário para controlar uma praga específica, provocando baixo impacto sobre os organismos benéficos que compõem o agroecossistema (Croft, 1990; Degrande, 1996).

A seletividade de um produto fitossanitário, segundo Blümel *et al.* (1999), é usada, com frequência, para expressar sua inocuidade a organismos benéficos. A seletividade pode ser classificada em dois tipos: fisiológica e ecológica. A primeira resulta de diferenças de absorção, no processo de desintoxicação, degradação enzimática e excreção que existem entre as diferentes espécies artrópodes. Já a seletividade ecológica surge por diferenças na exposição ao inseticida, quando as espécies benéficas são menos expostas ao produto que as pragas. Seletividade ecológica pode resultar de diferenças no comportamento e na biologia, estar

relacionada à distribuição do produto e do inseto, decorrente de efeitos de fatores ambientais sobre o produto ou de propriedades físico-químicas (Croft, 1990; Amano & Haseeb, 2001; Rigitano & Carvalho, 2001).

A seletividade ecológica pode ser alcançada, mesmo com um produto que não é fisiologicamente seletivo, desde que o produto seja aplicado com uma metodologia planejada (Godoy, 2003). Um conhecimento amplo dos aspectos bioecológicos das pragas e das espécies benéficas é necessário, conforme já havia comentado Degrande (1996).

Os tratamentos fitossanitários, geralmente, afetam mais insetos benéficos, como polinizadores e inimigos naturais, do que as pragas, principalmente, devido à forma mais comum de contaminação ser o contato com os resíduos dos produtos. Geralmente, esses insetos apresentam uma superfície de contato maior em relação ao seu volume, são mais móveis, dependentes de seus hospedeiros e possuem sistemas enzimáticos menos complexos (Croft, 1990).

A redução ou eliminação de polinizadores pode produzir uma grande perda no rendimento e na qualidade dos frutos, especialmente em espécies que necessitam de polinização entomófila. Somado a isto, a eliminação dos inimigos naturais de uma área, pode favorecer a aparecimento das pragas secundárias e a intensificação dos danos produzidos pelas pragas primárias, gerando a necessidade de um maior número de aplicações de inseticidas, aumentando os custos, a contaminação ambiental e o desenvolvimento de resistência. A aplicação de produtos não seletivos tem resultado, com freqüência, na ocorrência de desequilíbrio biológico em algumas culturas que possuem elevada diversidade e altas populações de inimigos naturais (Gravena & Lara, 1976).

Desta forma, torna-se necessário o conhecimento dos efeitos que os inseticidas têm sobre os insetos benéficos, visando à comercialização de produtos

seletivos, ou seja, que não afetem significativamente os benéficos, mas que proporcionem um controle eficaz da praga alvo (Croft, 1990).

Graham-Bryce (1987) refere como métodos para avaliar a seletividade de produtos fitossanitários a inimigos naturais, as aplicações tópicas, exposições a superfícies tratadas, pulverizações diretas, testes de ingestão, imersões em soluções ou suspensões tóxicas e exposições a vapores. Para Stark *et al.* (1995) os resultados obtidos em laboratório servem para uma simples previsão da toxicidade para mamíferos ou insetos benéficos, é necessário também considerar a exposição a doses subletais e efeitos sobre mais de um organismo.

No ano de 1974, visando padronizar as metodologias de pesquisa de seletividade, a “International Organization for Biological and Integrated Control of Noxious Animals and Plants (IOBC), West Palaearctic Regional Section (WPRS)” criou o grupo de trabalho em pesticidas e organismos benéficos (Working Group of Pesticides and Beneficial Organisms), com o objetivo de identificar produtos fitossanitários seletivos para artrópodes benéficos e promover o uso dos mesmos, com intuito de aumentar o controle biológico na proteção de plantas e reduzir impacto em organismos não-alvo. Este grupo já testou, desde então, mais de 140 ingredientes ativos em 20 organismos benéficos diferentes (IOBC, 2008).

Posteriormente, em 1984, a Organização Européia e Mediterrânea para a Proteção de Plantas (EPPO), começou a participar daquele grupo, com o objetivo principal de prover protocolos harmonizados para o registro europeu, baseados, em sua maior parte, nos dados publicados pela IOBC (IOBC, 2008).

Os testes de seletividade, conforme Samsoe-Petersen (1989) e Hassan (1997), devem seguir uma seqüência, iniciando com testes de laboratório e seguindo com testes de semi-campo e campo, sendo os produtos classificados em função dos seus efeitos em cada teste. De maneira geral, com pequenas

variações, os testes de laboratório são realizados através de contato do inimigo natural com o resíduo fresco e seco do produto ou por pulverização direta (aspersão). Conforme os autores, os testes seqüenciais assumem que, se um produto for inócuo em laboratório, será também nos testes de semi-campo e campo, não necessitando os passos seguintes, exceto quando apresentarem efeitos subletais.

Os produtos são classificados em quatro categorias, em laboratório: 1) inócuo (mortalidade < 30%), 2) levemente nocivo (> 30% e < 79%), 3) moderadamente nocivo (> 80% e < 99%), e 4) nocivo (> 99%). Nos testes de semi-campo e campo, é possível avaliar o risco do produto fitossanitário gerando informações relevantes para a prática (Hassan *et al.*, 1985; Bakker *et al.*, 1992; Hassan, 1994, Reis *et al.*, 1998). No Brasil, conforme a Legislação Federal de Agrotóxicos e Afins (Brasil, 1989; 2000; 2002), cabe ao Ministério do Meio Ambiente e Ibama, a avaliação da periculosidade ambiental no registro de um novo produto. Com relação a insetos, para avaliação da toxicidade sobre organismos não-alvos, somente são realizados testes sobre abelhas (Ibama, 1996).

Apesar dos estudos com produtos fitossanitários para o controle de pragas no sistema orgânico terem aumentando relativamente nos últimos anos, ainda há uma grande lacuna de resultados e verifica-se que muito pouco tem sido realizado no sentido de estudar o efeito destes produtos sobre organismos benéficos (Tedeschi *et al.*, 2001; Ulrichs *et al.*, 2001; Rocha, 2008).

A maioria dos trabalhos avaliou os efeitos da azadiractina sobre insetos benéficos e demonstrou sua seletividade a diversas espécies de inimigos naturais, como *Chrysoperla carnea* (Stephens) (Neuroptera; Chrysopidae) (Viñuela *et al.*, 1996; Vogt *et al.*, 1998; Viñuela *et al.*, 2001; Medina *et al.*, 2001),

Podisus maculiventris (Say) (Hemiptera; Pentatomidae) (Budia *et al.*, 2000) e *Hyposoter didymator* (Thunberg) (Hymenoptera: Ichneumonidae) (Schneider *et al.*, 2000; Viñuela *et al.*, 2001). Naumann & Isman (1996) afirmam que está claro que a azadiractina é considerada não tóxica para mamíferos e polinizadores. Entretanto, para Lowery *et al.* (1993) e Schmutterer (1997), o impacto do nim em predadores e parasitóides deve ser estudado com mais detalhes. Baseado nos trabalhos de Lowery & Isman (1995) e Spollen & Isman (1996), Isman (2006) afirma que os resultados dos testes de seletividade sobre inimigos naturais são altamente variáveis.

Avaliando o efeito de azadiractina e rotenona sobre os himenópteros parasitóides, *Trichogramma pintoi* Voegelé (Trichogrammatidae), *Copidosoma koehleri* Blanchard (Encyrtidae) e *Dolichogenidia gelechiidivoris* (Marsh) (Braconidae) Iannacone & Lamas (2003) verificaram que, na fase adulta, as três espécies foram sensíveis aos produtos, principalmente, nos ensaios de contato residual, avaliados por até 48 horas após a aplicação.

Cosme *et al.* (2007) constataram que a azadiractina reduziu a viabilidade de ovos e foi tóxico para larvas de quarto instar de *Cycloneda sanguinea* (Linnaeus) (Coleoptera; Coccinellidae).

Conforme observado por Volpe *et al.* (2006), o produto vegetal óleo de nim (Organic Neem[®]) causou repelência a *Trichogramma exiguum* Pinto & Platner (Hymenoptera; Trichogrammatidae), enquanto que o extrato pirolenhoso (Biopiról 7M[®]) não. Por outro lado, Morandi Filho *et al.* (2006) seguindo a metodologia do IOBC, avaliaram o efeito secundário do óleo de nim (Natuneem[®]) e do extrato pirolenhoso (Biopiról 7M[®]) sobre adultos de *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera; Trichogrammatidae) e constataram que ambos os produtos são inócuos. Da mesma forma, Busoli *et al.* (2003) testando o efeito de quatro doses

(0,5 a 2,5%) do extrato pirolenhoso (Biopirol 7M[®]) sobre larvas de *Hippodamia convergens* Guerin-Meneville (Coleoptera; Coccinellidae), não registraram mortalidade significativa, considerando o produto seletivo para a espécie.

Segundo Aguiar-Menezes (2005) a rotenona não é tóxica para as abelhas e moscas predadoras (Syrphidae) de pulgões, entretanto, é para peixes, joaninhas e ácaros predadores.

Com relação à calda sulfocálcica, Amaral *et al.* (2003) observaram que, na cultura do café, a mesma causou efeito de repelência e provocou alta mortalidade no ácaro predador *Iphiseiodes zuluagai* Denmark & Muma (Acari; Phytoseiidae). Venzon *et al.* (2006) afirmam que, antes da utilização desse produto, é necessário avaliar os possíveis efeitos adversos sobre os organismos benéficos presentes no agroecossistema.

2.7 *Cryptolaemus montrouzieri* (Coleoptera; Coccinellidae)

Na maioria das frutíferas, os coccinelídeos (Coleoptera; Coccinellidae) destacam-se como inimigos naturais, englobando cerca de 4.200 espécies sendo que, destas, aproximadamente 90% são predadoras (Chacko *et al.*, 1978; Ipert, 1999).

Tanto as larvas como os adultos são eficientes predadores de pulgões, ácaros e cochonilhas, apresentam grande atividade de busca, ocupando todos os ambientes de suas presas, além de serem muito vorazes (Hodeck, 1973; Olkowski *et al.*, 1990).

Entre os coccinelídeos destaca-se *Cryptolaemus montrouzieri*, espécie nativa da Austrália, que tem sido utilizada, comercialmente, em muitos programas de controle biológico clássico sobre várias espécies de cochonilhas e afídeos, em todo o mundo (Bartlett, 1974; Chacko *et al.*, 1978, Reddy & Seetharama, 1997;

Sanches *et al.*, 2000). É considerado o agente mais importante de controle para a cochonilha branca, *Planococcus citri* (Risso) (Hemiptera; Pseudococcidae), principalmente na cultura do citros e em culturas mantidas em casas-de-vegetação (Bartlett & Lloyd, 1958). Esse coccinelídeo também tem sido utilizado no controle de outras espécies de cochonilhas e de algumas de afídeos, coccídeos e aleirodídeos (Bartlett, 1978; Mani & Thontadarya, 1988; Heidari & Copland, 1992). Segundo Babu & Azam (1987a), essa joaninha é um predador generalista que se alimenta de uma ampla gama de espécies de insetos.

No Brasil, em 1973, ocorreu a primeira introdução dessa espécie, entretanto, sem êxito (Berti Filho *et al.*, 1973). Em 1998, a Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical, em colaboração com o Laboratório de Quarentena Costa Lima, da Embrapa Meio Ambiente (Jaguariúna - SP), introduziu novamente, *C. montrouzieri*, procedente do Instituto de Investigaciones Agropecuarias (INIA), do Chile. O objetivo da introdução foi estabelecer o predador exótico em pomares comerciais de citros e de outras frutíferas tropicais, além de avaliar a sua eficiência no controle de cochonilhas, com ênfase em *Orthezia praelonga* Douglas (Hemiptera; Orthezidae) (Nardo *et al.*, 1999).

Atualmente, no Brasil, esse predador tem sido produzido nos laboratórios da empresa Gravena Manecol Ltda. e sua criação está sendo incrementada, uma vez que poderá ser utilizado, também, no controle biológico da "cochonilha rosada" *Maconellicoccus hirsutus* Green (Hemiptera: Pseudococcidae), praga severa e polífaga de frutíferas, hortaliças, ornamentais e essências florestais e recentemente introduzida na Guiana Inglesa. Segundo Tambasco *et al.* (2000) o controle mais viável para essa praga é o biológico, devido a isto que *C. montrouzieri* foi importado.

Os adultos de *C. montrouzieri* medem cerca de 3-4 mm de comprimento, possuem o corpo com coloração preto amarronzada e a parte posterior da cabeça, assim como a porção posterior do abdômen, de cor alaranjada (Babu & Azam, 1987a). Os adultos têm longevidade média de 40 dias, entretanto, esta pode chegar até quatro meses.

São poucos os trabalhos relacionados ao efeito de produtos fitossanitários sobre *C. montrouzieri*, entretanto, os que avaliaram os efeitos de acaricidas, inseticidas e fungicidas, deixaram claro a tolerância diferenciada desta espécie a distintos produtos (Bellows *et al.*, 1985; Morse & Bellows, 1986; Morse *et al.*, 1987; Babu & Azam, 1987b; Bellows & Morse, 1988; Mani *et al.*, 1997; Smith & Krischik, 2000; Simmonds *et al.*, 2000; Rossini *et al.*, 2003; Boyero *et al.*, 2005; Cloyd & Dickinson, 2006; Rocha, 2008). No Brasil, o trabalho de Rocha (2008) é pioneiro ao avaliar a seletividade fisiológica de produtos fitossanitários, utilizados na cultura cafeeira, sobre *C. montrouzieri*.

Simmonds *et al.* (2000), na Inglaterra, observaram que o comportamento de busca de larvas e adultos de *C. montrouzieri* sobre *P. citri*, em folhas de pequenas plantas de citros tratadas com o extrato de sementes de nim e uma formulação comercial de azadiractina (Azatin[®]) foi afetado, permanecendo menos tempo nas folhas tratadas e diminuindo o encontro de presas.

Smith & Krischik (2000), no Minnessota, EUA, não registraram mortalidade significativa de adultos *C. montrouzieri*, quando o nim (Azatin[®]), foi pulverizado sobre estes, em placas de Petri, em laboratório. Rossini *et al.* (2003), em laboratório, Jaboticabal, SP, testaram várias concentrações de óleo de nim pulverizadas sobre adultos *C. montrouzieri* e, da mesma forma, não encontraram efeito em 24, 48 e 72 horas.

2.8 *Apis mellifera* (Hymenoptera; Apidae)

A polinização apresenta extrema importância nos ecossistemas agrícolas (McGregor, 1976; Corbet *et al.*, 1991; Free, 1993; Roubik, 1995). Estima-se em proporções mundiais, que a contribuição para a economia, devido à presença de polinizadores, seja em torno de 54 bilhões de dólares por ano (Kenmore & Krell, 1998).

O mais importante grupo de animais visitantes de flores são as abelhas, sendo responsáveis pela polinização de mais espécies de plantas do que qualquer outro grupo (Raven *et al.*, 2001). Conforme estimativas da FAO (2004), 73% das espécies vegetais cultivadas no mundo são polinizadas por alguma espécie de abelha, 19% por moscas, 6,5% por morcegos, 5% por vespas, 5% por besouros, 4% por borboletas e 4% por pássaros. Para Kremen *et al.* (2002), 66% das 1.500 espécies vegetais cultivadas no mundo são polinizadas principalmente, por abelhas. Esse percentual é responsável por 15 a 30% de toda a produção mundial de alimentos.

No período de florescimento, em culturas de valor comercial, a presença de abelhas promove o aumento da produção de frutos e sementes (Morgado *et al.*, 2002). Guimarães (1989) afirma que, em pomares e flores ornamentais, de 75% a 80% das colheitas, geralmente, são devido à polinização provocada pela atividade das abelhas.

Desta maneira, as abelhas, além de fornecerem produtos de valor comercial (mel, própolis, cera e geléia real), desempenham papel importante na manutenção das comunidades de plantas e animais, principalmente por sua ação polinizadora sobre diversas espécies de angiospermas, que produzem alimentos utilizados pela fauna silvestre (Janzen, 1980; Wiese, 1985; Free, 1993). Estima-se

que há mais de quatro mil gêneros e, aproximadamente, 25 a 30 mil espécies no mundo (Griswold *et al.*, 1995).

Entre as espécies de abelhas, destaca-se *Apis mellifera*, pelo fato de possuir uma excelente adaptação ao continente americano, sendo encontrada facilmente em quase todas as áreas agrícolas, responsável pela polinização em diversas culturas frutíferas, como cajueiro (Paulino, 1992), acerola (Ribeiro, 2000), pessegueiro (Mota & Nogueira-Souto, 2002) e citros (Carvalho, 2006b).

Geralmente, nos estudos de seletividade sobre animais terrestres, dois grupos são utilizados, pássaros e abelhas (Devillers, 2002). Afora sua importância ecológica, as abelhas são, segundo o autor, organismos-teste interessantes, devido à facilidade de criação e manipulação, pelos indivíduos serem relativamente homogêneos, pelo grande conhecimento existente sobre a sua biologia e por apresentarem um ciclo de vida relativamente curto. Conforme o mesmo autor, entre as espécies de abelhas, *A. mellifera* é a mais largamente utilizada devido sua ampla distribuição mundial e todos os inseticidas utilizados na agricultura deveriam ser testados sobre abelhas para estimar sua ecotoxicologia, empregando diferentes metodologias, conforme o objetivo do estudo.

As técnicas utilizadas para avaliação de toxicidade buscam resultados rápidos e confiáveis, a maioria usa testes de ingestão, contato, pulverização e fumigação. Diversos trabalhos têm procurado criar protocolos para esses testes. Neste sentido, destaca-se o de Felton *et al.* (1986), que busca harmonizar os métodos de avaliação de toxicidade sobre abelhas, com recomendações, sem impor procedimentos rigidamente padronizados, o que dificultaria a execução dos experimentos.

Para o registro de novos produtos fitossanitários, a avaliação toxicológica sobre *A. mellifera* em diversos países do mundo, inclusive no Brasil, está baseada

nos protocolos criados por agências européias (OECD, 1998a, b; OEPP/EPPO, 1992, 1993, 2001a, b) e pela agência americana de proteção ambiental (US EPA, 1996a, b).

Estudando os efeitos de diversos produtos fitossanitários sobre abelhas, Thompson (2003) comenta que os testes devem buscar avaliar variáveis como forrageamento, percepção de feromônios, efeito de repelência, desenvolvimento de larvas e sobre a colônia.

Apesar de extremamente importantes, testes sobre os ovos e a forma jovem de *A. mellifera* são de difícil execução em laboratório, em função do comportamento social, da biologia e da dificuldade de manter essas fases em laboratório. São pioneiros os trabalhos como o de Aupinel *et al.* (2007), que realizaram testes de toxicidade sobre larvas de *A. mellifera*, usando um método de ingestão *in vitro*.

Uma grande parte dos trabalhos que buscaram avaliar o efeito de extratos de plantas e produtos permitidos nos sistema orgânico em *A. mellifera*, teve como objetivo o controle de *Varroa jacobsoni* Oudemans e *Varroa destructor* Anderson & Trueman (Acari: Varroidae), ácaros ectoparasitas que encurtam o ciclo de vida das operárias e danificam as larvas, podendo, muitas vezes, levar as colônias à morte (Moretto *et al.*, 1991). Entre esses trabalhos, pode-se citar o de Melathopoulos *et al.* (2000), que constataram que as abelhas não se alimentavam em uma solução de xarope de glicose, contendo menos do que 0,01 mg/mL de azadiractina, concluindo que este composto apresentou efeito deterrente.

González-Gómez *et al.* (2006) não registraram mortalidade de varroa e de abelhas quando avaliaram a toxicidade de três concentrações de extrato de sementes de nim e de um produto comercial (PHC Neem[®]), aplicados através de aspersão em torre.

Testando o efeito de rotenona a 1%, aplicado diretamente sobre *A. mellifera* em colméias, para o controle *V. jacobsoni*, Higes *et al.* (1998) obtiveram uma eficácia de mais de 95% sobre este ácaro, além de não detectarem resíduos no mel analisado, confirmando a possibilidade de utilizar este produto nestas condições.

Os produtos à base de azadiractina, rotenona e enxofre foram considerados, por Hunt *et al.* (2003), como relativamente não-tóxicos para *A. mellifera*.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Criação de *Anastrepha fraterculus*

A criação foi estabelecida no Departamento de Fitossanidade, Faculdade de Agronomia, UFRGS, com pupas de *A. fraterculus* obtidas de mirtáceas infestadas, coletadas em 2008 na região do Vale do Rio Caí, RS (29°37' S, 51°28' W). Os procedimentos utilizados foram adaptados dos trabalhos de Salles (1992; 1999), Jaldo *et al.* (2001) e Vera *et al.* (2007) e a criação mantida em sala climatizada (25 ± 2 °C, 70 ± 10 % U.R., fotofase de 14 horas).

Os adultos obtidos foram colocados em uma gaiola (45 x 30 x 30 cm), com abertura frontal e as laterais confeccionadas de tecido tipo voile, para permitir troca gasosa e entrada de luz. Aos adultos era oferecida água destilada e alimento. A água depositada em recipientes de vidro com tampa perfurada era disponibilizada por capilaridade através de tiras de pano Spontex Resist[®]. O alimento, adaptado de Jaldo *et al.* (2001), composto de açúcar tipo cristal, gérmen de trigo, glúten de milho e lêvedo de cerveja (3:1:1:1), mais a adição de vitamina E, complexo vitamínico e poliaminoácidos, sendo oferecido aos insetos em placas de Petri de 9 cm de diâmetro. Os alimentos e a água eram repostos semanalmente.

