

**DAIANE CELESTINO**

**ECOLOGIA REPRODUTIVA MEDIADA POR AZADIRACTINA NO  
PERCEVEJO PREDATOR *Blaptostethus pallescens***

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Entomologia, para obtenção do título de Magister Scientiae.

VIÇOSA  
MINAS GERAIS - BRASIL  
2014

**Ficha catalográfica preparada pela Biblioteca Central da Universidade  
Federal de Viçosa - Câmpus Viçosa**

T

C392e  
2014  
Celestino, Daiane, 1989-  
Ecologia reprodutiva mediada por azadiractina no percevejo  
predador *Blaptostethus pallelescens* / Daiane Celestino. – Viçosa,  
MG, 2014.  
ix, 19f. : il. (algumas color.) ; 29 cm.

Orientador: Raul Narciso Carvalho Guedes.  
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa.  
Inclui bibliografia.

1. Pragas - Controle. 2. Azadiractina. 3. *Blaptostethus pallelescens*. 4. Ecologia reprodutiva. I. Universidade Federal de Viçosa. Departamento de Entomologia. Programa de Pós-graduação em Entomologia. II. Título.

CDD 22. ed. 632.9

**DAIANE CELESTINO**

**ECOLOGIA REPRODUTIVA MEDIADA POR AZADIRACTINA NO  
PERCEVEJO PREDATOR *Blaptostethus pallelescens***

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Entomologia, para obtenção do título de Magister Scientiae.

Aprovada: 17 de fevereiro de 2014

---

**Prof. Lessando Moreira Gontijo**  
(Co-orientador)

---

**Prof. Alberto Soares Corrêa**  
(Co-orientador)

---

**Dr. Mateus Ribeiro de Campos**

---

**Prof. Raul Narciso Carvalho Guedes**  
(Orientador)

A meus pais, Euzanir e Josias, meus exemplos;

A meu irmão Luciano e sua família: Andressa e Stacey;

A toda minha família: avós, tios e primos;

Aos meus velhos amigos de Marilândia e aos eternos amigos de Viçosa;

Dedico.

## AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente aos meus pais Euzanir e Josias que sempre investiram na minha educação abdicando de algumas coisas para que eu pudesse chegar até aqui.

A meu irmão Luciano e sua família Andressa e Stacey por todo apoio.

A Universidade Federal de Viçosa, ao Programa de Pós-Graduação em Entomologia, ao CNPq pela concessão da bolsa.

Ao Professor Raul Narciso Carvalho Guedes, pela oportunidade e pela orientação durante o mestrado. Ao professor Sam pelo primeiro contato com entomologia.

Aos co-orientadores Professor Alberto Soares Corrêa e Lessando Moreira Gontijo, pelos conselhos e pela orientação mesmo a distância.

Aos amigos do Laboratório de Ecotoxicologia: Milaine, Katherine, Vinícius, Alice, Marcos, Gislaine, Laura, Lírio, Kleber, Roberta, Conrado, Nelsa, Juliana, Edmar, Ancidérton, Mateus Campos e Matheus Chediak pela convivência, e principalmente ao Lucas, Rodrigo, Guilherme, Carol e Caique pela grande e essencial contribuição nos experimentos deste e de outro trabalho;

Aos professores do Programa de Pós-graduação em Entomologia;

A todos os meus amigos, aos antigos de Marilândia e os que fiz em Viçosa: Fernanda, Lucas, Rose, Cândida, Naiara, Rafaela, Mariana e todos aos demais amigos da Agronomia e da UFV pelos bons momentos vividos nestes últimos 7 anos;

E a toda minha família, primos, tios e meus avôs pelo apoio.

## **BIOGRAFIA**

Daiane Celestino, filha de Euzanir Santana Celestino e João Josias Celestino, nascida em 5 de fevereiro de 1989, natural de Marilândia, Espírito Santo, Brasil.

Deu início a carreira acadêmica em fevereiro de 2007, ano que ingressou no curso de Agronomia pela Universidade Federal de Viçosa. Foi monitora da disciplina BVE 230 – Organografia e Sistemática das Espermatófitas do Departamento de Biologia Vegetal por um ano. Foi estagiária por três anos e meio e bolsista (FAPEMIG) no Laboratório de Interação Inseto Microrganismo do Departamento de Entomologia sob orientação do Professor Simon Luke Elliot. Formou-se em Agronomia em janeiro de 2012.

Ingressou no Mestrado em Entomologia em fevereiro 2012, também pela Universidade Federal de Viçosa sob a orientação do Professor Raul Narciso Carvalho Guedes, submetendo-se a defesa de tese em fevereiro de 2014.

## ÍNDICE

RESUMO.....	vi
ABSTRACT.....	viii
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	3
2.1. População de <i>Blaptostethus pallescens</i> .....	3
2.2. Inseticidas.....	3
2.3. Bioensaios de sobrevivência.....	3
2.4. Bioensaios comportamentais.....	4
2.5. Bioensaio reprodutivo.....	5
2.6. Modelo de matriz para <i>Blaptostethus pallescens</i> .....	6
2.7. Análises Estatísticas.....	7
3. RESULTADOS.....	7
3.1. Bioensaios de sobrevivência.....	7
3.2. Bioensaios comportamentais.....	9
3.2.1. Caminhamento em arena completamente tratada ou controle.....	9
3.2.2. Caminhamento em arena parcialmente (metade) tratada.....	9
3.3. Bioensaios reprodutivos.....	10
3. DISCUSSÃO.....	12
4. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	14
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	15

## RESUMO

**CELESTINO**, Daiane, M. Sc., Universidade Federal de Viçosa, fevereiro de 2014. **ECOLOGIA REPRODUTIVA MEDIADA POR AZADIRACTINA NO PERCEVEJO PREDADOR *Blaptostethus pallescens***. Orientador: Raul Narciso Carvalho Guedes. Co-orientadores: Lessando Moreira Gontijo e Alberto Soares Corrêa.