Quando as moscas alcançavam oito dias de idade, colocavam-se nas gaiolas três substratos de oviposição, duas vezes por dia (início da manhã e final da tarde). Os substratos de oviposição eram confeccionados em formato de meia

esfera com ágar (2,1%), água (72,9%), polpa industrializada de amora preta (*Rubus* sp.) (25%), nipagin e envoltos em parafilme, adaptado a partir da metodologia de Salles (1992). A face das gaiolas onde estavam os substratos de oviposição eram voltadas e aproximadas a uma fonte de luz (40W, 5000 lux), para estimular a oviposição. Depois de oito horas, os substratos eram removidos das gaiolas e manualmente, com auxílio de bisturi, retirava-se lâminas do substrato de oviposição contendo ovos, as quais eram transferidas para placas de Petri (9 cm de diâmetro), com papel filtro umedecido (Figura 1A). Nas placas estas lâminas eram partidas em pequenos pedaços, com auxílio de seringa e agulha, e adicionava-se mais água destilada, para que ficassem em suspensão (Figuras 1B e 1C). As placas eram acondicionadas, durante 48 horas, em câmara climatizada (25 ± 2 °C, $70 \pm 10\%$ U.R., sem fotofase). Decorrido este período, colocava-se o papel filtro com ovos diretamente sobre a dieta de larvas, de modo que os ovos ficassem voltados para cima (Figura 1D). A dieta de larvas, composta de açúcar tipo cristal, gérmen de trigo, levedura de cerveja nas proporções 1:1:1, além de nipagin, benzoato de sódio, ácido cítrico, sulfato de estreptomicina, ágar e água é a mesma utilizada por Jaldo *et al.* (2001). Essa dieta era acondicionada em bandejas de poliestireno expandido (18 x 24 cm), formando uma camada de 1 cm de espessura, cuja superfície era escarificada, antes de depositar os ovos.

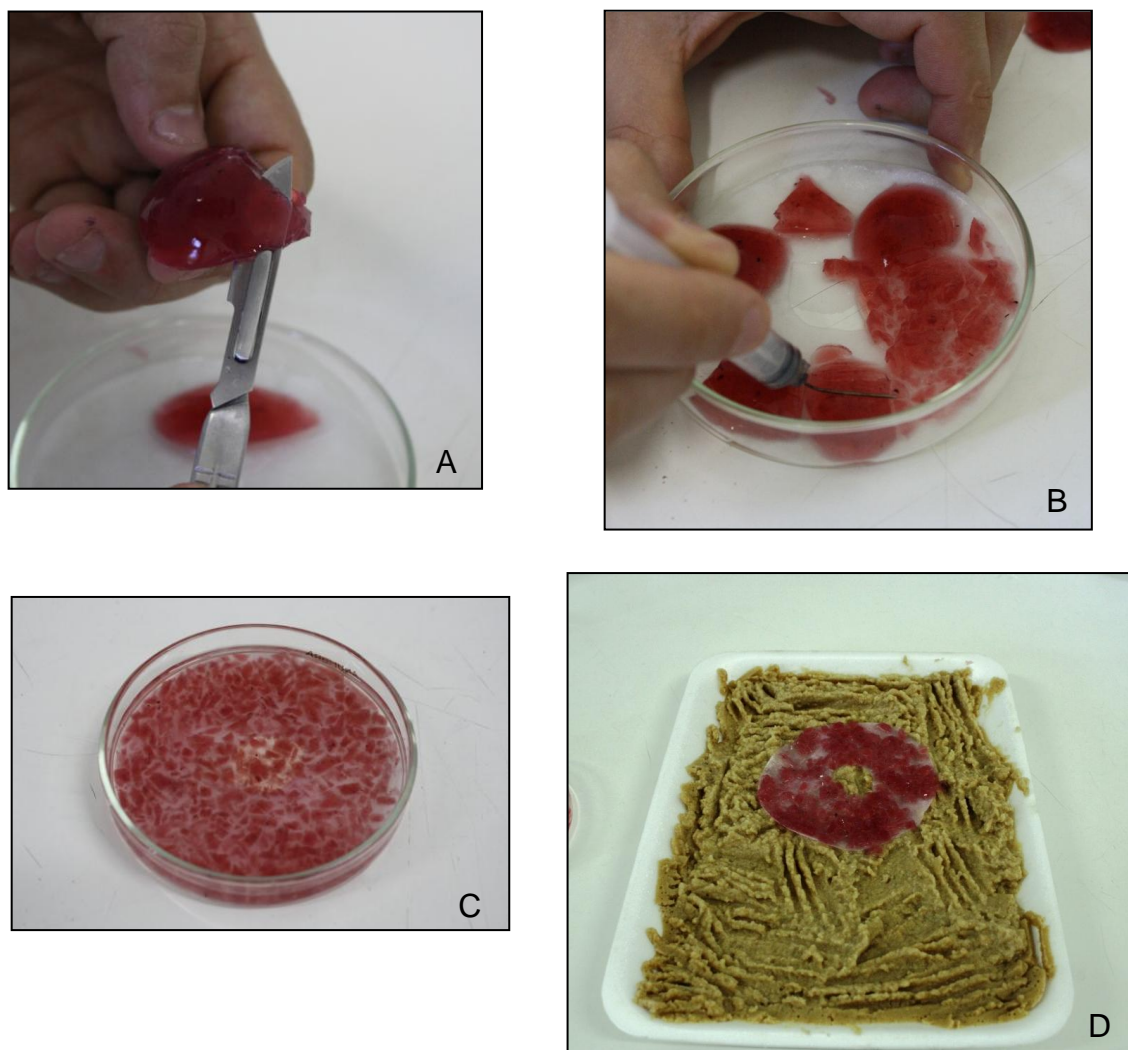


FIGURA 1. Etapas da criação de *Anastrepha fraterculus* em dieta artificial: A) corte de lâminas do substrato de oviposição contendo ovos; B) particionamento das lâminas; C) pedaços de substrato e ovos em suspensão com água destilada; D) papel de filtro com ovos de 48 horas colocados sobre a dieta artificial de larvas.

As bandejas contendo dieta e os ovos eram tampadas com outra similar, embrulhadas com papel jornal e acondicionadas na mesma câmara climatizada onde permaneciam por sete dias. No sétimo dia, os pacotes eram abertos e as bandejas contendo dieta e larvas eram colocadas sobre uma camada (± 1 cm) de areia esterilizada depositada em recipientes de plástico (45 x 30 cm), cobertos com voile e mantidos na sala climatizada (25 ± 2 °C, 70 ± 10 % U.R., fotofase de 14 horas), até que fosse registrada a formação dos pupários.

A partir do registro dos primeiros pupários (± 7 dias), a areia das bandejas era peneirada duas ou três vezes, em intervalos de 48 horas, de maneira a escalonar e otimizar a coleta. Após quatro a seis dias essas bandejas eram descartadas. Os pupários obtidos eram colocados em caixas tipo “Gerbox” (11 cm x 11 cm x 3,5 cm), com areia esterilizada, identificadas e cobertas com tecido voile, onde permaneciam por cerca de 10 dias. Com aproximadamente 400 pupários, montava-se uma nova gaiola. Cada gaiola era mantida por um período de 30 dias.

3.1.2 Avaliação de parâmetros biológicos

Os parâmetros biológicos avaliados foram viabilidade dos ovos, larvas e pupas, duração das fases larval e pupal, peso dos pupários, fecundidade e razão sexual. As avaliações foram repetidas em três diferentes gerações (F3, F4 e F5).

Para avaliar a viabilidade dos ovos, utilizaram-se três repetições de 100 ovos colocados sobre papel filtro preto, disposto sobre uma tira de pano Spontex Resist[®] umedecida e mantidos em placa de Petri. O número de larvas eclodidas foi determinado após três dias.

A duração e a viabilidade larval foram obtidas colocando-se 100 ovos com idade de 48 horas, sobre uma tira de papel filtro em uma placa de Petri (9 cm diâmetro), contendo 100 gramas de dieta artificial, repetindo-se o experimento por três vezes. A placa foi depositada em uma bandeja plástica contendo uma fina camada de areia esterilizada, permitindo que as larvas que abandonassem a dieta pudessem empupar. Foram realizadas observações por um período de até 20 dias. A quantidade de pupários formados foi utilizada para o cálculo da porcentagem do ciclo ovo-pupário.

A fecundidade foi estimada dividindo-se o número de ovos obtidos diariamente em cada gaiola pelo número estimado de fêmeas existentes na mesma, durante um período de 15 dias. O número de fêmeas por gaiola foi estimado do total de pupários utilizado para montar cada gaiola, levando-se em consideração a porcentagem de emergência e a razão sexual.

O peso dos pupários foi obtido de três amostras de 100 pupários, pesados dois dias antes do início da emergência dos adultos.

O número de moscas emergidas de cada sexo foi registrado, observando-se os adultos sem deformidades e que abandonaram por completo o pupário, utilizando-se três repetições de 100 pupários. A razão sexual foi calculada sobre estes valores.

3.2 Bioensaios com *Anastrepha fraterculus*

As moscas-das-frutas (*A. fraterculus*), provenientes da criação descrita anteriormente, foram utilizadas nos experimentos, conduzidos em sala climatizada (25 ± 2 °C, $70 \pm 10\%$ U.R., fotofase de 14 horas), descritos a seguir. Como padrão de controle foi usado o fosforado fentiona a 50 g 100 L⁻¹ (Lebaycid 500 CE[®] a 100 mL 100 L⁻¹).

3.2.1 Avaliação da ação conjunta de ingestão e contato de produtos fitossanitários em *Anastrepha fraterculus* em laboratório

Os produtos, óleo de Nim (Organic Neem[®] – Dalquim Indústria e Comércio e Natuneem[®] - Natural Rural), rotenona (Rotenat CE[®] - Natural Rural), calda sulfocálcica (Sulfertilizantes), extrato pirolenhoso (Biopirol 7M[®]– Biocarbo e Pironat[®] – Natural Rural), utilizados no sistema orgânico de produção, foram

avaliados em condições de laboratório quanto à sua ação de ingestão sobre adultos de *A. fraterculus*. As doses das formulações comerciais dos produtos utilizados nos experimentos são as máximas recomendadas pelo fabricante para aplicações a campo, o dobro destas, para simular múltiplos tratamentos, a metade e a quarta parte, para testar efeitos de subdoses (Tabela 1).

TABELA 1. Produtos e doses avaliados sobre *Anastrepha fraterculus*, *Cryptolaemus montrouzieri* e *Apis mellifera*, em laboratório.

Produto	Nome Comercial	Informações do produto	Doses utilizadas (mL 100L ⁻¹ de água)	Fabricante
Óleo de Nim	Organic neem [®]	N.I.	125, 250, 500* e 1000	Dalquim
Óleo de Nim	Natuneem [®]	1500 ppm de i.a.	125, 250, 500 e 1000	Natural Rural
Rotenona	Rotenat [®]	5 % de i.a.	150, 300, 600 e 1200	Natural Rural
Calda sulfocálcica	---	20% S e 9% Ca	1250, 2500, 5000 e 10000	Sul Fertilizantes
Extrato pirolenhoso	Pironat [®]	-	62,5, 125, 250 e 500	Natural Rural
Extrato pirolenhoso	Biopiról 7M [®]	-	50, 100, 200 e 400	Biocarbo
Fentiona	Lebaycid 500 CE [®]	500 ppm de i.a.	100	Bayer Cropscience
Carbaril**	Sevin 480 SC [®]	480 ppm de i.a.	225	Bayer Cropscience

*em negrito dose recomendada pelo fabricante.

**utilizado como controle somente nos testes sobre *C. montrouzieri*.

N.I. Não informado pelo fabricante.

Para facilitar a manipulação dos adultos nos experimentos, estes eram retirados das gaiolas de criação com auxílio de um tubo de ensaio (10 cm X 2 cm) e submetidos à temperatura de -12 °C por aproximadamente dois minutos, para anestesiá-los. Os bioensaios foram conduzidos em delineamento inteiramente casualizado, considerando-se os produtos, concentrações e sexo dos adultos de *A. fraterculus*, utilizando três repetições por tratamento, sendo cada unidade experimental formada por dez casais, com idade entre cinco e oito dias, ainda no período pré-reprodutivo.

Os casais foram colocados em gaiolas confeccionadas a partir de copo plástico transparente (550 mL), cobertos com tecido voile, permitindo a troca gasosa com o ambiente. Nas gaiolas, os casais ficavam desprovidos de alimento e água por seis horas antes do início dos testes. Durante os experimentos, era oferecido, como alimento, dieta sólida igual à utilizada na criação dos adultos. Os produtos fitossanitários foram oferecidos *ad libitum*, através de uma tira de tecido Spontex Resist® inserida em um tubo de vidro de 10 mL, vedado com parafilme. No preparo das soluções foi adicionado $0,2 \text{ g L}^{-1}$ de corante vermelho Xylidine Ponceau (Sigma Chemical Co.), para atuar como indicador do consumo das soluções, observado através da cor vermelha no abdômen dos insetos (Cruz *et al.*, 1997). Além da testemunha tratada somente com água destilada, havia outra com água destilada e corante. Durante o período do experimento (96 horas), o alimento e as soluções testadas não foram repostos.

3.2.2 Ação de contato em *Anastrepha fraterculus*

Adultos da mosca-das-frutas, com cinco a oito dias foram retirados das gaiolas de criação com auxílio de um tubo de ensaio e anestesiados em temperatura de $-12 \text{ }^{\circ}\text{C}$, por aproximadamente dois minutos. Com o auxílio de uma pinça com fecho de pressão, manipulados pelas asas, para evitar ferimentos, os insetos anestesiados foram dispostos numa placa de Petri (10 cm de diâmetro X 1 cm), a qual previamente era colocada sobre o gelo, por um período de até 10 min. Utilizando microseringa de 1 mL acoplada a um micro-aplicador manual (Burkard Manufacturing Co. Ltd.), aplicou-se topicamente $1 \text{ } \mu\text{L}$ da solução teste na porção dorsal do tórax das moscas. Os tratamentos consistiram nas concentrações das formulações comerciais dos produtos, conforme Tabela 1. As soluções testadas para aplicação tópica foram diluídas em água destilada.

Após o tratamento, grupos de 10 casais, por dose de produto, foram transferidos para gaiolas confeccionadas a partir de copos plásticos transparentes (550 mL), cobertas com tecido voile, para permitir troca gasosa. Como alimento foi oferecida a mesma dieta sólida utilizada na criação e água destilada.

3.2.3 Ação residual em *Anastrepha fraterculus*

O bioensaio de ação residual seguiu a mesma metodologia de Jacas & Viñuela (1994). Cinco casais de *A. fraterculus* foram acondicionados em gaiolas desmontáveis, cujas partes, inferior e superior, eram placas quadradas de vidro (12 cm x 12 cm) e, a parte lateral um cilindro de acrílico (4 cm de altura X 9 cm de diâmetro), com sete perfurações laterais para permitir troca gasosa (ligada a uma bomba de ar para forçar o fluxo e eliminar vapores tóxicos) e o fornecimento de alimento e água. Os tratamentos consistiram nas doses das formulações comerciais dos produtos (Tabela 1).

Os produtos foram aplicados, utilizando pulverizadores manuais calibrados (500 mL), nas faces internas das placas de vidro, num volume de $1,5 \pm 0,25$ mg/cm², aferido em balança eletrônica. As gaiolas foram montadas, logo após as placas secarem em temperatura ambiente, com posterior introdução dos insetos

3.2.4 Avaliação dos experimentos de ação de ingestão, contato e residual em *Anastrepha fraterculus*

A ação de ingestão, contato e residual dos produtos foi avaliada através do $\sqrt{\left(\frac{x}{100}\right)}$ número de indivíduos sobreviventes 15 min, 30 min, 1, 4, 12, 24, 48, 72 e 96 horas após os tratamentos com os inseticidas. Os valores de mortalidade foram corrigidos pela fórmula de Abbott (1925) e a variação no número de insetos mortos por tratamento foi transformada para arco seno de

e submetida à análise de variância, utilizando software SPSS 15, comparando-se as médias pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro.

3.2.5 Avaliação de deterrência a oviposição de *Anastrepha fraterculus*

A ação de deterrência à oviposição em *A. fraterculus* foi avaliada utilizando apenas a calda sulfocálcica e os extratos pirolenhosos, nas doses recomendadas pelos fabricantes, pois foram os produtos que geraram respostas eletroantenográficas significativas nas sensilas antenais de *A. fraterculus* (Ricardo Bisotto, comunicação pessoal, 2009). As soluções de calda sulfocálcica (5000mL 100L⁻¹), Pironat[®] (250mL 100L⁻¹) e Biopiról 7M[®] (200mL 100L⁻¹) foram preparadas, emergindo-se posteriormente por 5 segundos frutos artificiais, iguais aos utilizados na criação, sendo após secos em temperatura ambiente por cerca de 5 minutos. Como testemunha, mergulhou-se frutos artificiais em água destilada.

Vinte casais de *A. fraterculus* com aproximadamente 15 dias de idade foram colocados em uma gaiola (15 x 15 x 20 cm), tendo as paredes confeccionadas com tecido voile para permitir as trocas gasosas, com alimento e água *ad libitum*. Em cada gaiola foram oferecidos dois frutos, um com solução e outro controle, os quais permaneceram expostos às moscas durante duas horas, no período das 10 às 15 horas. Após este período, os frutos eram retirados e contavam-se os ovos. Realizou-se um total de 14 repetições por tratamento. Os valores obtidos foram analisados estatisticamente, com auxílio do software SPSS 15, pelo teste de Mann-Whitney, a 5% de probabilidade.

3.3 Avaliação dos efeitos dos produtos fitossanitários em insetos benéficos

Os bioensaios para avaliar os efeitos dos produtos em insetos benéficos foram realizados em laboratório e avaliados, em condições climáticas distintas, sobre duas espécies: *Cryptolaemus montrouzieri* (25 ± 2 °C, U.R. $70 \pm 10\%$ e fotofase 12 horas) e *Apis mellifera* (29 ± 1 °C, $70 \pm 10\%$ U.R., sem fotofase).

3.3.1 Ação de contato em *Cryptolaemus montrouzieri*

Os adultos de *C. montrouzieri* utilizados neste bioensaio foram comprados da empresa Gravena Manecol Ltda. Os experimentos foram realizados imediatamente após a chegada dos insetos. Os adultos foram tratados, individualmente, com uma quantidade de 0,5 µL da solução inseticida (Tabela 1) aplicada topicamente, sobre a porção dorsal do tórax, utilizando microseringa de 1 mL acoplada a um micro-aplicador manual (Burkard Manufacturing Co. Ltd.). Nesta espécie, o padrão de controle utilizado foi o produto Sevin 480 SC[®] (225 mL 100 L⁻¹ de água), conforme utilizado por Smith & Krischik (2000).

Após a aplicação, os insetos foram acondicionados em potes plásticos (550 mL), cobertos por tecido voile para permitir trocas gasosas, e mantidos em câmara climatizada, sendo alimentados com uma solução aquosa de mel a 15%, através de uma tira de Spontex Resist[®] inserida em um tubo de vidro de 5 mL, vedado com parafilme, e dieta sólida composta de sacarose, lêvedo de cerveja, gérmen de trigo e glúten de milho, na proporção 3:1:1:1, respectivamente.

O bioensaio foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado, considerando-se os produtos e concentrações, utilizando-se três repetições por tratamento, sendo cada unidade experimental formada por 10 adultos.

3.3.2 Ação residual em *Cryptolaemus montrouzieri*

O bioensaio de ação residual utilizou metodologia baseada em Jacas & Viñuela (1994). Quinze adultos de *C. montrouzieri*, em cada dose/tratamento, foram acondicionados em gaiolas desmontáveis cujas partes, inferior e superior, eram placas quadradas de vidro (12 cm x 12 cm) e, a parte lateral um cilindro de acrílico (4 cm de altura X 9 cm de diâmetro), com sete perfurações laterais para permitir troca gasosa (ligada a uma bomba de ar, para forçar o fluxo) e o fornecimento de alimento e água (Figura 1). Os tratamentos consistiram nas doses das formulações comerciais dos produtos, conforme Tabela 1. Os produtos foram aplicados, utilizando pulverizadores manuais (500 mL), nas faces internas das placas de vidro, num volume de $1,5 \pm 0,25$ mg/cm², aferido em balança eletrônica. As gaiolas foram novamente montadas após as placas secarem em temperatura ambiente e em seguida, os insetos foram introduzidos. O experimento foi mantido em câmara climatizada.

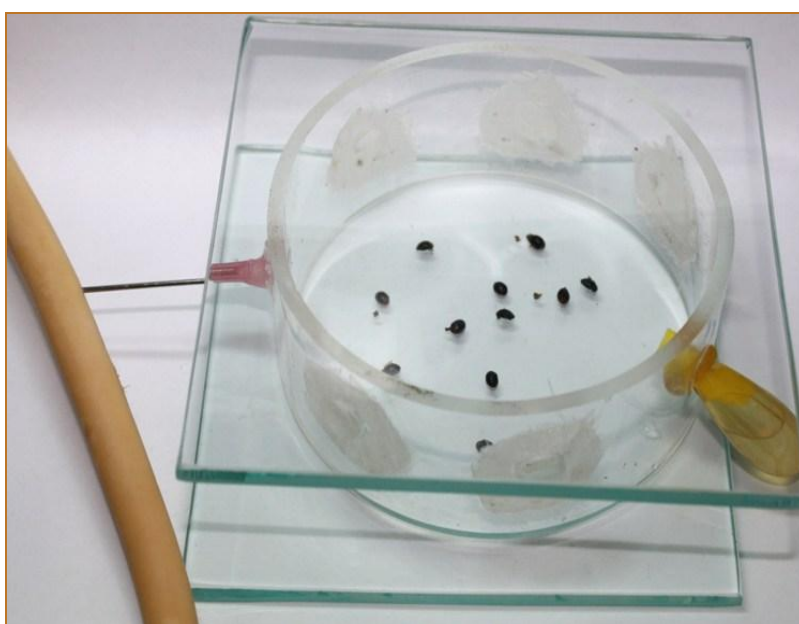


FIGURA 2. Gaiola de acrílico e vidro com adultos de *Cryptolaemus montrouzieri*, utilizada na avaliação da ação residual de produtos fitossanitários: (A) abertura para entrada de ar; (B) orifício para fornecimento de alimento e água (adaptada de Jacas & Viñuela, 1994).

3.3.3 Avaliação dos bioensaios com *Cryptolaemus montrouzieri*

A ação dos produtos foi avaliada através do número de indivíduos sobreviventes 15 min, 30 min, 1, 4, 12, 24, 48, 72 e 96 horas após os tratamentos com os inseticidas. Os valores de sobrevivência foram corrigidos pela fórmula de Abbott (1925) e a variação no número de insetos sobreviventes por tratamento foi transformada para arco seno de $\sqrt{\left(\frac{x}{100}\right)}$ e submetida à análise de variância, utilizando o software SPSS 15, comparando-se as médias pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro, quando na presença de significância.

3.3.4 Bioensaios com *Apis mellifera*

Os bioensaios para avaliar a ação dos produtos fitossanitários em *A. mellifera* foram realizados conforme os métodos de testes de exposição por contato e oral dos protocolos estabelecidos pela “Organisation for Economic Cooperation and Development” (OECD, 1998a,b) e dos protocolos da IOBC/WPRS.

3.3.4.1 Ação de contato em *Apis mellifera*

As avaliações foram feitas sobre operárias de *A. mellifera* capturadas de uma colônia sem indícios de contaminação por patógenos. Para o bioensaio foram coletadas operárias de *A. mellifera* africanizada dos favos centrais de uma colméia racional tipo americana mantida na área experimental do Depto de Fitossanidade da Faculdade de Agronomia, UFRGS. Semanalmente era fornecida, diretamente em alimentador de cobertura, suplementação protéica (pasta à base de farinha de soja, açúcar cristal e mel, proporção 3:1:1, respectivamente) e energética (xarope à base de água e açúcar na proporção

1:1). Aproximadamente 30 operárias eram retiradas e acondicionadas diretamente nas gaiolas de teste, confeccionadas de cano PVC (12 cm de diâmetro x 8 cm de altura), fechadas numa extremidade com tela metálica de 16 malhas/cm² e, na outra, por uma espuma (densidade 33 e 4 cm de altura) (Figura 2), de acordo com metodologia proposta por Sattler *et al.*(1990).

Em laboratório, as operárias foram anestesiadas por frio à temperatura de -12 °C por até três minutos e, em seguida submetidas à aplicação tópica de 1 µL da solução teste na porção dorsal do tórax utilizando microseringa de 1 mL acoplada a um micro-aplicador manual (Burkard Manufacturing Co. Ltd.), sem que fosse necessária a retirada dos insetos da gaiola. As operárias foram alimentadas com água destilada, embebida em algodão hidrófilo e com uma porção de mel cristalizado (10 g), fornecida em um recipiente plástico circular (3 x 2 cm) . As gaiolas foram mantidas em câmara climatizada.

Para cada produto foram utilizadas as concentrações descritas na Tabela 1, e como controle, água destilada e o fosforado fentiona (50g 100L⁻¹). O bioensaio foi conduzido sob delineamento inteiramente casualizado, com três repetições por tratamento/concentração.



FIGURA 3. Gaiola de cano PVC, fechada na parte inferior com espuma e na superior com tela metálica (16 malhas/cm²), com operárias de *Apis mellifera*, contendo algodão umedecido com água destilada e recipiente com mel cristalizado (10g).

3.3.4.2 Ação por ingestão em *Apis mellifera*

O bioensaio para avaliar a ação por ingestão dos produtos foi conduzido seguindo os protocolos da OECD (1998b). Aproximadamente 30 abelhas operárias por gaiola foram privadas de alimento durante 2 horas antes de serem disponibilizados os tratamentos. Os produtos eram oferecidos, em uma solução/suspensão aquosa de sacarose a 50%, nas quatro concentrações utilizadas para os ensaios com mosca-das-frutas (0,25x, 0,5x, 1x e 2x a dose recomendada) (Tabela 1), através de uma tira de tecido Spontex Resist[®] inserida em um tubo de vidro de 20 mL. Após o período de quatro horas, a solução com tratamento foi removida e substituída, *ad libitum*, por solução aquosa apenas de sacarose (50%). As gaiolas com as abelhas foram mantidas em câmara climatizada.

3.3.4.3 Avaliação dos bioensaios sobre *Apis mellifera*

Seguindo os protocolos, o percentual de indivíduos sobreviventes registrado em cada tratamento foi avaliado 24 e 48 horas após a aplicação, considerando-se mortas as abelhas sem movimento ao serem tocadas durante a leitura do teste. Os valores de sobrevivência foram corrigidos pela fórmula de Abbott (1925) e a variação no percentual de insetos sobreviventes foi submetida à análise de variância, utilizando software SPSS 15 e, na presença de significância, comparando-se as médias pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade de erro.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Parâmetros biológicos de *Anastrepha fraterculus* obtidos na criação artificial

Os parâmetros biológicos registrados na criação de *A. fraterculus* seguindo a metodologia adotada no presente estudo são apresentados na Tabela 2.

TABELA 2. Parâmetros biológicos (médias \pm DP) de *Anastrepha fraterculus* na criação artificial, em três gerações, (25 ± 2 °C, 70 ± 10 % U.R., fotofase de 14 horas).

Parâmetro	Gerações		
	F3	F4	F5
Viabilidade de ovos (%)	78,4 \pm 6,32	81,3 \pm 4,67	80,7 \pm 3,52
Recuperação ovo-pupário (%)	46,4 \pm 4,21	49,3 \pm 3,79	47,2 \pm 2,89
Viabilidade larval (%)	59,3 \pm 6,78	61,2 \pm 7,66	58,7 \pm 3,37
Ovos/fêmea/dia	13,7 \pm 1,67	13,2 \pm 0,92	14,3 \pm 1,33
Peso 100 de pupários (g)	1,5 \pm 0,33	1,6 \pm 0,27	1,6 \pm 0,36
Emergência de adultos (%)	75,4 \pm 7,24	69,8 \pm 8,56	74,6 \pm 4,62
Razão sexual (macho:fêmea)	1:1,02	1:0,99	1:0,95
Duração fase larval (dias)	14,5 \pm 3,63	14,7 \pm 1,66	13,9 \pm 0,97
Duração fase pupal (dias)	12,2 \pm 2,56	13,1 \pm 1,27	12,3 \pm 2,73

Foi observada uma viabilidade de ovos de 78,4 \pm 6,32 a 81,3 \pm 4,67%, nas três gerações, valores semelhantes aos de Jaldo *et al.* (2001) (84,0 \pm 5,3%) e Vera *et al.* (2007) (84,4 \pm 0,9%) e superiores aos de Salles (1999) (45%), embora o substrato de oviposição utilizado no presente trabalho tenha sido igual ao deste

último autor. A diferença, provavelmente, deve-se ao fato de os frutos artificiais terem sido cortados em lâminas, que foram amassadas em água destilada numa placa de Petri, permitindo que os ovos ficassem livres na suspensão com a água, melhorando a oxigenação dos mesmos. Este fator, provavelmente, também influenciou a recuperação ovo-pupário, no presente estudo, que foi semelhante às obtidas por Jaldo *et al.* (2001) ($44,9 \pm 7,05\%$) e Vera *et al.* (2007) ($56,3 \pm 2,1\%$), e superior ao valor encontrado por Salles (1999) (5,3%). Além disso, as variações na dieta de adultos, com a adição de mais fontes protéicas (glúten de milho e gérmen de trigo), além de poliaminoácidos, complexo vitamínico e vitamina E, também usados por Jaldo *et al.* (2001) e Vera *et al.* (2007), podem ter influenciado esta diferença acentuada em relação ao trabalho de Salles (1999).

Os valores de ovos/fêmea/dia encontrados no presente estudo não se distanciaram dos obtidos por Salles (1999) (13), nem de Jaldo *et al.* (2001) (15,6). O mesmo ocorreu para viabilidade larval (Vera *et al.* (2007) - $66,6 \pm 2,3\%$), peso de 100 pupários (Jaldo *et al.* (2001) $-1,8 \pm 0,2$ g; Vera *et al.* (2007) - 1,31 g), emergência de adultos (Jaldo *et al.* (2001) - $68,5 \pm 19,62\%$; Vera *et al.* (2007) - $88,6 \pm 2,6\%$), razão sexual (Jaldo *et al.* (2001) - 1:0,98; Vera *et al.* (2007) - 1:0,93) e duração em dias da fase larval (Salles (1999) - 15) e pupal (Salles (1999) - 10).

As adaptações da metodologia de criação surgem como uma alternativa de rápida implementação para a multiplicação de *A. fraterculus*, sem a utilização de frutos, nem sempre disponíveis comercialmente durante o ano. Além disso, apresenta parâmetros biológicos semelhantes aos métodos de Jaldo *et al.* (2001) e Vera *et al.* (2007), podendo ser utilizada como criação de pequena a média escala, ou como intermediária para o adequado estabelecimento de uma criação massal, já que requer relativo dispêndio financeiro e com mão-de-obra.

4.2 Ação de produtos fitossanitários sobre *Anastrepha fraterculus* em laboratório

Nenhum dos produtos apresentou efeito de choque sobre os adultos de *A. fraterculus*, com exceção da fentiona (50g 100 L⁻¹), sendo verificados valores de mortalidade somente 24 horas após o oferecimento das soluções. Deste modo, só serão apresentados nas tabelas os dados a partir deste período de observação (Tabelas 3, 4 e 5).

Com relação ao teste de ingestão/contato, não houve diferença significativa entre as lotes de insetos do experimento, considerando todos os tratamentos conjuntamente, indicando a homogeneidade das condições do experimento e dos indivíduos testados (P= 0,956). A sobrevivência na testemunha com água foi de 100% até o final dos experimentos (96 horas). O tratamento com corante misturado à água não diferiu da testemunha, confirmando que o mesmo não possui efeito direto sobre os adultos de *A. fraterculus*. Além disso, o corante permitiu observar que todas as moscas, sem exceção, se alimentaram das soluções testes, pois estas adquiriam uma coloração vermelha na porção interna do abdômen (Figura 3). Outros autores também observaram que *A. fraterculus*, não discriminou diferentes soluções inseticidas, contendo o mesmo corante utilizado neste experimento (Cruz *et al.*, 1997; Scoz *et al.*, 2004; Nondillo *et al.*, 2007).

No experimento que avaliou a ação por ingestão/contato, quando todos os tratamentos foram comparados conjuntamente com o controle fentiona, somente a rotenona (Rotenat CE[®]) afetou a sobrevivência de *A. fraterculus*, diferenciando-se da testemunha com água (Tabela 3). O resultado foi dependente da dose e do tempo, sendo que, somente nas concentrações de 600mL 100L⁻¹ (na observação às 72 horas) e na de 1200mL 100L⁻¹ (durante todo experimento), o produto

exercer efeito significativo sobre os adultos de *A. fraterculus*. A morte dos insetos iniciou somente 24 horas após a aplicação do tratamento, com acréscimos significantes até às 96 horas, na maior dose. Além disso, o tratamento com rotenona se diferenciou significativamente do controle com fentiona, demonstrando que a rotenona não possui a mesma eficácia deste produto (Tabela 3), através do efeito conjunto de ingestão e contato pelo inseto.



FIGURA 4. Macho de *Anastrepha fraterculus* alimentando-se de solução inseticida contendo corante vermelho Ponceau (Sigma Chemical Co.), oferecida através de pano Spontex Resist®.

No experimento de ação de contato, por aplicação tópica, também não foi constatada diferença significativa entre os lotes de insetos do experimento para todos os tratamentos, indicando a homogeneidade das condições do experimento e dos indivíduos testados ($P= 0,813$). A sobrevivência na testemunha com água também foi de 100% até o final do experimento, após 96 horas (Tabela 4).

TABELA 3. Número médio de insetos vivos (\pm DP) e mortalidade corrigida (% - Mc) de *Anastrepha fraterculus*, 24, 48, 72 e 96 horas após tratamento via ingestão/contato. ($25 \pm 2^\circ\text{C}$; $70 \pm 10\%$ U.R.; fotofase: 14 horas).

Tratamentos		Conc. ¹	D.R. ²	Tempo (horas)											
Produto	Nome Comercial			24	Mc	48	Mc	72	Mc	96	Mc	Mc	Mc	Mc	
Óleo de Nim	Organic neem [®]	125	0,25	20,0 \pm 0,00	Aa ³	0	19,7 \pm 0,57	Aa	1,66	19,3 \pm 1,15	Aab	3,33	19,3 \pm 1,15	Aa	3,33
		250	0,5	20,0 \pm 0,00	Aa	0	20,0 \pm 0,00	Aa	0	20,0 \pm 0,00	Aa	0	20,0 \pm 0,00	Aa	0
		500	1	20,0 \pm 0,00	Aa	0	19,7 \pm 0,57	ABa	1,66	19,3 \pm 0,57	Bab	3,33	19,3 \pm 0,57	Ba	3,33
		1000	2	20,0 \pm 0,00	Aa	0	20,0 \pm 0,00	Aa	0	18,7 \pm 0,57	Bab	6,66	18,3 \pm 1,15	Ba	8,33
Óleo de Nim	Natuneem [®]	125	0,25	20,0 \pm 0,00	Aa	0	20,0 \pm 0,00	Aa	0	20,0 \pm 0,00	Aa	0	20,0 \pm 0,00	Aa	0
		250	0,5	20,0 \pm 0,00	Aa	0	20,0 \pm 0,00	Aa	0	20,0 \pm 0,00	Aa	0	20,0 \pm 0,00	Aa	0
		500	1	20,0 \pm 0,00	Aa	0	20,0 \pm 0,00	Aa	0	20,0 \pm 0,00	Aa	0	20,0 \pm 0,00	Aa	0
		1000	2	20,0 \pm 0,00	Aa	0	20,0 \pm 0,00	Aa	0	20,0 \pm 0,00	Aa	0	20,0 \pm 0,00	Aa	0
Rotenona	Rotenat [®]	150	0,25	19,3 \pm 1,15	Aa	3,33	19,3 \pm 1,15	Aa	3,33	19,3 \pm 1,15	Aab	3,33	19,3 \pm 1,15	Aa	3,33
		300	0,5	20,0 \pm 0,00	Aa	0	20,0 \pm 0,00	Aa	0	19,5 \pm 0,57	Aab	1,66	19,5 \pm 0,57	Aa	1,66
		600	1	19,0 \pm 1,00	Aa	5	17,3 \pm 3,05	Aa	13,33	15,3 \pm 5,50	Ab	23,33	15,0 \pm 5,29	Aa	25
		1200	2	16,7 \pm 0,57	Ab	16,66	13,0 \pm 1,00	Bb	35	8,0 \pm 3,00	Cc	60	5,7 \pm 5,13	Cb	71,66
Calda sulfocálcica	---	1250	0,25	20 \pm 0,0	Aa	0	19,7 \pm 0,57	Aa	1,66	19,7 \pm 0,57	Aab	1,66	19,7 \pm 0,57	Aa	1,66
		2500	0,5	19,7 \pm 0,57	Aa	1,66	19,3 \pm 1,15	Aa	3,33	19,3 \pm 1,15	Aab	3,33	19,3 \pm 1,15	Aa	3,33
		5000	1	20,0 \pm 0,00	Aa	0	18,7 \pm 0,57	Ba	6,66	18,3 \pm 0,57	Bab	8,33	18,3 \pm 0,57	Ba	8,33
		10000	2	19,3 \pm 1,15	Aa	3,33	18,3 \pm 2,90	Aa	8,33	15,7 \pm 3,11	Aab	21,66	15,3 \pm 3,05	Aa	23,33
Extrato pirolenhoso	Pironat [®]	62,5	0,25	20,0 \pm 0,00	Aa	0	20,0 \pm 0,00	Aa	0	20,0 \pm 0,00	Aa	0	20,0 \pm 0,00	Aa	0
		125	0,5	20,0 \pm 0,00	Aa	0	20,0 \pm 0,00	Aa	0	20,0 \pm 0,00	Aa	0	20,0 \pm 0,00	Aa	0
		250	1	20,0 \pm 0,00	Aa	0	20,0 \pm 0,00	Aa	0	19,3 \pm 0,57	Bab	3,33	19,3 \pm 0,57	Ba	3,33
		500	2	20,0 \pm 0,00	Aa	0	20,0 \pm 0,00	Aa	0	20,0 \pm 0,00	Aa	0	20,0 \pm 0,00	Aa	0
Extrato pirolenhoso	Biopiról 7M [®]	50	0,25	20,0 \pm 0,00	Aa	0	20,0 \pm 0,00	Aa	0	20,0 \pm 0,00	Aa	0	20,0 \pm 0,00	Aa	0
		100	0,5	20,0 \pm 0,00	Aa	0	20,0 \pm 0,00	Aa	0	20,0 \pm 0,00	Aa	0	20,0 \pm 0,00	Aa	0
		200	1	20,0 \pm 0,00	Aa	0	20,0 \pm 0,00	Aa	0	19,0 \pm 1,00	Aab	5	19,0 \pm 1,00	Aa	5
		400	2	20,0 \pm 0,00	Aa	0	20,0 \pm 0,00	Aa	0	19,5 \pm 0,54	Aab	2,5	19,5 \pm 0,54	Aa	2,5
Fentiona	Lebaycid 500 CE [®]	100	-	0 \pm 0,00	Ac	100	0 \pm 0,00	Ac	100	0 \pm 0,00	Ad	100	0 \pm 0,00	Ac	100
Água com corante	-	-	-	20 \pm 0,0	Aa	0	20 \pm 0,0	Aa	0	20 \pm 0,0	Aa	0	20 \pm 0,0	Aa	0
Testemunha (água)	-	-	-	20 \pm 0,0	Aa	-	20 \pm 0,0	Aa	-	20 \pm 0,0	Aa	-	20 \pm 0,0	Aa	-

¹ Conc. = concentração: mL do produto comercial por 100L de água.

² D.R. = múltiplos da dose recomendada pelo fabricante.

³ Médias seguidas por letras distintas maiúsculas na linha e minúsculas na coluna diferem entre si pelo teste de Tukey em nível de 5% de probabilidade de erro.

O produto Rotenat CE[®], quando aplicado na dose recomendada (600mL 100L⁻¹), se diferenciou significativamente da testemunha, nas observações de 72 e 96 horas. Já na concentração de 1200mL 100L⁻¹, esta diferença foi constatada em todos os períodos (a partir de 24 horas), com acréscimos significativos de mortalidade entre as avaliações. Entretanto, o valor de mortalidade ao final das 96 horas foi de apenas 28,5%.

A calda sulfocálcica apresentou valores de mortalidade significativamente distintos da testemunha com água, na concentração de 10000mL 100L⁻¹, nas observações de 72 e 96 horas, porém em percentuais baixos (10 e 13,5%, respectivamente) (Tabela 4). Os demais produtos e concentrações avaliadas não apresentaram efeitos inseticidas sobre *A. fraterculus*, por aplicação tópica (Tabela 4).

De maneira geral, os valores de mortalidade foram superiores quando os produtos foram oferecidos para ingestão/contato (Tabela 3). Isto se deve, provavelmente, à metodologia utilizada, já que os adultos além de se alimentarem da solução inseticida, acabam entrando em contato com a mesma, comportamento semelhante ao que ocorre no campo. Nos testes com aplicação tópica, apesar de ocorrer mortalidade significativamente distinta quando comparada à testemunha, os produtos testados apresentam baixa ou nenhuma eficácia para o controle de *A. fraterculus*. Para inseticidas neonicotinóides, Scoz *et al.* (2004), trabalhando em laboratório com adultos de *A. fraterculus*, também encontraram valores maiores de mortalidade quando os produtos foram oferecidos da mesma forma, sugerindo, dessa maneira, seu uso através de iscas tóxicas.

No presente estudo, quando os mesmos produtos foram disponibilizados às moscas através do método de exposição aos resíduos, somente o Rotenat CE[®] (1200mL 100L⁻¹), apresentou diferenças significativas para a testemunha com água, nos períodos de avaliação de 72 e 96 horas (Tabela 5). Porém, os valores de mortalidade foram ainda mais baixos que os encontrados nos testes de ingestão/contato e aplicação tópica, com um máximo de 5%, ao final do experimento. Este fato demonstra a ineficácia de ação letal dos resíduos frescos dos mesmos para *A. fraterculus*.

No experimento de efeito residual, da mesma forma que nos anteriores, não foi constatada diferença estatística significativa entre as repetições do experimento para todos os tratamentos (P= 0,768).

Assim, considerando-se todos os produtos e métodos de exposição testados no controle de *A. fraterculus*, somente o produto Rotenat CE[®] (1200mL 100L⁻¹), por ingestão/contato, apresenta potencial de uso.

Entretanto, ainda permanecem questões como o comportamento e validação desse produto no campo, a possibilidade de associá-lo a atrativos, para formulação de iscas, e também a questão de resíduos nos frutos para consumo humano. Para Bakker *et al.* (2002), produtos naturais utilizados como inseticidas tendem a se degradar rapidamente no meio ambiente, porém mesmo assim, devem ser usados em ocasiões especiais, com a supervisão das certificadoras. Para os autores não há nenhuma evidência objetiva que estes resíduos ofereçam perigo de contaminação aos consumidores, porém isto precisa ser validado experimentalmente.

TABELA 4. Número médio de insetos vivos (\pm DP) e mortalidade corrigida (% - Mc) de *Anastrepha fraterculus*, 24, 48, 72 e 96 horas após tratamento de contato via aplicação tópica. ($25 \pm 2^\circ\text{C}$; $70 \pm 10\%$ U.R ; fotofase: 14 horas).

Tratamentos		Conc. ¹	D.R. ²	Tempo (horas)											
Produto	Nome Comercial			24	Mc	48	Mc	72	Mc	96	Mc				
Óleo de Nim	Organic neem [®]	125	0,25	20,0 \pm 0,00	Aa ³	0	20,0 \pm 0,00	Aa	0	20,0 \pm 0,00	Aa	0	20,0 \pm 0,00	Aa	0
		250	0,5	20,0 \pm 0,00	Aa	0	20,0 \pm 0,00	Aa	0	20,0 \pm 0,00	Aa	0	20,0 \pm 0,00	Aa	0
		500	1	20,0 \pm 0,00	Aa	0	19,7 \pm 0,57	Aa	1,66	19,7 \pm 0,57	Aab	1,66	19,7 \pm 0,57	Aa	1,66
		1000	2	20,0 \pm 0,00	Aa	0	19,7 \pm 0,57	ABa	1,66	19,3 \pm 0,57	Bab	3,33	19,3 \pm 0,57	Bab	3,33
Óleo de Nim	Natuneem [®]	125	0,25	20,0 \pm 0,00	Aa	0	20,0 \pm 0,00	Aa	0	19,7 \pm 0,57	Aab	1,66	19,7 \pm 0,57	Aa	1,66
		250	0,5	20,0 \pm 0,00	Aa	0	20,0 \pm 0,00	Aa	0	20,0 \pm 0,00	Aa	0	20,0 \pm 0,00	Aa	0
		500	1	20,0 \pm 0,00	Aa	0	20,0 \pm 0,00	Aa	0	20,0 \pm 0,00	Aa	0	20,0 \pm 0,00	Aa	0
		1000	2	19,3 \pm 0,57	Aab	3,33	19,3 \pm 0,57	Aa	3,33	19,3 \pm 0,57	Aab	3,33	19,3 \pm 0,57	Aab	3,33
Rotenona	Rotenat [®]	150	0,25	19,3 \pm 0,57	Aab	3,33	19,3 \pm 0,57	Aa	3,33	19,3 \pm 0,57	Aab	3,33	19,3 \pm 0,57	Aab	3,33
		300	0,5	19,7 \pm 0,57	Aab	1,66	19,7 \pm 0,57	Aa	1,66	19,0 \pm 1,00	Aab	5	19,0 \pm 1,00	Aabc	5
		600	1	19,3 \pm 0,57	Aab	3,33	19,0 \pm 1,00	ABab	5	18,0 \pm 1,00	ABb	10	17,7 \pm 0,57	Bbc	11,5
		1200	2	19,0 \pm 1,00	Ab	5	17,7 \pm 0,57	Ab	11,5	15,7 \pm 0,57	Bc	21,5	14,3 \pm 0,57	Cd	28,5
Calda sulfocálcica	---	1250	0,25	20 \pm 0,0	Aa	0	19,7 \pm 0,57	Aa	1,66	19,7 \pm 0,57	Aab	1,66	19,7 \pm 0,57	Aa	1,66
		2500	0,5	20,0 \pm 0,00	Aa	0	20,0 \pm 0,00	Aa	0	19,7 \pm 0,57	Aab	1,66	19,7 \pm 0,57	Aa	1,66
		5000	1	20,0 \pm 0,00	Aa	0	19,7 \pm 0,57	ABa	1,66	19,3 \pm 0,57	Bab	3,33	18,7 \pm 0,57	Babc	6,5
		10000	2	19,7 \pm 0,57	Aab	1,66	19,3 \pm 1,15	Aa	3,33	18,0 \pm 1,73	Ab	10	17,3 \pm 1,15	Ac	13,5
Extrato pirolenhoso	Pironat [®]	62,5	0,25	20,0 \pm 0,00	Aa	0	20,0 \pm 0,00	Aa	0	20,0 \pm 0,00	Aa	0	20,0 \pm 0,00	Aa	0
		125	0,5	19,7 \pm 0,57	Aab	1,66	19,7 \pm 0,57	Aa	1,66	19,7 \pm 0,57	Aab	1,66	19,7 \pm 0,57	Aa	1,66
		250	1	20,0 \pm 0,00	Aa	0	20,0 \pm 0,00	Aa	0	20,0 \pm 0,00	Bab	0	19,7 \pm 0,57	Aa	1,66
		500	2	20,0 \pm 0,00	Aa	0	20,0 \pm 0,00	Aa	0	19,3 \pm 0,57	Bab	3,33	19,3 \pm 0,57	Bab	3,33
Extrato pirolenhoso	Biopiról 7M [®]	50	0,25	20,0 \pm 0,00	Aa	0	20,0 \pm 0,00	Aa	0	20,0 \pm 0,00	Aa	0	20,0 \pm 0,00	Aa	0
		100	0,5	20,0 \pm 0,00	Aa	0	20,0 \pm 0,00	Aa	0	20,0 \pm 0,00	Aa	0	20,0 \pm 0,00	Aa	0
		200	1	20,0 \pm 0,00	Aa	0	19,7 \pm 0,57	Aa	1,66	19,7 \pm 0,57	Aab	1,66	19,7 \pm 0,57	Aa	1,66
		400	2	20,0 \pm 0,00	Aa	0	19,7 \pm 0,57	Aa	1,66	19,7 \pm 0,57	Aab	1,66	19,7 \pm 0,57	Aa	1,66
Fentiona	Lebaycid 500 CE [®]	100	-	0 \pm 0,00	Ac	100	0 \pm 0,00	Ac	100	0 \pm 0,00	Ad	100	0 \pm 0,00	Ae	100
Testemunha	-	-	-	20 \pm 0,0	Aa	-	20 \pm 0,0	Aa	-	20 \pm 0,0	Aa	-	20 \pm 0,0	Aa	-

¹ Conc. = concentração, mL do produto comercial por 100L de água.

² D.R. = múltiplos da dose recomendada pelo fabricante.

³ Médias seguidas por letras distintas maiúsculas na linha e minúsculas na coluna diferem entre si pelo teste de Tukey em nível de 5% de probabilidade de erro.

TABELA 5. Número médio de insetos vivos (\pm DP) e mortalidade corrigida (% - Mc) de *Anastrepha fraterculus*, 24, 48, 72 e 96 horas após tratamento residual. ($25 \pm 2^{\circ}\text{C}$; $70 \pm 10\%$ U.R.; fotofase: 14 horas).

Tratamentos				Tempo (horas)								
Produto	Nome Comercial	Conc. ¹	D.R. ²	24	Mc	48	Mc	72	Mc	96	Mc	
Óleo de Nim	Organic neem [®]	125	0,25	20,0 \pm 0,00	Aa	0	20,0 \pm 0,00	Aa	0	20,0 \pm 0,00	Aa	0
		250	0,5	20,0 \pm 0,00	Aa	0	20,0 \pm 0,00	Aa	0	20,0 \pm 0,00	Aa	0
		500	1	19,7 \pm 0,57	Aa	1,66	19,7 \pm 0,57	Aa	1,66	19,7 \pm 0,57	Aab	1,66
		1000	2	20,0 \pm 0,00	Aa	0	20,0 \pm 0,00	Aa	0	19,7 \pm 0,57	Aab	1,66
Óleo de Nim	Natuneem [®]	125	0,25	20,0 \pm 0,00	Aa	0	20,0 \pm 0,00	Aa	0	20,0 \pm 0,00	Aa	0
		250	0,5	20,0 \pm 0,00	Aa	0	20,0 \pm 0,00	Aa	0	20,0 \pm 0,00	Aa	0
		500	1	20,0 \pm 0,00	Aa	0	20,0 \pm 0,00	Aa	0	20,0 \pm 0,00	Aa	0
		1000	2	20,0 \pm 0,00	Aa	0	20,0 \pm 0,00	Aa	0	20,0 \pm 0,00	Aa	0
Rotenona	Rotenat [®]	150	0,25	20,0 \pm 0,00	Aa	0	20,0 \pm 0,00	Aa	0	20,0 \pm 0,00	Aa	0
		300	0,5	20,0 \pm 0,00	Aa	0	20,0 \pm 0,00	Aa	0	20,0 \pm 0,00	Aa	0
		600	1	19,7 \pm 0,57	Aa	1,66	19,7 \pm 0,57	Aa	1,66	19,7 \pm 0,57	Aab	1,66
		1200	2	19,7 \pm 0,57	Aa	1,66	19,3 \pm 0,57	ABa	3,33	19,0 \pm 0,00	Bb	5
Calda sulfocálcica	---	1250	0,25	20,0 \pm 0,00	Aa	0	20,0 \pm 0,00	Aa	0	20,0 \pm 0,00	Aa	0
		2500	0,5	20,0 \pm 0,00	Aa	0	20,0 \pm 0,00	Aa	0	20,0 \pm 0,00	Aa	0
		5000	1	20,0 \pm 0,00	Aa	0	20,0 \pm 0,00	Aa	0	19,7 \pm 0,57	Aab	1,66
		10000	2	19,7 \pm 0,57	Aa	1,66	19,7 \pm 0,57	Aa	1,66	19,7 \pm 0,57	Aab	3,33
Extrato pirolenhoso	Pironat [®]	62,5	0,25	20,0 \pm 0,00	Aa	0	20,0 \pm 0,00	Aa	0	20,0 \pm 0,00	Aa	0
		125	0,5	20,0 \pm 0,00	Aa	0	20,0 \pm 0,00	Aa	0	20,0 \pm 0,00	Aa	0
		250	1	20,0 \pm 0,00	Aa	0	20,0 \pm 0,00	Aa	0	20,0 \pm 0,00	Aa	0
		500	2	20,0 \pm 0,00	Aa	0	20,0 \pm 0,00	Aa	0	20,0 \pm 0,00	Aa	0
Extrato pirolenhoso	Biopiról 7M [®]	50	0,25	20,0 \pm 0,00	Aa	0	20,0 \pm 0,00	Aa	0	20,0 \pm 0,00	Aa	0
		100	0,5	20,0 \pm 0,00	Aa	0	20,0 \pm 0,00	Aa	0	20,0 \pm 0,00	Aa	0
		200	1	20,0 \pm 0,00	Aa	0	20,0 \pm 0,00	Aa	0	19,7 \pm 0,57	Aab	1,66
		400	2	20,0 \pm 0,00	Aa	0	20,0 \pm 0,00	Aa	0	20,0 \pm 0,00	Aa	0
Fentiona	Lebaycid 500 CE [®]	100	-	1,7 \pm 1,53	Ab	91,65	0 \pm 0,00	Bb	100	0 \pm 0,00	Bc	100
Testemunha	-	-	-	20 \pm 0,0	Aa	-	20 \pm 0,0	Aa	-	20 \pm 0,0	Aa	-

¹Conc. = concentração, mL do produto comercial por 100L de água.

²D.R. = múltiplos da dose recomendada pelo fabricante.

³Médias seguidas por letras distintas maiúsculas na linha e minúsculas na coluna diferem entre si pelo teste de Tukey em nível de 5% de probabilidade de erro.

Segundo Aguiar-Menezes (2005), a rotenona apresenta amplo espectro de ação por contato e ingestão e diversos trabalhos já demonstraram sua eficiência contra várias pragas, como o de Costa *et al.* (1997), sobre *M. domestica* e o de Hamilton & Lashomb (1997), sobre *L. decemlineata*.

A calda sulfocálcica e os produtos à base de óleo de nim (Natuneem[®] e Organic Neem[®]), bem como o extrato pirolenhoso nas duas formulações comerciais (Biopirol 7M[®] e Pironat[®]), em todos os métodos de exposição e doses testadas, não resultaram em efeito de mortalidade significativa dos adultos de *A. fraterculus*. Da mesma forma que o encontrado por Morandi Filho *et al.* (2006), em *A. sphaeropa* utilizando dois dos produtos testados neste estudo (Biopirol 7M[®] e Natuneem[®]).

Prokopy & Powers (1995) não observaram inibição da oviposição, nem aumento na mortalidade de *R. pomonella*, por azadiractina, corroborando os resultados encontrados no presente trabalho. Botton *et al.* (2003), em laboratório, também não encontraram efeito do nim sobre adultos e larvas de *A. fraterculus*. Em pomar de pessegueiro, Keske (2004) não reduziu o dano causado pelas moscas-das-frutas, utilizando produtos à base de óleo de nim de 0,3 a 0,5% e extrato pirolenhoso a 0,2%. Avaliando, em laboratório e a campo, o efeito de azadiractina (Aza-Direct[®] e Agroneem[®]) sobre *R. mendax*, Barry *et al.* (2005) verificaram que em laboratório, os produtos causaram baixa mortalidade tópica, entretanto, não constataram efeito após exposição residual e repelência.

As diferenças constatadas nas duas formulações comerciais à base de nim podem ser resultantes de diversos fatores, como quantidade de princípio ativo presente, o método e a qualidade do processo de extração, a parte da planta da qual o óleo foi extraído, entre outros. Além do próprio modo de ação da azadiractina, que agiria mais sobre formas jovens, com poucos efeitos sobre adultos (Schmutterer, 1990).

Para Morandi Filho *et al.* (2006), como no Brasil os produtos à base de nim são comercializados sem registro oficial que informe a origem do produto e como não existe uma garantia quanto à padronização da concentração do ingrediente ativo, tal fato pode resultar em diferenças na eficácia das formulações comerciais, aspecto que deve ser observado pelos produtores antes do emprego do inseticida.

Entretanto, para outros grupos de insetos, diferentes resultados foram obtidos como os de Azevedo *et al.* (2005), os quais testando, em casa de vegetação, Natuneem[®] e Pironat[®] sobre *B. tabaci*, obtiveram valores de controle (com base no número de ninfas) de 66,59%, para o óleo de nim e 67,45% para o extrato pirolenhoso, não diferindo estatisticamente da testemunha referência (Imidacloprido).

Apesar dos produtos à base de nim terem exercido baixa ou nenhuma mortalidade sobre os adultos de *A. fraterculus*, permanece a questão dos efeitos subletais, sobre a metamorfose, longevidade, reprodução, desenvolvimento larval, como encontrados em tefritídeos por Stark *et al.* (1990), Van Raden & Roitberg (1998), Salles & Rech (1999) e Singh (2003). Além disso, novos testes com diferentes metodologias de exposição, em diferentes fases do ciclo de vida, devem ser realizados.

Com relação ao extrato pirolenhoso, Souza-Silva *et al.* (2003), pulverizando este produto em *A. sexdens rubropilosa* não encontraram mortalidade significativa um dia após aplicação, mas após dois dias esta aumentou significativamente, cerca de 26% sobre os valores iniciais. Este produto, segundo os autores, causou mortalidade total em cinco dias após a aplicação.

A ineficiência do extrato pirolenhoso sobre adultos de *A. fraterculus*, pode estar vinculada ao método de exposição. De acordo com Tsuzuki *et al.* (2000), em condições naturais, o efeito do extrato pirolenhoso seria sobre a ativação de substâncias do metabolismo secundário das plantas, induzindo desta maneira a

resistência ao ataque dos insetos. Porém, faltam resultados experimentais que comprovem esta hipótese. Porém, apesar de ainda ser largamente utilizado, atualmente o extrato pirolenhoso está proibido no sistema orgânico de produção, conforme IN 64/2008 (Brasil, 2008c), já que na sua produção é formado o alcatrão, substância cancerígena.

Nos diferentes experimentos, do presente estudo, o inseticida fentiona (50g 100L⁻¹), utilizado como padrão de controle comparativo, provocou a morte de 100% dos insetos 24 horas após o oferecimento da solução, com exceção da exposição aos resíduos que neste período matou 91,65% dos insetos. Resultados semelhantes foram constatados em diversos trabalhos realizados em laboratório, com a mesma dose, demonstrando o forte efeito de choque do produto (Salles & Kovaleski, 1990; Cruz *et al.*, 1997; Scoz *et al.*, 2004; Nondillo *et al.*, 2007).

Diferentemente do considerado por Matthews (1997), de que fêmeas de insetos freqüentemente possuem maior tolerância a inseticidas, não se encontrou no presente trabalho, diferenças significativas de sobrevivência entre os sexos, nem interação com tratamentos, doses ou tempo letal para nenhum dos métodos de exposição (ingestão - P= 0,972; contato - P= 0,832; residual - P= 0,8726). Entretanto, Humeres *et al.* (1999) verificaram uma estreita relação entre o sexo e o tempo letal para matar 50% da população (TL₅₀), em *A. fraterculus* submetida à fentiona, com machos menos sensíveis que as fêmeas. Nigg *et al.* (1994) encontraram resultados semelhantes aos desses autores, para *A. suspensa*, porém com as fêmeas apresentando maior tolerância a malationa.

No experimento que visou avaliar a ação deterrente de oviposição dos produtos, nos frutos artificiais com calda sulfocálcica, o número médio de ovos/fruto foi de 12,5±2,78 ovos/fruto não diferindo estatisticamente (P= 0,9451), do registrado nos submersos em água, 10,0±1,24.

Nos produtos comerciais a base de extrato pirolenhoso, se encontrou, no experimento com Biopirol 7M[®], $7,68 \pm 1,491$ ovos/fruto na água e $6,87 \pm 1,488$ nos frutos com o produto, não ocorrendo diferença estatística ($P= 0,6511$). Também não foram encontradas diferenças ($P= 0,3438$) no experimento com Pironat[®] ($2,90 \pm 0,615$ ovos/fruto) quando comparado a testemunha com água ($2,65 \pm 0,877$ ovos/fruto). As diferenças entre os números médios de ovos por fruto entre os experimentos provavelmente seja devido a variações entre os lotes de moscas utilizados e a uma diminuição acentuada na umidade relativa ocorrida na sala climatizada.

Os resultados demonstram que os produtos calda sulfocálcica, Pironat[®] e Biopirol 7M[®] não apresentam efeito deterrente de oviposição em *A. fraterculus*, já que não impediram este comportamento.

4.3 Avaliação dos efeitos dos produtos fitossanitários em insetos benéficos

4.3.1 Ação em *Cryptolaemus montrouzieri*

Nenhum dos produtos, em todas as doses testadas, apresentou efeito significativo sobre a sobrevivência de adultos de *C. montrouzieri*, tanto por aplicação tópica (Tabela 6), quanto por exposição residual (Tabela 7). Os valores de mortalidade permaneceram sempre abaixo de 4%, durante todas as observações, para todos os tratamentos e concentrações, e nas duas formas de aplicação testadas.

Não se encontrou diferença estatística significativa entre as repetições do experimento, indicando que os lotes comerciais de *C. montrouzieri*, adquiridos e utilizados no experimento apresentavam a mesma qualidade e responderam aos tratamentos de maneira semelhante (aplicação tópica, $P= 0,863$; exposição aos resíduos, $P= 0,894$). Entretanto, Smith & Krischik (2000) referem que encontraram

diferenças entre as repetições, com variação na qualidade dos coccinelídeos disponíveis comercialmente, provavelmente devido a fatores nutricionais ou à idade.

Com relação aos produtos à base de óleo de nim, os resultados obtidos são similares aos registrados por Smith & Krischik (2000), que não constataram mortalidade significativa de adultos de *C. montrouzieri*, quando estes foram pulverizados com formulação comercial de nim (Azatin[®]). O mesmo foi registrado por Rossini *et al.* (2003), testando várias concentrações de óleo de nim pulverizadas sobre adultos *C. montrouzieri* e avaliando o efeito em 24, 48 e 72 horas. Da mesma forma, em outras espécies de coccinelídeos, produtos comerciais contendo azadiractina não causaram a morte de adultos, como o observado por Banken & Stark (1998) com *Coccinella septempunctata* L. Os autores, entretanto, encontraram redução na oviposição e atraso no desenvolvimento larval, fatores que não foram avaliados neste estudo.

Testando óleo de nim sobre *C. sanguinea*, Silva *et al.* (2004) verificaram que o produto causou a morte de larvas, porém, os adultos originários de larvas tratadas, não apresentaram alterações na razão sexual, fecundidade, fertilidade e longevidade.

A ação de produtos à base de nim sobre inimigos naturais é considerada altamente variável (Isman, 2006). Apesar de não ter sido registrada mortalidade significativa no presente estudo, deve-se levar em consideração os efeitos que este produto pode apresentar sobre o comportamento dos insetos. Simmonds *et al.* (2000) observaram que o comportamento de busca de larvas e adultos de *C. montrouzieri* sobre *P. citri* foi afetado, após aplicação de extrato de sementes de nim e de uma formulação comercial de azadiractina (Azatin[®]), com o predador permanecendo menos tempo nas folhas tratadas e diminuindo o encontro de presas.

Semelhante aos resultados do presente estudo com extrato pirolenhoso, Busoli *et al.* (2003) não registraram mortalidade significativa de larvas de *Hippodamia*

convergens utilizando quatro doses (0,5 a 2,5%) do extrato pirolenhoso (Biopiról 7M[®]), o que levou os autores a considerar o produto seletivo para a espécie.

Aguiar-Menezes (2005) afirma, sem especificar, que a rotenona é tóxica para peixes, ácaros e joaninhas predadoras. Entretanto, no presente trabalho, não se constatou a toxicidade deste produto sobre *C. montrouzieri*.

Apesar de já ter sido citado efeito tóxico da calda sulfocálcica, sobre predadores, como *Iphiseiodes zuluagai* Denmark & Muma (Acari: Phytoseiidae) (Amaral *et al.*, 2003), neste estudo tal efeito não foi constatado sobre adultos de *C. montrouzieri*. No entanto, Venzon *et al.* (2006) alertam que, antes da utilização da calda sulfocálcica, é necessário avaliar os possíveis efeitos adversos sobre os organismos benéficos presentes no agroecossistema.

O inseticida carbaril (Sevin 480 SC[®] – 2,25mL 100L⁻¹) utilizado como controle, na aplicação tópica, provocou a morte de 100% dos insetos somente 48 horas após a aplicação, no entanto, por exposição residual, constatou-se mortalidade de 100% dos insetos, já nas primeiras 12 horas de experimento. De acordo com Croft (1990), o contato com os resíduos dos produtos é a principal forma de contaminação para predadores, principalmente devido a uma superfície de contato maior em relação ao seu volume, por serem mais móveis, possuírem sistemas enzimáticos menos complexos e no caso de coleópteros, geralmente devido às sensilas tarsais. Este inseticida é recomendado no controle de coleópteros pragas, e tem sido utilizado como referência em testes sobre *C. montrouzieri* (Smith & Krischik, 2000).

TABELA 6. Número médio de insetos vivos (\pm DP) e mortalidade corrigida (% - Mc) de *Cryptolaemus montrouzieri*, 24, 48, 72 e 96 horas após tratamento via aplicação tópica (0,5 μ L/inseto). (25 \pm 2°C; 70 \pm 10% U.R.; fotofase: 14 horas).

Tratamentos		Dose ¹	D.R. ²	Tempo (horas)											
Produto	Comercial			24	Mc	48	Mc	72	Mc	96	Mc				
Óleo de Nim	Organic neem [®]	125	0,25	10,0 \pm 0,00	Aa ³	0	10,0 \pm 0,00	Aa	0	10,0 \pm 0,00	Aa	0	10,0 \pm 0,00	Aa	0
		250	0,5	10,0 \pm 0,00	Aa	0	10,0 \pm 0,00	Aa	0	10,0 \pm 0,00	Aa	0	10,0 \pm 0,00	Aa	0
		500	1	10,0 \pm 0,00	Aa	0	10,0 \pm 0,00	Aa	0	10,0 \pm 0,00	Aa	0	10,0 \pm 0,00	Aa	0
		1000	2	10,0 \pm 0,00	Aa	0	10,0 \pm 0,00	Aa	0	10,0 \pm 0,00	Aa	0	10,0 \pm 0,00	Aa	0
Óleo de Nim	Natuneem [®]	125	0,25	10,0 \pm 0,00	Aa	0	10,0 \pm 0,00	Aa	0	10,0 \pm 0,00	Aa	0	10,0 \pm 0,00	Aa	0
		250	0,5	10,0 \pm 0,00	Aa	0	10,0 \pm 0,00	Aa	0	10,0 \pm 0,00	Aa	0	10,0 \pm 0,00	Aa	0
		500	1	10,0 \pm 0,00	Aa	0	10,0 \pm 0,00	Aa	0	10,0 \pm 0,00	Aa	0	10,0 \pm 0,00	Aa	0
		1000	2	9,7 \pm 0,57	Aa	3,33	9,7 \pm 0,57	Aa	3,33	9,7 \pm 0,57	Aa	3,33	9,7 \pm 0,57	Aa	3,33
Rotenona	Rotenat [®]	150	0,25	10,0 \pm 0,00	Aa	0	10,0 \pm 0,00	Aa	0	10,0 \pm 0,00	Aa	0	10,0 \pm 0,00	Aa	0
		300	0,5	10,0 \pm 0,00	Aa	0	10,0 \pm 0,00	Aa	0	10,0 \pm 0,00	Aa	0	10,0 \pm 0,00	Aa	0
		600	1	10,0 \pm 0,00	Aa	0	10,0 \pm 0,00	Aa	0	10,0 \pm 0,00	Aa	0	10,0 \pm 0,00	Aa	0
		1200	2	9,7 \pm 0,57	Aa	3,33	9,7 \pm 0,57	Aa	3,33	9,7 \pm 0,57	Aa	3,33	9,7 \pm 0,57	Aa	3,33
Calda sulfocálcica	---	1250	0,25	10,0 \pm 0,00	Aa	0	10,0 \pm 0,00	Aa	0	10,0 \pm 0,00	Aa	0	10,0 \pm 0,00	Aa	0
		2500	0,5	10,0 \pm 0,00	Aa	0	10,0 \pm 0,00	Aa	0	10,0 \pm 0,00	Aa	0	10,0 \pm 0,00	Aa	0
		5000	1	10,0 \pm 0,00	Aa	0	10,0 \pm 0,00	Aa	0	10,0 \pm 0,00	Aa	0	10,0 \pm 0,00	Aa	0
		10000	2	10,0 \pm 0,00	Aa	0	10,0 \pm 0,00	Aa	0	10,0 \pm 0,00	Aa	0	10,0 \pm 0,00	Aa	0
Extrato pirolenhoso	Pironat [®]	62,5	0,25	10,0 \pm 0,00	Aa	0	10,0 \pm 0,00	Aa	0	10,0 \pm 0,00	Aa	0	10,0 \pm 0,00	Aa	0
		125	0,5	10,0 \pm 0,00	Aa	0	10,0 \pm 0,00	Aa	0	10,0 \pm 0,00	Aa	0	10,0 \pm 0,00	Aa	0
		250	1	10,0 \pm 0,00	Aa	0	10,0 \pm 0,00	Aa	0	10,0 \pm 0,00	Aa	0	10,0 \pm 0,00	Aa	0
		500	2	10,0 \pm 0,00	Aa	0	10,0 \pm 0,00	Aa	0	10,0 \pm 0,00	Aa	0	10,0 \pm 0,00	Aa	0
Extrato pirolenhoso	Biopiról 7M [®]	50	0,25	10,0 \pm 0,00	Aa	0	10,0 \pm 0,00	Aa	0	10,0 \pm 0,00	Aa	0	10,0 \pm 0,00	Aa	0
		100	0,5	10,0 \pm 0,00	Aa	0	10,0 \pm 0,00	Aa	0	10,0 \pm 0,00	Aa	0	10,0 \pm 0,00	Aa	0
		200	1	10,0 \pm 0,00	Aa	0	10,0 \pm 0,00	Aa	0	10,0 \pm 0,00	Aa	0	10,0 \pm 0,00	Aa	0
		400	2	9,7 \pm 0,57	Aa	3,33	9,7 \pm 0,57	Aa	3,33	9,7 \pm 0,57	Aa	3,33	9,7 \pm 0,57	Aa	3,33
Carbaril	Sevin 480 SC [®]	225	-	2,0 \pm 1,00	Ab	90	0,0 \pm 0,00	Bb	100	0 \pm 0,00	Bb	100	0 \pm 0,00	Bb	100
Testemunha	-	-	-	20 \pm 0,0	Aa	-	20 \pm 0,0	Aa	-	20 \pm 0,0	Aa	-	20 \pm 0,0	Aa	-

¹ Conc. = concentração, mL do produto comercial por 100L de água.

² D.R. = múltiplos da dose recomendada pelo fabricante.

³ Médias seguidas por letras distintas maiúsculas na linha e minúsculas na coluna diferem entre si pelo teste de Tukey em nível de 5% de probabilidade de erro.

TABELA 7. Número médio de insetos vivos (\pm DP) e mortalidade corrigida (% - Mc) de *Cryptolaemus montrouzieri*, 24, 48, 72 e 96 horas após tratamento via residual. ($25 \pm 2^\circ\text{C}$; $70 \pm 10\%$ U.R.; fotofase: 14 horas).

Tratamentos		Dose ¹	D.R. ²	Tempo (horas)											
Produto	Comercial			24	Mc	48	Mc	72	Mc	96	Mc				
Óleo de Nim	Organic neem [®]	125	0,25	10,0 \pm 0,00	Aa ³	0	10,0 \pm 0,00	Aa	0	10,0 \pm 0,00	Aa	0	10,0 \pm 0,00	Aa	0
		250	0,5	10,0 \pm 0,00	Aa	0	10,0 \pm 0,00	Aa	0	10,0 \pm 0,00	Aa	0	10,0 \pm 0,00	Aa	0
		500	1	10,0 \pm 0,00	Aa	0	10,0 \pm 0,00	Aa	0	10,0 \pm 0,00	Aa	0	10,0 \pm 0,00	Aa	0
		1000	2	10,0 \pm 0,00	Aa	0	10,0 \pm 0,00	Aa	0	10,0 \pm 0,00	Aa	0	10,0 \pm 0,00	Aa	0
Óleo de Nim	Natuneem [®]	125	0,25	10,0 \pm 0,00	Aa	0	10,0 \pm 0,00	Aa	0	10,0 \pm 0,00	Aa	0	10,0 \pm 0,00	Aa	0
		250	0,5	10,0 \pm 0,00	Aa	0	10,0 \pm 0,00	Aa	0	10,0 \pm 0,00	Aa	0	10,0 \pm 0,00	Aa	0
		500	1	10,0 \pm 0,00	Aa	0	10,0 \pm 0,00	Aa	0	10,0 \pm 0,00	Aa	0	10,0 \pm 0,00	Aa	0
		1000	2	10,0 \pm 0,00	Aa	0	10,0 \pm 0,00	Aa	0	10,0 \pm 0,00	Aa	0	10,0 \pm 0,00	Aa	0
Rotenona	Rotenat [®]	150	0,25	10,0 \pm 0,00	Aa	0	10,0 \pm 0,00	Aa	0	10,0 \pm 0,00	Aa	0	10,0 \pm 0,00	Aa	0
		300	0,5	10,0 \pm 0,00	Aa	0	10,0 \pm 0,00	Aa	0	10,0 \pm 0,00	Aa	0	10,0 \pm 0,00	Aa	0
		600	1	10,0 \pm 0,00	Aa	0	10,0 \pm 0,00	Aa	0	10,0 \pm 0,00	Aa	0	10,0 \pm 0,00	Aa	0
		1200	2	9,7 \pm 0,57	Aa	3,33	9,7 \pm 0,57	Aa	3,33	9,7 \pm 0,57	Aa	3,33	9,7 \pm 0,57	Aa	3,33
Calda sulfocálcica	---	1250	0,25	10,0 \pm 0,00	Aa	0	10,0 \pm 0,00	Aa	0	10,0 \pm 0,00	Aa	0	10,0 \pm 0,00	Aa	0
		2500	0,5	10,0 \pm 0,00	Aa	0	10,0 \pm 0,00	Aa	0	10,0 \pm 0,00	Aa	0	10,0 \pm 0,00	Aa	0
		5000	1	10,0 \pm 0,00	Aa	0	10,0 \pm 0,00	Aa	0	10,0 \pm 0,00	Aa	0	10,0 \pm 0,00	Aa	0
		10000	2	10,0 \pm 0,00	Aa	0	9,7 \pm 0,57	Aa	3,33	9,7 \pm 0,57	Aa	3,33	9,7 \pm 0,57	Aa	3,33
Extrato pirolenhoso	Pironat [®]	62,5	0,25	10,0 \pm 0,00	Aa	0	10,0 \pm 0,00	Aa	0	10,0 \pm 0,00	Aa	0	10,0 \pm 0,00	Aa	0
		125	0,5	10,0 \pm 0,00	Aa	0	10,0 \pm 0,00	Aa	0	10,0 \pm 0,00	Aa	0	10,0 \pm 0,00	Aa	0
		250	1	10,0 \pm 0,00	Aa	0	10,0 \pm 0,00	Aa	0	10,0 \pm 0,00	Aa	0	10,0 \pm 0,00	Aa	0
		500	2	10,0 \pm 0,00	Aa	0	10,0 \pm 0,00	Aa	0	10,0 \pm 0,00	Aa	0	10,0 \pm 0,00	Aa	0
Extrato pirolenhoso	Biopiról 7M [®]	50	0,25	10,0 \pm 0,00	Aa	0	10,0 \pm 0,00	Aa	0	10,0 \pm 0,00	Aa	0	10,0 \pm 0,00	Aa	0
		100	0,5	10,0 \pm 0,00	Aa	0	10,0 \pm 0,00	Aa	0	10,0 \pm 0,00	Aa	0	10,0 \pm 0,00	Aa	0
		200	1	10,0 \pm 0,00	Aa	0	10,0 \pm 0,00	Aa	0	10,0 \pm 0,00	Aa	0	10,0 \pm 0,00	Aa	0
		400	2	10,0 \pm 0,00	Aa	0	10,0 \pm 0,00	Aa	0	10,0 \pm 0,00	Aa	0	10,0 \pm 0,00	Aa	0
Carbaril	Sevin 480 SC [®]	225	-	0,0 \pm 0,00	Ab	100	0,0 \pm 0,00	Ab	100	0 \pm 0,00	Ab	100	0 \pm 0,00	Ab	100
Testemunha	-	-	-	20 \pm 0,0	Aa	-	20 \pm 0,0	Aa	-	20 \pm 0,0	Aa	-	20 \pm 0,0	Aa	-

¹ Conc. = concentração, mL do produto comercial por 100L de água.

² D.R. = múltiplos da dose recomendada pelo fabricante.

³ Médias seguidas por letras distintas maiúsculas na linha e minúsculas na coluna diferem entre si pelo teste de Tukey em nível de 5% de probabilidade de erro.

Classificando os produtos testados neste experimento, de acordo com os critérios da IOBC, (Hassan *et al.*, 1985; Bakker *et al.*, 1992; Hassan, 1994, Reis *et al.*, 1998), todos podem ser considerados, quanto à mortalidade por ação de contato e residual sobre *C. montrouzieri*, como inócuos, uma vez que a mortalidade foi menor do que 30% (Tabelas 6 e 7), sendo portanto, seletivos. Entretanto, outras formas de exposição aos tratamentos, como a ingestão de presas contaminadas, bem como avaliar efeitos subletais devem ser estudadas.

4.3.2 Ação em *Apis mellifera*

O produto Rotenat CE[®] (1200mL 100L⁻¹), foi o único a causar mortalidade significativa via aplicação tópica, a qual resultou na sobrevivência de 80,2 ± 7,70% de *A. mellifera*, na avaliação realizada 24 horas após o tratamento. Entretanto, este produto foi significativamente menos tóxico para as abelhas que o controle fentiona (Tabela 8). Nas 48 horas após a aplicação, este produto também apresentou efeito significativo, resultando na sobrevivência de 69,5 ± 6,67% das abelhas. Esse valor de sobrevivência, apesar de ser significativamente maior do que o do controle com fentiona, está bem próximo ao limiar do que a IOBC considera como um produto levemente nocivo (mortalidade entre > 30% e < 79%) (Hassan *et al.*, 1985; Bakker *et al.*, 1992; Hassan, 1994, Reis *et al.*, 1998).

Constatou-se efeito tóxico da calda sulfocálcica, nas concentrações de 5000mL 100L⁻¹ e 10000mL 100L⁻¹, sobre as operárias de *A. mellifera*, na avaliação de 48 horas (Tabela 8). O efeito dessa calda, na maior dose, sobre a sobrevivência das abelhas, apesar de estar abaixo do considerado pela IOBC como levemente nocivo, também é um valor bem próximo do limiar e, por isso, o adequado seria seguir o esquema seqüencial de testes, realizando testes de semi-campo.

TABELA 8. Porcentagem média de sobrevivência (\pm DP) de operárias de *Apis mellifera*, 24 e 48 horas após tratamento via contato. ($29 \pm 1^\circ\text{C}$; $70 \pm 10\%$ U.R.; sem fotofase).

Tratamentos		Conc. ¹	D.R. ²	Tempo (horas)			
Produto	Nome Comercial			24	48		
Óleo de Nim	Organic neem [®]	125	0,25	98,6 \pm 1,73	Aa ³	95,2 \pm 3,62	Aab
		250	0,5	98,3 \pm 2,11	Aa	94,8 \pm 4,02	Aab
		500	1	98,6 \pm 1,67	Aa	93,6 \pm 3,83	Bab
		1000	2	98,7 \pm 1,62	Aa	98,5 \pm 1,61	Aab
Óleo de Nim	Natuneem [®]	125	0,25	98,8 \pm 2,06	Aa	93,2 \pm 0,46	Bab
		250	0,5	100 \pm 0,00	Aa	93,1 \pm 1,98	Bab
		500	1	98,8 \pm 1,92	Aa	89,0 \pm 1,00	Bab
		1000	2	97,3 \pm 2,31	Aa	87,7 \pm 0,70	Bab
Rotenona	Rotenat [®]	150	0,25	98,7 \pm 2,15	Aa	87,6 \pm 5,67	Bab
		300	0,5	96,0 \pm 3,87	Aa	87,2 \pm 5,47	Aab
		600	1	94,1 \pm 5,16	Aa	86,8 \pm 4,75	Aab
		1200	2	80,2 \pm 7,70	Ab	69,5 \pm 6,67	Ad
Calda sulfocálcica	---	1250	0,25	98,9 \pm 1,75	Aa	92,5 \pm 5,57	Aab
		2500	0,5	98,0 \pm 1,91	Aa	91,7 \pm 3,69	Bab
		5000	1	92,7 \pm 5,17	Aa	83,4 \pm 3,38	Bbc
		10000	2	91,6 \pm 4,01	Aa	74,1 \pm 2,82	Bdc
Extrato pirolenhoso	Pironat [®]	62,5	0,25	100 \pm 0,00	Aa	95,2 \pm 2,02	Bab
		125	0,5	100 \pm 0,00	Aa	92,6 \pm 2,13	Bab
		250	1	98,8 \pm 1,99	Aa	90,7 \pm 2,10	Bab
		500	2	98,7 \pm 2,30	Aa	87,9 \pm 3,60	Bab
Extrato pirolenhoso	Biopiro 7M [®]	50	0,25	96,9 \pm 3,03	Aa	94,9 \pm 4,63	Aab
		100	0,5	96,7 \pm 3,33	Aa	94,4 \pm 5,09	Aab
		200	1	94,5 \pm 5,20	Aa	92,5 \pm 7,04	Aab
		400	2	94,9 \pm 4,45	Aa	89,9 \pm 5,98	Aab
Fentiona	Lebaycid 500 CE [®]	100	-	0 \pm 0,00	Ac	0 \pm 0,00	Ae
Testemunha	-	-	-	99,2 \pm 1,66	Aa	98,9 \pm 1,92	Aa

¹ Conc. = concentração, mL do produto comercial por 100L de água.

² D.R.= múltiplos da dose recomendada pelo fabricante.

³ Médias seguidas por letras distintas maiúsculas na linha e minúsculas na coluna diferem entre si pelo teste de Tukey em nível de 5% de probabilidade de erro.

Os demais produtos testados por aplicação tópica, não afetaram significativamente a sobrevivência das abelhas, em nenhuma dose e período de avaliação (Tabela 8).

A ausência de efeito deletério do nim sobre *A. mellifera* foi registrada por Schmitterer (1990), o qual constatou que a formulação comercial Margosan-O[®],

não foi tóxica para operárias, através de contato direto, mesmo em altas concentrações. Resultado semelhante foi obtido por González-Gómez *et al.* (2006), os quais avaliando a toxicidade de extrato de sementes de nim e de um produto comercial (PHC Neem[®]), sobre *A. mellifera*, também não constataram efeito tóxico sobre as abelhas.

Os produtos Natuneem[®], Organic neem[®], calda sulfocálcica e Pironat[®], no presente estudo, entre as observações de 24 e 48 horas, apresentaram aumento significativo na mortalidade de *A. mellifera*, em distintas concentrações (Tabela 9). Isto indica que se fossem acompanhados por um período maior, esses produtos poderiam apresentar toxicidade sobre *A. mellifera*. Entretanto, esse acompanhamento não foi executado, devido à dificuldade de manter esses insetos sociais vivos por períodos longos, fora da colméia.

Quando os produtos foram oferecidos para ingestão somente a calda sulfocálcica (10000mL 100L⁻¹), diferiu da testemunha com água na avaliação de 24 horas. Entretanto, nas 48 horas, diversos produtos e doses diferiram da testemunha com água. Com destaque para a calda sulfocálcica (5000mL 100L⁻¹ - 69,9±2,99%; e em 10000mL 100L⁻¹ - 31,7±1,51%) e Rotenat CE[®] (1200mL 100L⁻¹ - 76,6±2,89%), que foram os que apresentaram maior toxicidade, com excessão do controle com fentiona. De maneira similar ao que ocorreu no teste de aplicação tópica, porém com valores percentuais menores de sobrevivência. Isto pode ter ocorrido por uma ação diferenciada devido ao método de exposição, com uma maior toxicidade quando o produto foi ingerido do que por contato. Hoskins & Gordon (1956) consideram que a cutícula diminui a penetração e eficácia de inseticidas e Croft (1990) afirma que, de maneira geral, a contaminação por ingestão é maior.

TABELA 9. Porcentagem média de sobrevivência (\pm DP) de operárias de *Apis mellifera*, 24 e 48 horas após tratamento via ingestão. ($29\pm 1^\circ\text{C}$; $70\pm 10\%$ U.R.; sem fotofase).

Tratamentos		Conc. ¹	D.R. ²	Tempo (horas)			
Produto	Nome Comercial			24		48	
Óleo de Nim	Organic neem [®]	125	0,25	98,8 \pm 2,06	Aa ³	94,3 \pm 2,25	Aab
		250	0,5	100 \pm 0,00	Aa	93,0 \pm 2,00	Bab
		500	1	98,8 \pm 1,99	Aa	88,9 \pm 0,85	Bbc
		1000	2	97,3 \pm 2,32	Aab	83,9 \pm 0,64	Bc
Óleo de Nim	Natuneem [®]	125	0,25	98,8 \pm 1,99	Aa	93,9 \pm 1,84	Bab
		250	0,5	97,5 \pm 2,26	Aab	89,4 \pm 0,77	Bbc
		500	1	96,5 \pm 3,45	Aab	88,8 \pm 2,39	Bbc
		1000	2	95,4 \pm 1,79	Aab	83,7 \pm 2,39	Bc
Rotenona	Rotenat [®]	150	0,25	98,7 \pm 2,16	Aa	96,4 \pm 3,68	Aa
		300	0,5	98,5 \pm 2,24	Aa	94,9 \pm 2,28	Aab
		600	1	95,5 \pm 4,13	Aab	89,2 \pm 3,71	Abc
		1200	2	93,3 \pm 0,65	Aab	76,6 \pm 2,89	Bd
Calda sulfocálcica	---	125	0,25	98,8 \pm 2,06	Aa	94,4 \pm 1,70	Bab
		250	0,5	98,0 \pm 1,39	Aa	88,8 \pm 1,89	Bbc
		500	1	93,7 \pm 2,08	Aab	69,9 \pm 2,99	Be
		1000	2	90,9 \pm 5,47	Ab	31,7 \pm 1,51	Bf
Extrato pirolenhoso	Pironat [®]	62,5	0,25	100 \pm 0,00	Aa	97,6 \pm 2,10	Ba
		125	0,5	100 \pm 0,00	Aa	96,0 \pm 0,34	Ba
		250	1	100 \pm 0,00	Aa	94,3 \pm 1,93	Bab
		500	2	98,7 \pm 2,22	Aa	93,0 \pm 0,24	Bab
Extrato pirolenhoso	Biopirol 7M [®]	50	0,25	98,8 \pm 2,06	Aa	94,3 \pm 2,25	Aab
		100	0,5	100 \pm 0,00	Aa	93,0 \pm 2,00	Bab
		200	1	98,8 \pm 1,99	Aa	88,9 \pm 0,85	Bbc
Fentiona	Lebaycid 500 CE [®]	400	2	97,3 \pm 2,32	Aab	83,9 \pm 0,64	Bc
		100	-	0 \pm 0,00	Ac	0 \pm 0,00	Ag
Testemunha	-	-	-	100 \pm 0,00	Aa	99,3 \pm 0,80	Aa

¹ Conc. = concentração, mL do produto comercial em 100L de solução com água.

² D.R. = múltiplos da dose recomendada pelo fabricante.

³ Médias seguidas por letras distintas maiúsculas na linha e minúsculas na coluna diferem entre si pelo teste de Tukey em nível de 5% de probabilidade de erro.

O Biopirol 7M[®] e os produtos à base de nim demonstraram uma mortalidade significativa nas doses recomendadas pelos fabricantes e no dobro destas, o que pode ser devido a algum efeito anti-alimentar, principalmente do nim, já que seu principal componente, a azadiractina, exerce este efeito fago-deterrente sobre insetos (Godfrey, 1994; Martinez, 2002; Viegas Junior, 2003; Isman, 2006).

Constatou-se de modo geral, para maioria dos produtos e doses, diminuição significativa na sobrevivência entre as 24 e 48 horas, sugerindo que os efeitos tóxicos dos mesmos, por ingestão, possam ser observados ao longo de um período maior de tempo.

O inseticida controle de referência (fentiona – 50g 100L⁻¹) ocasionou a morte de 100% das abelhas, já na primeira avaliação, 24 horas após a aplicação, para os dois métodos de exposição testados.

Para Aguiar-Menezes (2005), a rotenona é considerada não-tóxica para abelhas. Entretanto, os resultados do presente estudo e a classificação da IOBC, demonstram a necessidade de mais testes sobre *A. mellifera*, empregando-se outras metodologias de exposição e, principalmente, em condições de semi-campo.

Muito embora para Hunt *et al.* (2003) produtos à base de rotenona, azadiractina e enxofre, como a calda sulfocálcica, são relativamente não-tóxicos para *A. mellifera*, de acordo com Silva (2005) e Dal Soglio *et al.* (2007), a calda sulfocálcica causa um grande impacto na entomofauna presente em área de frutíferas como, por exemplo, em citros. Os autores constataram uma redução quantitativa nos táxons e diminuição na abundância daqueles menos freqüentes capturados em armadilha McPhail, em pomares de citros. Consideram ainda, que esta redução parece estar relacionada com o número de aplicações da calda, já que nas intensidades maiores verificaram os maiores impactos.

5 CONCLUSÕES

Com base nos resultados obtidos no presente estudo e nas condições sob as quais foram realizados os experimentos, foi possível concluir que:

- a metodologia de criação em dieta artificial propicia a produção de *A. fraterculus*, em laboratório;
- Rotenat CE[®] (1200 mL 100L⁻¹ de água) apresenta efeito inseticida sobre *A. fraterculus*, através de oferecimento via ingestão/contato;
- os produtos Pironat[®] (250mL 100L⁻¹), Biopiról 7M[®] (200mL 100L⁻¹), Organic neem[®] (500mL 100L⁻¹), Natuneem[®] (500mL 100L⁻¹), e calda sulfocálcica (5000mL 100L⁻¹), nos quatro múltiplos (0,25x, 0,5x, 1x e 2x) da dose recomendada pelos fabricantes, não são eficientes no controle de *A. fraterculus*;
- nenhum dos produtos testados apresentou diferenças de ação inseticida com relação ao sexo de *A. fraterculus*;
- os produtos calda sulfocálcica (5000mL 100L⁻¹), Pironat[®] (250mL 100L⁻¹) e Biopiról 7M[®] (200mL 100L⁻¹ de água) não apresentam efeito de deterrência sobre a oviposição de *A. fraterculus*;
- nenhum dos produtos avaliados apresentou eficiência sobre *A. fraterculus* semelhante a fentiona, através de ingestão/contato, aplicação tópica ou residual;

- os produtos Pironat[®] (250mL 100L⁻¹), Biopiról 7M[®] (200mL 100L⁻¹), Organic neem[®] (500mL 100L⁻¹), Natuneem[®] (500mL 100L⁻¹), calda sulfocálcica (5000mL 100L⁻¹) e Rotenat CE[®] (1200mL 100L⁻¹), nos quatro múltiplos (0,25x, 0,5x, 1x e 2x) da dose recomendada pelos fabricantes, são seletivos a adultos de *C. montrouzieri*;
- a calda sulfocálcica (5000mL 100L⁻¹ e 10000 mL 100L⁻¹ de água) por ingestão, e Rotenat CE[®] (1200mL 100L⁻¹ de água), por aplicação tópica, são tóxicos para *A. mellifera*.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados obtidos no presente trabalho suscitam questões referentes à comercialização e ao uso correto dos produtos fitossanitários que vem sendo utilizados corriqueiramente no sistema orgânico de produção.

A maioria dos produtos testados não apresentou efeito inseticida sobre *A. fraterculus*, em laboratório. No entanto, tem sido recomendados e largamente utilizados no sistema orgânico, em muitos casos com grande frequência de aplicação, resultando, desta maneira, em prejuízos financeiros aos produtores.

Um outro aspecto avaliado no trabalho, diz respeito ao efeito deterrente dos produtos que tinham gerado respostas eletroantenográficas significativas nas sensilas antenais de *A. fraterculus*. Não foi registrada deterrência de oviposição, ou seja, produtos como calda sulfocálcica e extrato pirolenhoso, além de não provocarem a morte de adultos, não impedem que as moscas ovipositem nos frutos.

O único produto que exerceu controle sobre *A. fraterculus* foi o Rotenat CE[®] (1200ml 100L⁻¹ de água), entretanto permanece a questão da degradabilidade deste produto no ambiente e a presença de resíduos nos frutos, já que é tóxico para peixes e mamíferos. Assim, no caso da aplicação destes produtos, cuidados, como a utilização de equipamentos de proteção individual (EPI), devem ser tomados.

Um aspecto a ser estudado é a associação de Rotenat CE[®] (1200ml 100L⁻¹ de água) com isca tóxica, já que se observou uma maior eficiência quando oferecido por ingestão/contato. Buscando-se a aplicação nos troncos ou áreas adjacentes, evitando o contato com os frutos, porém isso deve ser realizado com a apropriada metodologia científica.

De maneira geral, os produtos testados são comercializados com poucas informações técnicas nas embalagens e rótulos, sem especificar quais ingredientes ativos estão presentes e em que quantidades. Este cenário provavelmente será alterado com a entrada em vigor das alterações na Lei 7.802/1989, com regras para o registro de produtos fitossanitários permitidos no sistema orgânico.

Por fim, com relação à seletividade dos produtos, ainda é necessário fazer avaliação dos efeitos nas fases imaturas de *A. mellifera* e *C. montrouzieri*, além de testes de semi-campo observando-se o comportamento de busca do predador por presas e de orientação das abelhas, na colméia e na coleta de néctar, e presença de resíduos no mel.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABBOTT, W. S. A method of computing the effectiveness of an insecticide. **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v. 18, p. 265-267, 1925.

AGUIAR-MENEZES, E. L.; FERRARA, F. A. A.; MENEZES, E. B. Moscas-das-frutas. In: CASSINO P. C. R.; RODRIGUES W. C. (Coord.) **Citricultura Fluminense**: principais pragas e seus inimigos naturais. Seropédica: Ed. Universidade Rural, 2004. p. 67-84.

AGUIAR-MENEZES, E.L. **Inseticidas botânicos**: seus princípios ativos, modo de ação e uso agrícola. Seropédica: Embrapa Agrobiologia, 2005. 58p.

ALUJA, M. Bionomics and management of *Anastrepha*. **Annual Review of Entomology**, Stanford, v.39, p.155-178, 1994.

AMANO, H.; HASEEB, M. Recently proposed methods and concepts of testing the effects of insecticides on the beneficial mite and insect species: study limitation and implications in IPM. **Applied Entomology and Zoology**, Tóquio, n. 36, p. 1–11, 2001.

AMARAL, D.S.L.; VENZON, M.; PALLINI, A. Manejo de pragas na cafeicultura orgânica. In: ZAMBOLIM, L. (ed). **Produção integrada de café**. Viçosa: Suprema, 2003. p. 67-86.

AUPINEL, P. et al. Toxicity of dimethoate and fenoxycarb to honey bee brood (*Apis mellifera*), using a new in vitro standardized feeding method. **Pest Management Science**, Sussex, n. 63, p. 1090–1094, 2007.

AZEVEDO, R. et al. Ocorrência de agentes fitossanitários e medidas de controle utilizadas pelos agricultores ecológicos em Pelotas-RS In: MOSTRA DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA E DE PÓS-GRADUAÇÃO, PESQUISA, EXTENSÃO, 2002, Bagé. **Anais...** Bagé: URCAMP, 2002. p. 294.

AZEVEDO, F.R. de, et al. Eficiência de produtos naturais para o controle de *Bemisia tabaci* biótipo b (Hemiptera: Aleyrodidae) em meloeiro. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v.72, n.1, p.73-79, 2005.

BABU, T.R.; AZAM, K.M. Biology of *Cryptolaemus montrouzieri* Mulsant (Coccinellidae: Coleoptera) in relation with temperature. **Entomophaga**, Paris, v. 32, n.4, p. 381-386, 1987a.

BABU, T.R.; AZAM, K.M. Residual toxicity of different insecticides to the adult *Cryptolaemus montrouzieri* Mulsant (Coccinellidae: Coleoptera). **Tropical Pest Management**, Brisbane, v.33, n.2, p.180-181, 1987b.

BAKKER, F. M. et al. Side-effect test for phytoseiids and their rearing methods. **IOBC/WPRS Bulletin**, Montfavet, v. 15, p. 61-81, 1992.

BANKEN, J.A.O.; STARK, J. D. Multiple routes of pesticide exposure and the risk of pesticides to biological controls a study of neem and the sevenspotted lady beetle (Coleoptera: Coccinellidae). **Journal Economic Entomology**, Lanham, p. 91, p. 1–6, 1998.

BARROS, M.D.; NOVAES, M.; MALAVASI, A. Estudos do comportamento da oviposição de *Anastrepha fraterculus* (Wiedemann, 1830) (Diptera: Tephritidae) em condições naturais e de laboratório. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Jaboticabal, v.12, p.243-247, 1983.

BARRY, J.D.; SCIARAPPA, W.J.; TEIXEIRA, L.A.F. Comparative effectiveness of different insecticides for organic management of blueberry maggot (Diptera: Tephritidae). **Journal Economic Entomology**, Lanham, n. 98, p. 1236–1241, 2005.

BARTLETT, B.R. Introduction into California USA of cold tolerant biotypes of the mealybug predator *Cryptolaemus montrouzieri* and laboratory procedures for testing natural enemies for cold hardiness. **Environmental Entomology**, College Park, n. 3, p. 553–556, 1974.

BARTLETT, B.R. Coccidae, Diaspididae, Eriococcidae, Margarodidae, Ortheziidae, Pseudococcidae. In: CLAUSEN, C. P. **Introduced parasites and predators of arthropod pests and weeds: a world review**. Washington: Agriculture Handbook, 1978. p. 57-74.

BARTLETT, B.R.; LLOYD, D.C. Mealybugs attacking citrus in California; a survey of their natural enemies and release of new parasites and predators. **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v.51, n.1, p. 90-93, 1958.

BELLOWS, T.S.J.; MORSE, D.G. Residual toxicity following dilute or low volume applications of insecticides used for control of California red scale (Homoptera: Diaspididae) to four beneficial species in citrus agroecosystem. **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v.81, v.3, p.892-898, 1988.

BELLOWS, T.S.J. et al. Residual toxicity of four insecticides used for control of citrus thrips (Thysanoptera: Thripidae) on three beneficial species in a citrus agroecosystem. **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v.78, p.681-686, 1985.

BERTI FILHO, E.; MENEZES, E.B.; MORAES, G.J. A introdução de *Cryptolaemus montrouzieri* (Coleoptera: Coccinellidae) para o controle biológico da cochonilha do abacaxi *Dysmicoccus* sp. In: REUNIÃO ANUAL DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA, 1973, Viçosa. **Anais...** Viçosa: UFV, 1973. p. 63.

BLÜMEL, S. et al. Pesticides in IPM: Selectivity, side effects, application and resistance problems, en Albajes, In: GULLINO, R.; VAN LENTEREN, M.; ELAD, Y. **Integrated Pest and Disease Management in Greenhouse Crops**. Dordrecht: Kluwer Academic, 1999. p. 150-167.

BOMFORD, M.K.; ISMAN, M.B. Desensitization of fifth instar *Spodoptera litura* (Lepidoptera: Noctuidae) to azadirachtin and neem. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, Dordrecht, n. 81, p. 307–313, 1996.

BOTTON, M. et al. Novas alternativas para o monitoramento e controle de *Anastrepha fraterculus* (Wiedmann, 1830) (Diptera: Tephritidae) em fruteiras temperadas. In: ENCONTRO NACIONAL DE FRUTICULTURA DE CLIMA TEMPERADO, 6., 2003, Fraiburgo. **Anais...** Caçador: Epagri, 2003. p. 163-170.

BOTTON, M.; SORIA, S. J. ; HICKEL, E. R. Pragas da videira sem sementes. In: Embrapa. (Org.). **Uvas Sem Sementes cultivares BRS Clara, BRS Linda e BRS Morena**. Brasília: Embrapa, 2005. v. 1, p. 1-8.

BOYERO, J.R.; RODRÍGUEZ, N.; SURIA, R.; RUÍZ, R.; PASCUAL, F. Efectos de varios plaguicidas sobre *Cryptolaemus montrouzieri* Mulsant y *Rhyzobius lophantae* Blaisdell (Coleoptera: Coccinellidae). **Boletín de Sanidad Vegetal de Plagas**, Madri, v.31, n.1, p.79-87, 2005.

BRASIL. Lei nº 7.802, de 11 de julho de 1989. Dispõe sobre a pesquisa, a experimentação, a produção, a embalagem e rotulagem, o transporte, o armazenamento, a comercialização, a propaganda comercial, a utilização, a exportação, o destino final dos resíduos, o controle, a inspeção e a fiscalização e dá outras providências. **Diário Oficial [da República Federativa do Brasil]**, Brasília, v., n., p. 11459, 12 jul. 1989. Seção 1.

BRASIL. Instrução Normativa nº 38, de 14 de outubro de 1999. Estabelece a lista de pragas quarentenárias A1, A2 e não quarentenárias regulamentadas, a ser observada pelo sistema de defesa fitossanitária do Brasil. **Diário Oficial [da República Federativa do Brasil]**, Brasília, p. 1, 26 out. 1999. Seção 1.

BRASIL. Lei nº 9.974, de 06 de junho de 2000. Altera a Lei nº 7.802, de 11 de julho de 1989, que dispõe sobre a pesquisa, a experimentação, a produção, a embalagem e rotulagem, o transporte, o armazenamento, a comercialização, a propaganda comercial, a utilização, a exportação, o destino final dos resíduos, o controle, a inspeção e a fiscalização e dá outras providências. **Diário Oficial [da República Federativa do Brasil]**, Brasília, p.1, 07 jun. 2000. Seção 1.

BRASIL. Decreto nº 4.074, de 4 de janeiro de 2002. Regulamenta a Lei n. 7.802, de 11 de julho de 1989, que dispõe sobre a pesquisa, a experimentação, a produção, a embalagem e rotulagem, o transporte, o armazenamento, a comercialização, a propaganda comercial, a utilização, a importação, a exportação, o destino final dos resíduos e embalagens, o registro, a classificação, o controle, a inspeção e a fiscalização de agrotóxicos, seus componentes e afins, e dá outras providências. **Diário Oficial [da República Federativa do Brasil]**, Brasília, n. 5, p. 1, 8 jan. 2002. Seção 1.

BRASIL. Lei n.º 10.831, de 23 de dezembro de 2003. Dispõe sobre a agricultura orgânica e dá outras providências. **Diário Oficial [da República Federativa do Brasil]**, Brasília, p. 8, 23 dez. 2003. Seção 1.

BRASIL. Decreto n.º 6.323 de 27 de dezembro de 2007. Regulamenta a Lei nº 10.831, de 23 de dezembro de 2003, que dispõe sobre a agricultura orgânica, e dá outras providências. **Diário Oficial [da República Federativa do Brasil]**, Brasília, n. 249, p. 2, 28 dez. 2007. Seção 1.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Situação da produção orgânica 2006**. Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br/pls/portal/docs/PAGE/MAPA/MENU_LATERAL/AGRICULTURA_PECUARIA/PRODUTOS_ORGANICOS/AO_DADOS_ESTADISTICAS/SITUA%C7%C3O%20DA%20PRODU%C7%C3O%20ORG%C2NICA%202006.PDF>. Acesso em: 11 de julho de 2008a.

BRASIL. Ministério de Desenvolvimento, Indústria e Comércio Exterior - **Exportações de produtos orgânicos**. Disponível em: <http://www.desenvolvimento.gov.br/arquivos/dwnl_1219167423.xls>. Acesso em: 05 de agosto de 2008b.

BRASIL. Instrução Normativa n.º 64, de 18 de dezembro de 2008. Visa estabelecer as normas técnicas para os Sistemas Orgânicos de Produção Animal e Vegetal a serem seguidos por toda pessoa física ou jurídica responsável por unidades de produção em conversão ou por sistemas orgânicos de produção. **Diário Oficial [da República Federativa do Brasil]**, Brasília, n.247, p.21, 19 dez. 2008c. Seção 1.

BUDIA, F.; ADÁN, A.; VIÑUELA, E. Efectos secundarios de tres modernos plaguicidas por contacto residual en laboratorio sobre adultos de *Podisus maculiventris* (Say) (Hemiptera: Pentatomidae). **Boletín de Sanidad Vegetal de Plagas**, Madrid, v. 26, n. 4, p. 521-526, 2000.

BUSOLI, A. C.; BISSOLI, G.; PEREIRA, F. F. Seletividade do extrato pirolenhoso (Biopiról) sobre larvas de joaninha *Hippodamia convergens* Guerin-Meneville, 1824 (Coleoptera: Coccinellidae). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ALGODÃO, 4., 2003, Goiânia. **Anais...** Goiânia: Embrapa Algodão, 2003. p. 1-4.

CARVALHO, R. P. L. Biocontrole de moscas-das-frutas: histórico, conceitos e estratégias. **Bahia Agrícola**, Salvador, v. 7, n. 3, p. 14-17, 2006a.

CARVALHO, R. S. **Metodologia para monitoramento populacional de moscas-das-frutas em pomares comerciais**. Cruz das Almas, BA: Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical, 2005 (Circular Técnica, 75).

CARVALHO, R. S.; NASCIMENTO, A. S.; MATRANGALO, W. J. R. Controle Biológico. In: MALAVASI, A; ZUCCHI, R.A. **Moscas-das-frutas de importância econômica no Brasil: conhecimento básico e aplicado**. Ribeirão Preto: Holos, 2000. p. 113-117.

CARVALHO, S. M. **Toxicidade de produtos fitossanitários utilizados em citricultura à operárias de *Apis mellifera* Linnaeus, 1758 (Hymenoptera:**

Apidae). 2006. 72 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia - Entomologia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2006b.

CHACKO, M.J. et al. The use of the ladybird beetle *Cryptolaemus montrouzieri*, for the control of coffee mealybugs. **Journal of Coffee Research**, Chikmagalur, v.8, n.1, p.14-19, 1978.

CLARO, S.A. **Referenciais tecnológicos para a agricultura familiar ecológica: a experiência da Região Centro-Serra do Rio Grande do Sul**. Porto Alegre: Emater/RS-ASCAR, 2001. 250p.

CLOYD, R.A.; DICKINSON, A. Effect of insecticides on mealybug destroyer (Coleoptera: Coccinellidae) and parasitoid *Leptomastix dactylopii* (Hymenoptera: Encyrtidae), natural enemies of citrus mealybug (Homoptera: Pseudococcidae). **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v.99, n.5, p.1596-1604, 2006.

CORBET, S.A; WILLIAMS, I.H.; OSBORNE, J.L. Bees and the pollination of crops and wild flowers in the European Community. **Bee World**, Bucks, v. 72, n. 2, p. 47-59, 1991.

COSME, L.V.; CARVALHO, G.A.; MOURA, A.P. Efeitos de inseticidas botânico e sintéticos sobre ovos e larvas de *Cycloneda sanguinea* (Linnaeus) (Coleoptera: Coccinellidae) em condições de laboratório **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v.74, n.3, p.251-258, 2007.

COSTA, J.P.C. da; BELO, M.; BARBOSA, J. C. Efeitos de espécies de timbós (*Derris* spp.: Fabaceae) em populações de *Musca domestica* L. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Londrina, v.26, n.1, 1997.

CROFT, B. A. **Arthropod biological control agents and pesticides**. Wiley: New York, 1990. 723p.

CRUZ, I.B.M. et al. Toxicity of fenthion to *Anastrepha fraterculus* (Wied.) (Diptera: Tephritidae): dose response analyses. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Londrina, v.26, p.471-479, 1997.

CRUZ, I.B.M. et al. Estudos toxicológicos. In: MALAVASI, A.; ZUCCHI, R.A. (Ed.). **Moscas-das-frutas de importância econômica no Brasil: conhecimento básico e aplicado**. Ribeirão Preto: Holos, 2000. p.143-150.

DAL SOGLIO, F. K. et al. Desenvolvimento de tecnologias apropriadas para a produção de mudas e frutas cítricas em sistema familiar de produção. **Revista Brasileira de Agroecologia**, Porto Alegre, v.2, n.1, p. 98-101, 2007.

DEGRANDE, P.E. **Otimização e prática da metodologia da IOBC para avaliar o efeito de pesticidas sobre *Trichogramma cacoeciae* (Trichogrammatidae) e *Chrysoperla carnea* (Chrysopidae)**. 1996. 108f. Tese (Doutorado - Entomologia) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Piracicaba, SP, 1996.

DEGRANDE, P.E. et al. Metodologia para avaliar o impacto de pesticidas sobre inimigos naturais. In: PARRA, J.R.P. et al. (Eds.). **Controle biológico no Brasil: parasitóides e predadores**. São Paulo: Manole, 2002. p. 71-94.

DEVILLERS, J. The ecological importance of honey bees and their relevance to ecotoxicology. In: DEVILLERS J., PHAM-DELÈGUE M. H. (Eds.). **Honey Bees: estimating the environmental impact of chemicals**. London: Taylor & Francis, 2002, p. 1-10.

DI ILIO, V. et al. Effects of a neem compound on the fecundity and longevity of *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae). **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v. 92, p. 76–82, 1999.

FAO. Conservation and management of pollinators for sustainable agriculture – the international response. In: FREITAS, B. M.; PEREIRA, J. O. P. (Ed.). **Solitary bees: conservation, rearing and management for pollination**. Fortaleza: Imprensa Universitária, 2004. p. 19-22.

FAO. International Conference on Organic Agriculture and Food Security, OFS/2007. **Report**, Roma, 2007, 11 p.

FELTON, J. C.; OOMEN, P. A.; STEVENSON, J. H. Toxicity and hazard of pesticides to honey bees: harmonization of test methods. **Bee World**, Bucks, n. 67, p. 114–124, 1986.

FERREIRA, A.J. et al. Seletividade de inseticidas usados na cultura da macieira a ovos de *Chrysoperla externa* (Hagen, 1861) (Neuroptera: Chrysopidae). **Ciência Rural**, Santa Maria, v.35, n.4, p.756-762, 2005.

FREE, J.B. **Insect Pollination of Crops**. London: Academic Press, 1993. 684 p.

GARCIA, F. R. M.; CAMPOS, J. V.; CORSEIUL, E. Flutuação populacional de *Anastrepha fraterculus* (Wiedemann, 1830) (Diptera, Tephritidae) na região oeste de Santa Catarina, Brasil. **Revista Brasileira de Entomologia**, São Paulo, v. 47, n. 3, p. 415-420, 2003.

GATTELLI, T. et al. Moscas frugívoras associadas a mirtáceas e laranjeira “Céu” na região do Vale do Rio Caí, Rio Grande do Sul, Brasil. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 38, n. 1, p. 236-239, 2008.

GODFREY, C.R.A. **Agrochemical from Natural Products**, New York: Marcel Dekker, 1994.

GODOY, K.B. **Parasitismo em ovos de *Euschistus heros* (Fabr.) e *Piezodorus guildinii* (West.) (Hem.: Pentatomidae) na cultura da soja e seletividade de inseticidas a *Trissolcus basalís* (Woll.) (Hym.: Scelionidae) em laboratório**. 2003. 95f. Tese (Doutorado– Entomologia Agrícola) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual de São Paulo, Jaboticabal, 2003.

GONÇALVES, P.A.S.; DEBARBA, J.F.; KESKE, C. Incidência da mosca-das-frutas, *Anastrepha fraterculus* (Diptera: Tephritidae), em cultivares de ameixa conduzidas sob sistema orgânico. **Revista de Ciências Agroveterinárias**, Lages, v.4, n. 2, p. 101-108, 2005.

GONZÁLEZ, J.E.B. Crianza masal de *Anastrepha fraterculus* (Wied.). **Revista Peruana de Entomologia**, Lima, v.14, p.71-76, 1971.

GONZÁLEZ-GÓMEZ, R. et al. Toxicidad y repelencia de *Azadirachta indica* contra *Varroa destructor* (Acari: Varroidae). **Agrociencia**, Montecillo, n. 40, p. 741-751, 2006.

GRAVENA, S.; LARA, F. M. Efeito de alguns inseticidas sobre predadores entomófagos em citrus. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Londrina, v. 5, n. 1, p.39-42, 1976.

GRAHAM-BRYCE, I. J. Chemical methods. In: BURN, A. J.; COAKER, T.H.; JEPSON, P.C. (Eds.). **Integrated pest management**. London: Academic Press, 1987. p.113-159.

GRISWOLD, T.; PARKER, F. D.; HANSON, P. E. The bees (Apidae). In: HANSON, P.E.; GAULD, I.D. (Ed.). **The Hymenoptera of Costa Rica**. Oxford: University Press, 1995. p. 650-691.

GUIMARÃES, N.P. **Apicultura a ciência da longa vida**. Belo Horizonte, MG: Itatiaia, 1989. 155p.

HAMILTON, G.C.; LASHOMB, J.H. Effect of insecticides on two predators of the Colorado potato beetle, *Leptinotarsa decemlineata* (Coleoptera: Chrysomelidae). **Florida Entomologist**, Gainesville, v. 80, p. 10-23, 1997.

HASSAN, S.A. et al. Standard methods to test the side-effects of pesticides on natural enemies of insects and mites developed by the IOBC/WPRS working group "Pesticides and Beneficial Organisms". **EPPO Bulletin**, Oxford, v. 15, p. 214-255, 1985.

HASSAN, S.A. et al. Results of the third joint pesticide testing programme by the IOBC/WPRS – Working Group "Pesticides and Beneficial Organisms". **Journal of Applied Entomology**, Hamburg, v. 103, p. 92-107, 1987.

HASSAN, S.A. Guidelines for testing the effects of pesticides on beneficial organisms: description of test methods. **IOBC/WPRS Bulletin**, Montfavet, v.15, n.3, p.18-39, 1992.

HASSAN, S.A. Comparison of three different laboratory methods and one semi-field test method to assess the side effects of pesticides on *Trichogramma cacoeciae*. **IOBC/WPRS Bulletin**, Montfavet , v. 17, p. 133–141, 1994.

HASSAN, S.A. Métodos padronizados para testes de seletividade com ênfase em *Trichogramma*. In: PARRA, J.R.P.; ZUCCHI, R.A. (Ed.). **Trichogramma e o controle biológico aplicado**. Piracicaba: Fealq, 1997. p.207-233.

HEIDARI, M.; COPLAND, M.J.W. Host finding by *Cryptolaemus montrouzieri* (Col., Coccinellidae) a predator of mealybugs (Hom., Pseudococcidae). **Entomophaga**, Paris, v.37, n.4, p.621-625, 1992.

HIGES, M. et al. Utilización de la rotenona en el control de la varroosis de *Apis mellifera*. In: CONGRESO DE LA SOCIEDAD ESPAÑOLA DE AGRICULTURA ECOLÓGICA, 3., 1998, Valência. **Actas...** Valência: SEAE, 1998. p. 527-532.

HODECK, I. **Biology of Coccinellidae**. Praga: Academic of Sciences, 1973. 260p.

HOSKINS, W.M.; GORDON, H.T. Arthropod resistance to chemicals. **Annual Review of Entomology**, Stanford, v. 1, 1956, p. 89-122.

HUMERES, E.; CRUZ, I.B.M.; OLIVEIRA, A.K. Age and time exposure-related toxicity of fenthion to male and female *Anastrepha fraterculus* (Wied.) (Diptera: Tephritidae). **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Londrina, v. 28, n. 2, p. 285-292, 1999.

HUNT, G.; EDWARDS, R.; FOSTER, R.E. **Protecting honey bees from pesticides**. Beekeeping, E-53-W : Purdue University Cooperative Extension Service, 2003. 8 p.

IANNACONE, J.; LAMAS, G. Efectos toxicologicos del nim, rotenona y cartap sobre tres microavispa parasitoides de plagas agrícolas en el Perú. **Boletín Sanidad Vegetal Plagas**, Madrid, v. 29, p. 123-142, 2003.

IBAMA. **Portaria normativa n.º 84 de 15 de outubro de 1996**. Disponível em: <http://www.ibama.gov.br/cnia/index.php?id_menu=66>. Acesso em: 08 set. 2008.

INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR BIOLOGICAL CONTROL (IOBC). West Palaearctic Regional Section. Working Group "Pesticides and Beneficial Organisms" **[Informações]**. Disponível em: <<http://www.iobc-wprs.org/>>. Acesso em: 04 mar. 2008.

IPERTI, G. Biodiversity of predaceous Coccinellidae in relation to bioindication and economic importance. **Agriculture Ecosystems and Environments**, Amsterdam, v.74, n.1/3, p. 323-342, 1999.

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

JACAS, J. A.; VIÑUELA, E. Analysis of a Laboratory method to test the effects of pesticides on adults females of *Opius concolor* (Hym., Braconidae), a parasitoid of olive fruit fly, *Bactrocera olea* (Dip., Tephritidae). **Biocontrol Science and Technology**, Oxford, n. 4, p. 147-154, 1994.

JALDO, H.E.; GRAMAJO, M.C.; WILLINK, E. Mass rearing of *Anastrepha fraterculus* (Diptera: Tephritidae) a preliminary strategy. **Florida Entomologist**, Gainesville, v. 84, p. 716–718, 2001.

JANZEN, D.H. **Ecologia Vegetal dos Trópicos**. São Paulo: EDUSP, 1980. 79 p. (Coleções Temáticas de Biologia, 7).

KATHRINA, G.A.; ANTONIO, L.O.J. Controle biológico de insectos mediante extractos botánicos. In: CARBALL, M.; GUAHARAY, F. (Ed.). **Control biológico de plagas agrícolas**. Managua: CATIE, 2004. p. 137-160. (Serie Técnica. Manual Técnico/CATIE, 53).

KENMORE, P.; KRELL, R. Global perspectives on pollination in agriculture and agroecosystem management. In: INTERNATIONAL WORKSHOP ON CONSERVATION AND SUSTAINABLE USE OF POLLINATORS IN AGRICULTURE: WITH EMPHASIS ON BEES, São Paulo, 1998. **Annals...** São Paulo, 1998.

KESKE, C. **Controle fitossanitário e qualidade de frutos em ameixeira e pessegueiro sob sistema orgânico no Alto Vale do Itajaí, SC**. 2004. 102 f. Dissertação (Mestrado - Agroecossistemas) – Pós-Graduação em Agroecossistemas, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2004

KIM, D. H. et al. Effects of wood vinegar mixed with insecticides on the mortalities of *Nilaparvata lugens* and *Laodelphax striatellus* (Homoptera: Delphacidae). **Animal Cells and Systems**, Seul, v. 12, p. 47-52, 2008.

KOVALESKI, A. **Processos adaptativos na colonização da maçã (*Malus domestica* L.) por *Anastrepha fraterculus* (Wied.) (Diptera: Tephritidae) na região de Vacaria, RS**. 1997. 122 f. Tese (Doutorado - Ciências) - Universidade de São Paulo, São Paulo, 1997.

KOVALESKI, A.; RIBEIRO, L.G. Manejo de pragas na produção integrada de maçãs. In: PROTAS, J.F.S.; SANHUEZA, R.M.V. **Produção integrada de frutas: o caso da maçã no Brasil**. Bento Gonçalves: Embrapa Uva e Vinho, 2003. p. 61-76. (EMBRAPA: Circular Técnica, 34).

KOVALESKI, A.; SUGAYAMA, R.L.; MALAVASI, A. Movement of *Anastrepha fraterculus* from native breeding sites into apple orchards in Southern Brazil. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, Dordrecht, v.91, p.457–463, 1999.

KOVALESKI, A. et al. Rio Grande do Sul. In: MALAVASI, A. ; ZUCCHI, R. A. **Moscas-das-frutas de importância econômica no Brasil conhecimento básico e aplicado**. Ribeirão Preto: Holos, 2000. p.285-290.

KREMEN, C.; WILLIAMS, N. M.; THORP, R. W. Crop pollination from native bees at risk from agricultural intensification. **Proceedings of the National Academy of Sciences USA**, Washington, v. 99, n. 26, p. 16812–16816, 2002.

LERNOUD, A.P.; PIOVANO, M. Latin America: Country reports. In: WILLER, H.; YUSSEFI, M. (ed.). **The world organic agriculture: statistics and emerging trends – 2007**. Bonn: IFOAM, 2007. p.164-173.

LIU, P. **World markets for organic citrus and citrus juices: current market situation and medium-term prospects**. Roma: FAO, 2003. 26p.

LOWERY, D. T.; ISMAN, M. B.; BRARD, N. L. Laboratory and field evaluation of neem for the control of aphids (Homoptera: Aphididae). **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v. 86, p. 864-870, 1993.

MAGANO, D.A. et al. Sustentabilidade das unidades de produção dos produtores de produtos orgânicos do sul do Rio Grande do Sul. In: ENCONTRO DE PÓS-GRADUAÇÃO, 5.; CONGRESSO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA, 12., 2003, Pelotas. **Anais...** Pelotas: UFPel, 2003. 1 CD-ROM.

MALAVASI, A. Áreas-livres ou de baixa prevalência. In: MALAVASI, A.; ZUCCHI, R.A. (Ed.). **Moscas-das-frutas de importância econômica no Brasil: conhecimento básico e aplicado**. Ribeirão Preto: Holos, 2000. p.175-181.

MALAVASI, A.; NASCIMENTO, A. S.; CARVALHO, R. da S. Moscas-das-frutas no MIP-citros. In: SEMINÁRIO INTERNACIONAL DE CITROS, MANEJO INTEGRADO DE PRAGAS, 3., Bebedouro, 1994. **Anais...** Campinas: Fundação Cargill, 1994. p.211-231.

MALAVASI, A.; ZUCCHI, R.A.; SUGAYAMA, R.L. Biogeografia. In: MALAVASI, A.; ZUCCHI, R.A. **Moscas-das-frutas de importância econômica no Brasil: conhecimento básico e aplicado**. Ribeirão Preto: Holos, 2000. p.93-98.

MANI, M.; LAKSHIMI, V.J.; KRISHNAMOORTHY, A. Side effects of some pesticides on the adult longevity, progeny production and prey consumption of *Cryptolaemus montrouzieri* Mulsant (Coccinellidae, Coleoptera). **Indian Journal of Plant Protection**, Hyderabad, v.25, n.1, p.48-51, 1997.

MANI, M.; THONTADARYA, T.S. Field evaluation of *Cryptolaemus montrouzieri* Muls. in the suppression of grape mealybug, *Maconellicoccus hirsutus* (Green.) **Journal of Biological Control**, Kerala, n.2, p.14-16, 1988.

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

MARTINS, J.C. **Aspectos biológicos de *Anastrepha fraterculus* (Wied.; 1830) (Diptera: Tephritidae) em dieta artificial sob diferentes condições de temperatura e fotoperíodo**. 1986, 80 f. Dissertação (Mestrado - Agronomia) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiróz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1986.

MATTHEWS, G.A. Techniques to evaluate insecticide efficacy. In: DENT, D. R.; WALTON, M.P. (Eds.). **Methods in Ecological and Agricultural Entomology**, Oxfordshire: CAB International, 1997. p. 243–269.

McGREGOR, S. E. **Insect pollination of cultivated crop plants**. Washington: United States Department of Agriculture, 1976. 411 p.

MEDINA, M. P. et al. Compatibility of spinosad, tebufenozide and azadirachtin with eggs and pupae of the predator *Chrysoperla carnea* (Stephens) under laboratory conditions. **Biocontrol Science and Technology**, Oxford, v. 11, p. 597-610, 2001.

MELATHOPOULOS, A.P. et al. Comparative laboratory toxicity of neem pesticides to honey bees (Hymenoptera: Apidae), their mite parasites *Varroa jacobsoni* (Acari: Varroidae) and *Acarapis woodi* (Acari: Tarsonemidae), and brood

pathogens *Paenibacillus larvae* and *Ascosphaera apis*. **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v. 93, p. 199– 209, 2000.

MIYASAKA, S. et al. Controle alternativo de pragas: fumaça e carvão como valiosas armas para a agricultura orgânica. **Boletim Agro-Ecológico**, Botucatu, v.3, n.14, p.17, 1999.

MIYASAKA, S. et al. Técnicas de produção e uso do Fino de Carvão e Licor Pirolenhoso. In: ENCONTRO DE PROCESSOS DE PROTEÇÃO DE PLANTAS, 2001, Botucatu. **Resumos...: Controle ecológico de pragas e doenças**. Botucatu, 2001. p.161-176.

MORAES, L.A.H. de; PORTO, O.M. de; BRAUN, J. **Pragas de citros**. Porto Alegre: Fepagro, 1995. 33p. (Boletim técnico, 2).

MORANDI FILHO, W. J. et al. Ação de produtos naturais sobre a sobrevivência de *Argyrotaenia sphaleropa* (MEYRICK) (LEP: Tortricidae) e seletividade de inseticidas utilizados na produção orgânica de videira sobre *Trichogramma pretiosum* (RILEY) (HYM: Trichogrammatidae). **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 36, n. 4, 2006.

MORDUE (LUNTZ), A.J.; NISBET, A.J. Azadirachtin from the neem tree *Azadirachta indica*: its actions against insects. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Jaboticabal, v.29, n.4, p. 615-632, 2000.

MORETTO, G. et al. The effects of climate and bee race on *Varroa jacobsoni* Oud. infestations in Brazil. **Apidologie**, Versailles, v. 22, p. 197-203, 1991.

MORGADO, L. N. et al. Fauna de Abelhas (Hymenoptera: Apoidea) nas flores de girassol *Helianthus annuus* L., em Lavras - MG. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 26, n. 6, p. 1167-1177, 2002.

MORSE, J.G.; BELLOWS, T.S.J. Toxicity of major citrus pesticides to *Aphytis melinus* (Hymenoptera: Aphelinidae) and *Cryptolaemus montrouzieri* (Coleoptera: Coccinellidae). **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v.79. p.311-314, 1986.

MORSE, J.G. et al. Residual toxicity of acaricides to three beneficial species on California citrus. **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v.80, p.953-960, 1987.

MOTA, M.O.S.; NOGUEIRA-SOUTO, R.H. Polinização entomófila em pessegueiro (*Prunus persica* L.) **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, São Paulo, v. 39, n. 1/6, p. 124-128, 2002.

MOURA, A.P. **Efeitos de produtos fitossanitários utilizados na produção integrada de maçã sobre *Chrysoperla externa* (Hagen, 1861) (Neuroptera: Chrysopidae)**. 2007. 109 f. Tese (Doutorado - Agronomia - Entomologia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2007.

NARDO, E.A.B. et al. **Perspectivas do controle biológico da praga quarentenária cochonilha rosada no Brasil (*Maconellicoccus hirsutus***

(Green) (Hemiptera: Pseudococcidae). Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 1999. 38p. (Embrapa Meio Ambiente. Documentos, 2.)

NASCIMENTO, A.S.; CARVALHO, R. S. Manejo integrado de moscas-das-frutas. In: MALAVASI, A.; ZUCCHI, R.A. (Ed.). **Moscas-das-frutas de importância econômica no Brasil: conhecimento básico e aplicado.** Ribeirão Preto: Holos, 2000. p. 169-173.

NAUMANN, K.; ISMAN, M.B. Toxicity of neem (*Azadirachta indica* A. Juss) seed extracts to larval honeybees and estimation of dangers from field applications. **American Bee Journal**, Hamilton, v. 136, p. 518–520, 1996.

NIGG, H. N. et al. Test protocols and toxicity of organophosphate insecticides to Caribbean fruit fly (Diptera: Tephritidae). **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v. 87, p. 589-595, 1994.

NONDILO, A. et al. Efeito de inseticidas neonicotinóides sobre a mosca-das-frutas sul americana *Anastrepha fraterculus* (Wiedemann) (Diptera: Tephritidae) na cultura da videira. **Bioassay**, Piracicaba, v. 2, n. 9, p. 1-9, 2007.

ORGANIZATION FOR ECONOMIC CO-OPERATION AND DEVELOPMENT. **Guideline 214:** Honeybees, acute contact toxicity test.- OECD Guidelines for the testing of chemicals, 1998a- Disponível em:<www.oecd.org>. Acesso em: 18 junho 2006.

ORGANIZATION FOR ECONOMIC CO-OPERATION AND DEVELOPMENT. **Guideline 213:** Honeybees, acute oral toxicity test.- OECD Guidelines for the testing of chemicals, 1998b- Disponível em:<www.oecd.org>. Acesso em: 18 junho 2006.

ORGANIZATION EUROPEENNE ET MEDITERRANEENNE POUR LAPROTECTION DES PLANTES. Guideline for the efficacy evaluation of plant protection products – Sideeffects on honeybees. **Bulletin OEPP/EPPO**, Paris, v. 22, p. 203–216, 1992.

ORGANISATION EUROPEENNE ET MEDITERRANEENNE POUR LAPROTECTION DES PLANTES, Decision making scheme for the environmental risk assessment of plant protection products. **Bulletin OEPP/EPPO**, Paris, v. 23, p. 151–165, 1993.

ORGANISATION EUROPEENNE ET MEDITERRANEENNE POUR LAPROTECTION DES PLANTES. Guidelines for the efficacy evaluation of plant protection products: side effects on honeybees. In: BELZUNCES L.P.; PÉLISSIER C.; LEWIS G.B. (Eds.) **Hazards of pesticides to bees.** Paris: INRA, 2001a. p. 279–286.

ORGANISATION EUROPEENNE ET MEDITERRANEENNE POUR LAPROTECTION DES PLANTES. Decision-making scheme for the environmental risk assessment of plant protection products. In: BELZUNCES L.P.; PÉLISSIER C.; LEWIS, G.B. (Eds.) **Hazards of pesticides to bees**, Paris: INRA, 2001b. p. 287–295.

OLKOWSKI, W.; SHANG, A.; THIERS, P. Improved biocontrol techniques with lady beetles. **IPM-Practitioner**, Berkeley, v.12, n.10, p.1-12, 1990.

PANSIERA, V.C. et al. Efeito do ácido pirolenhoso de *Eucalyptus grandis* sobre a oviposição de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) e *Tuta absoluta* (Meyrick). In: SIMPÓSIO DE CONTROLE BIOLÓGICO, 8., 2003, São Pedro, SP. **Resumos...** São Pedro, SP, 2003. p.168.

PAULINO, F.D.G. **Polinização entomófila em cajueiro (*Anacardium occidentale* L.) no litoral de Pacajus-CE**. 1992. 70 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiróz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1992.

PENTEADO, S.R. **Controle alternativo de pragas e doenças com as caldas bordalesa, sulfocálcica e Viçosa**. Campinas: Buena Mendes, 2000. 95p.

PETELINCAR, I.M. et al. Metodologia para criação massal de "Mosca das frutas" do gênero *Anastrepha* com dieta artificial. **O Biológico**, São Paulo, v.51, p.209-214, 1985.

POLITO, W.L. Os fertiprotetores (calda sulfocálcica, calda bordalesa, calda Viçosa e outros) no contexto da trofobiose. In: HEIN, M. (org). **Resumos do Encontro de Processos de Proteção de Plantas: controle ecológico de pragas e doenças**. Botucatu: Agroecológica, 2001. p. 75-89.

PROKOPY, R.J.; POWERS, P.J. Influence of neem seed extract on oviposition and mortality of *Conotrachelus nenuphar* (Coleoptera: Curculionidae) and *Rhagoletis pomonella* (Diptera: Tephritidae) adults. **Journal of Applied Entomology**, Berlin, v.119, p. 63-65, 1995.

RAVEN, P.H.; EVERT, R.F.; EICHHORN, S.E. **Biologia Vegetal**. 6. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2001.

REDDY, K. B.; SEETHARAMA, H. G. Integrated management of mealybugs in Coffee. **Indian Coffee**, Bangalore, n.3, p.26-28, 1997.

REIS, P. R.; CHIAVEGATO, L. G.; MORAES, G. J.; ALVES E. B.; SOUZA, E. O. Seletividade de agroquímicos ao ácaro predador *Iphiseiodes zuluagai* Denmark & Muma (Acari: Phytoseiidae). **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Londrina, v. 27, n. 2, p. 265-274, 1998.

REMBOLD, H. Azadirachtins, their structure and mode of action. In: ARNASON, J.T.; PHILOGENE, B.J.R.; MORAND, P. (Ed.) **Insecticides of plant origin**. Washington: ACS, 1989. p.150-163.

RIBEIRO, A.M.F. **Polinização e uso de atrativos e repelentes para *Apis mellifera* (L.) em acerola (*Malpighia emarginata* D. C.), girassol (*Helianthus annuus* L.), maracujá (*Passiflora edulis* Sim) e soja (*Glycine max* Merrill)**. 2000. 63f. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2000.

RIBEIRO, L.G. Manejo de pragas da macieira nos sistemas de produção integrada e orgânica. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENTOMOLOGIA, 20., 2004, Gramado. **Resumos...** Gramado, 2004. p. 105.

RIBEIRO, L.G.; KOVALESKI, A.; HUMERES, E. Distribuição de mosca-das-frutas *Anastrepha fraterculus* em pomares de macieira. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENTOMOLOGIA, 15., 1995, Caxambu. **Resumos...** Lavras, 1995. p.116.

RIGITANO, R.L.O.; CARVALHO, G. A. **Toxicologia e seletividade de inseticidas**. Lavras: UFLA.FAEPE, 2001. 72p.

RIPPER, W.E.; GREENSLADE, R.M.; HARTLEY, G.S. Selective insecticides and biological control. **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v.44, n.4, p.448-458, 1951.

ROBERTSON, J. L.; PREISLER, K.; RUSSELL, R.; SAVIN, N. E. **Bioassays with Arthropods**. New York: CRC :Taylor & Francis, 2007. 199 p.

ROBERTSON, J. L.; WORNER, S. P. Population toxicology: suggestions for laboratory bioassays to predict pesticide efficacy. **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v. 83, p. 8-12, 1990.

ROCHA, L.C.D. **Seletividade fisiológica de inseticidas utilizados em cultura cafeeira sobre os predadores *Chrysoperla externa* (Hagen, 1861) (Neuroptera: Chrysopidae) e *Cryptolaemus montrouzieri* Mulsant, 1853 (Coleoptera: Coccinellidae)** 2008. 133 f. Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2008.

ROCHA, L.C.D.; CARVALHO, G.A.; MOURA, A.P.; TORRES, F.Z.V. Toxicidade de produtos fitossanitários para adultos de *Orius insidiosus* (Say) (Hemiptera: Anthocoridae). **Bragantia**, Campinas, v.65, n.2, p.309-315, 2006.

ROSSINI, A. et al. Efeito do óleo de neem (*Azadirachta indica*) sobre adultos de *Cryptolaemus montrouzieri* Mulsant (Coleoptera: Coccinellidae). In: SIMPÓSIO DE CONTROLE BIOLÓGICO, 8., 2003, São Pedro, SP. **Resumos...** São Pedro, SP, 2003. p. 170.

ROUBIK, D. W. Pollination of cultivated plants in the tropics. **FAO Agricultural Services Bulletin**, [Rome], n. 118, 1995.

RUPP, L.C.D. **Percepção dos agricultores orgânicos em relação à *Anastrepha fraterculus* (Wied.) (Diptera: Tephritidae) e efeito de preparados homeopáticos no controle da espécie em pomares de pessegueiro**. 2005. 89 f. Dissertação (Mestrado - Produção Vegetal) - Pós-Graduação em Produção Vegetal, Universidade do Estado de Santa Catarina, Lages, 2005.

SAHOTA, A., Overview of the Global Market for Organic Food and Drink. In: WILLER, H.; YUSSEFI, M. (ed.). **The world organic agriculture: statistics and emerging trends – 2007**. Bonn: IFOAM, 2007. p. 52-55.

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

SALLES, L.A.B. Efeito da temperatura constante na oviposição e no ciclo de vida de vida de *Anastrepha fraterculus* (Wied., 1830) (Diptera: Tephritidae). **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Londrina, v. 22, n. 1, p. 57-62, 1993.

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

SALLES, L.A.B. Behaviour of *Anastrepha fraterculus*. In: THE SOUTH American fruit fly, *Anastrepha fraterculus* (Wied.): advances in artificial rearing, taxonomic status and biological studies. International Atomic Energy Agency, IAEA Tech-Doc 1064, Vienna, Austria. 1999. p. 133-137.

SALLES, L. A. B.; KOVALESKI, A. Moscas-das-frutas em macieira e pessegueiro no Rio Grande do Sul. **Horti Sul**, Pelotas, v. 1, n. 3, p. 5-9, 1990.

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

SAMSØE-PETERSEN, L., Sequences of standard methods to test effects of chemicals on terrestrial arthropods. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, Nova Iorque, v. 19, p. 310–319, 1990.

SANCHES, N. F.; SILVA, E. S.; CARVALHO, R. S. Biological aspects of exotic predator *Cryptolaemus montrouzieri* (Coleoptera: Coccinellidae), reared on *Planococcus citri* in laboratory. In: INTERNATIONAL CONGRESS OF ENTOMOLOGY, 21., 2000, Foz do Iguaçu. **Abstracts...**, Londrina: Embrapa Soja, 2000. p. 415.

SATTLER, A.; MUXFELD, G.O.B.; TAPIA, C.E. Manutenção e estímulo de abelhas *Apis mellifera* sob diferentes tipos de alimentação. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE APICULTURA, 8., 1990, Campos do Jordão. **Resumos...** São Paulo: CBA, 1990. p. 21.

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

SCHMUTTERER, H. Side-effects of neem (*Azadirachta indica*) products on insect pathogens and natural enemies of spider mites and insects. **Journal of Applied Entomology**, Berlim, v. 121, p. 121-128, 1997.

SCHMUTTERER, H.; SINGH, R. P. List of insect pests susceptible to neem products. In: SCHMUTTERER, H. (ed.) **The neem tree *Azadirachta indica* A. Juss. and other meliaceae plants**. Germany: VCH Publications, 2002. p. 411–456.

SCHNEIDER, M. I. et al. Topic toxicity of tebufenozide, spinosad and azadirachtin on pupae of the parasitoid *Hyposoter didymator*. **Boletín Sanidad Vegetal Plagas**, Madri, v. 26, p. 1-9, 2000.

SCOZ, P. L.; BOTTON, M.; GARCIA, M. S. Controle químico de *Anastrepha fraterculus* Wied (Diptera: Tephritidae) em laboratório. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 34, n. 6, p. 1689-1694, 2004.

SEQUEIRA, R.; MILLAR, L.; BARTELS, D. **Identification of susceptible areas for the establishment of *Anastrepha* spp. fruit flies in the United States and analysis of selected pathways**. [Washington]: USDA, 2001. 28p.

SILVA, F. A. da; MARTINEZ, S. S.; CARVALHO, S.M. Efeito do óleo de sementes de nim, *Azadirachta indica*, na sobrevivência e desenvolvimento do predador *Cycloneda sanguinea* (L.) (Coleoptera: Coccinellidae). **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 33, n. 6, p. 751-757, 2004.

SILVA, F.F. da. **Espécies de moscas frugívoras (Diptera: Tephritidae e Lonchaeidae), quantificação de danos e avaliação de medidas para o seu manejo em pomares orgânicos de citros**. 2005. 152 f. Tese (Doutorado - Fitossanidade) – Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2005.

SILVA, F.F. da et al. Diversity of flies (Diptera: Tephritidae and Lonchaeidae) in organic citrus orchards in the Vale do Rio Caí, Rio Grande do Sul, Southern Brazil **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 35, n. 5, p. 666-670, 2006.

SILVA, J.R. et al. **Cochonilha *Maconellicoccus hirsutus* (Green), praga polífaga de hortaliças, fruteiras, ornamentais e essências florestais**. Brasília: Ministério da Agricultura e do Abastecimento. Departamento de Defesa e Inspeção Vegetal, 1997. 20p.

SILVA, L.A.B. **Análise de agroecossistemas em uma perspectiva de sustentabilidade: um estudo de sistemas de cultivo de pêsego na região da Encosta Superior do Nordeste do Rio Grande do Sul**. 1998. 93 f. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 1998.

SIMMONDS, M.S.J. et al. Effect of botanical insecticides on the foraging and feeding behavior of the coccinellid predator *Cryptolaemus montrouzieri*. **Phytoparasitica**, Bet Dagan, v. 28, n. 2, p. 99-107, 2000.

SIMÓN, J.E. et al. Contribución al desarrollo de técnicas de cría masal de las moscas de la fruta, *Ceratitidis capitata* Wied. y *Anastrepha fraterculus* (Wied.). **Investigación Agropecuária**, [S.I.], v.2, p.8-18, 1971.

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

SMITH, S.F.; KRISCHIK, V.A. Effects of biorational pesticides on four coccinellid species (Coleoptera: Coccinellidae) having potential as biological control agents in interiorscapes. **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v. 93, n.3, p. 732-736, 2000.

SOUZA-SILVA, A. et al. Avaliação do efeito do extrato pirolenhoso sobre *Atta sexdens rubropilosa* Forel, 1908 (Hymenoptera: Formicidae). In: SIMPOSIO DE CONTROLE BIOLÓGICO, 8., 2003b, São Pedro, SP. **Resumos...** Piracicaba, 2003. p. 171.

SPOLEN, K.M.; ISMAN, M. B. Acute and sublethal effects of a neem insecticide on the commercial biocontrol agents *Phytoseiulus persimilis* and *Amblyseius cucumeris* (Acari: Phytoseiidae), and *Aphidoletes aphidimyza* (Rondani) (Diptera: Cecidomyiidae). **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v. 89, p. 1379-1386, 1996.

STARK, J.D.; VARGAS, R.I.; THALMAN, R.K.. Azadirachtin effects on metamorphosis, longevity and reproduction of the three tephritid fruit fly species (Diptera). **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v. 83, n. 6, p. 2168-2174, 1990.

STARK, J.D.; JEPSON, P.C.; MAYER, D.F. Limitations to use of topical toxicity data for predictions of pesticide side effects in the field. **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v.88, n.5, p. 1081-1088, 1995.

STONE, R. A biopesticidal tree begins to blossom. **Science**, Washington, n. 255, 1992. p. 1070.

TAMBASCO, F.J. et al. Cochonilha rosada, *Maconellicoccus hirsutus* (Green): uma praga de importância quarentenária já se encontra na Guiana Inglesa. **Floresta**, Curitiba, v. 30, n. 1/2, p. 85-93, 2000.

TEDESCHI, R.; ALMA, A.; TAVELLA, L. Side-effects of three neem (*Azadirachta indica* A. Juss) products on the predator *Macrolophus caliginosus* Wagner (Het., Miridae). **Journal of Applied Entomology**, Berlim, v. 125, n. 7, p. 397-402, 2001.

THACKER, J.M.R. **An introduction to arthropod pest control**. Cambridge, UK: Cambridge University Press, 2002. 343 p.

THOMPSON, H. M. Behavioural effects os pesticides in bees – their potencial for use in risk assessment. **Ecotoxicology**, Dordrecht, v. 12, n. 1/4, p. 317-330, 2003.

TSUZUKI, E. et al. Effect of chemical compounds in pyroligneous acid on root growth in rice plant. **Japan Journal Crop Science**, Tóquio, v. 66, n.4, p.15-16, 2000.

ULRICHS, C.H.; MEWIS, I.; SCHNITZLER, W. H. Efficacy of neem and diatomaceous earth against cowpea aphids and their deleterious effect on predating Coccinellidae. **Journal of Applied Entomology**, Berlim, v. 125, n. 9-10, p. 571-575, 2001.

US EPA. Ecological effects test guidelines OPPTS 850.3020. Honey bee acute contact toxicity test. EPA, 712-C-96-147. Washington, 1996a.

US EPA. Ecological effects test guidelines OPPTS 850.3040. Field testing for pollinators. EPA, 712-C-96-150. Washington, 1996b.

VAN RANDEN, E.J.; ROITBERG, B.D. Effect of a neem (*Azadirachta indica*)-based insecticide on oviposition deterrence, survival, behavior, and reproduction of adult western cherry fruit fly (Diptera: Tephritidae). **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v.91, n.1, p.123-131, 1998.

VENDRAMIN, J.D.; SCAMPINI, P.J. Efeito do extrato aquoso de *Melia azedarach* sobre o desenvolvimento de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) em dois genótipos de milho. **Revista de Agricultura**, Piracicaba, v.72, n.2, p.159-170, 1997

VENZON, M. et al. Potencial de defensivos alternativos para o controle do ácaro-branco em pimenta "Malagueta" **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 24, n. 2, 2006.

VERA, T. et al. Demographic and quality control parameters of *Anastrepha fraterculus* (Diptera: Tephritidae) maintained under artificial rearing. **Florida Entomologist**, Gainesville, v. 90, n.1, p. 53-57, 2007.

VIEGAS JR., C. Produtos naturais como alternativas no controle químico de insetos. **Química Nova**, São Paulo, v. 26, n. 3, p. 390-400, 2003.

VIÑUELA, E.; HÄNDEL, U.; VOGT, H. Field evaluation of the side-effects of two botanically-derived pesticides: a natural pyrethrum and a neem extract on *Chrysoperla carnea*. **Boletín Sanidad Vegetal Plagas**, Madri, v. 22, p. 97-106, 1996.

VIÑUELA, E. et al. Comparison of side-effects of spinosad, tebufenozide and azadirachtin on predators *Chrysoperla carnea* and *Podisus maculiventris* and the parasitoids *Opius concolor* and *Hyposoter didymator* under laboratory conditions. **IOBC/WPRS Bulletin**, Montfavet, v. 24, n. 4, p. 25-34, 2001.

VOGT, H. et al. Side-effects of azadirachtin, via residual contact, in young larvae of predator *Chrysoperla carnea* (Stephens) (Neuroptera, Chrysopidae). **Boletín Sanidad Vegetal Plagas**, Madri, v. 24, p. 67-78, 1998.

VOLPE, H.X.L. et al. Repelência de Inseticidas para *Trichogramma exiguum* Pinto & Platner (Hymenoptera: Trichogrammatidae). **O Biológico**, São Paulo, v.68, n.2, 2006. Suplemento. Disponível em: <http://www.biologico.sp.gov.br/biologico/v.68_supl_raib/206.pdf>. Acesso em: 22 jul. 2008.

WIESE, H. **Nova Apicultura**. 6 ed. Porto Alegre: Agropecuária, 1985. 491 p.

WILLER, H.; YUSSEFI, M. (ed.). **The world organic agriculture: statistics and emerging trends – 2007-** Bonn: IFOAM, 2007. 251 p.

YUSSEFI, M. Development and state of organic agriculture worldwide. In: WILLER, H.; YUSSEFI, M. (ed.). **The world organic agriculture: statistics and emerging trends – 2004**. Bonn: IFOAM, 2004. p.13-20.

ZUCCHI, R.A. Taxonomia. In: MALAVASI, A; ZUCCHI, R.A. **Moscas-das-frutas de importância econômica no Brasil: conhecimento básico e aplicado**. Ribeirão Preto: Holos, 2000^a. p. 13-24.

ZUCCHI, R.A. Espécies de *Anastrepha*, sinónimas, plantas hospedeiras e parasitóides. In: MALAVASI, A; ZUCCHI, R.A. **Moscas-das-frutas de importância econômica no Brasil: conhecimento básico e aplicado**. Ribeirão Preto: Holos, 2000^b. p. 41-48.