O uso de inseticidas ainda é a principal forma para o controle de pragas. Em decorrência da preocupação social quanto à sustentabilidade, novos compostos vêm sendo usados na tentativa de reduzir o impacto ambiental de inseticidas, os chamados bioinseticidas. Estudos têm sido feitos para mensurar a eficiência de inseticidas para o controle de pragas e seus efeitos a organismos não-alvo. No entanto, além da investigação dos efeitos letais destes compostos, é necessário o estudo dos efeitos subletais em inimigos naturais, estes estudos vêm aumentando, mas ainda se concentram em poucas espécies. Os percevejos predadores da família Anthocoridae desempenham importante papel no controle biológico de muitas pragas, como a traça-do-tomateiro *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae), de grande importância econômica. Uma espécie pouco conhecida, mas frequentemente encontrada em campos de tomate, é *Blaptostethus pallescens* Poppius (Hemiptera: Anthocoridae) que, portanto vem sendo exposta aos inseticidas usados para o controle da praga, mas pouco se sabe sobre estes efeitos neste predador. Neste trabalho foram avaliados os efeitos letais de três inseticidas - clorpirifós, deltametrina e azadiractina – ao *B. pallescens* usando suas respectivas doses de campo. Posteriormente, azadiractina foi selecionada para avaliação de efeitos subletais no comportamento e na reprodução. Os inseticidas clorpirifós e deltametrina causaram 100% de mortalidade em até 4 horas, enquanto que os insetos expostos a azadiractina tiveram sobrevivência semelhante ao controle. Com o objetivo de avaliar os efeitos deste inseticida no comportamento de locomoção, insetos foram colocados em arenas tratadas com resíduos de azadiractina e controle para a mensuração de parâmetros do caminhar como número de paradas, tempo parado, distância percorrida e velocidade. Não houve diferença significativa entre os tratamentos. Para avaliação da irritabilidade e repelência foi mensurado o tempo e a proporção de indivíduos, respectivamente, que permaneceram na área contendo resíduos de inseticidas em arenas parcialmente tratadas. Os resultados indicaram que *B. pallescens* não exibiu irritabilidade e repelência mediante a exposição aos resíduos de azadiractina. Posteriormente casais foram submetidos a 4 tratamentos com azadiractina – casal sem

tratamento inseticida (i.e., controle), apenas fêmea tratada, apenas o macho tratado e o casal tratado – onde foram coletados dados de longevidade das fêmeas, fecundidade diária, fertilidade e a razão sexual da geração  $F_1$ . Estes resultados foram usados em uma projeção matricial que gerou dados como as taxas líquidas reprodutivas, taxas de incremento populacional e tempo de geração para cada tratamento. Os resultados indicaram um maior efeito do inseticida para o casal tratado, seguido por fêmea ou macho tratado e por último o controle. Ainda assim, o inseticida azadiractina se mostrou seguro para o predador *B. pallescens* e, portanto um candidato para ser usado no controle de *T. absoluta* permitindo a compatibilização entre uso deste inseticida sem comprometimento da ação predadora sobre esta espécie praga.

## ABSTRACT

**CELESTINO, Daiane, M. Sc.,** Universidade Federal de Viçosa, February, 2014. **LETHAL AND SUBLETHAL RESPONSES OF *Blaptostethus pallescens* TO AZADIRACHTIN.** Advisor: Raul Narciso Carvalho Guedes. Co-advisors: Lessando Moreira Gontijo and Alberto Soares Corrêa.

Insecticide use is still the main method of arthropod pest management. Due to the social concern about environmental sustainability, new compounds have been used in an attempt to reduce the environmental impact of insecticides mainly regarding the risks to mammals, environmental persistence, pollution and development of insecticide resistance. Within this scenario new compounds and particularly bioinsecticides have been increasingly used. Several studies have been carried out to measure the efficacy of pest control agents and its effects on non-target organisms. However, beyond the investigation of the lethal effects of these compounds, the study of sublethal effects on natural enemies is also necessary and circumscribed to few species. Pirate bug predators (Heteroptera: Anthocoridae) play an important role as biological control of many insect pests, some which of great economic importance like the tomato leafminer *Tuta absoluta*. *Blaptostethus pallescens* Poppius (Anthocoridae) is a little-known species, but frequently found in tomato fields exposed to insecticides used for pest control, but little is known about those effects in this predator. This study assessed the lethal effects of three insecticides - chlorpyrifos, deltamethrin and azadirachtin - to *B. pallescens* using their field label rates. Azadirachtin was subsequently selected for assessment of its sublethal effects on behavior and reproduction due to its lower acute mortality (< 25%) to predator adults after 48 hours of exposure. The insecticides chlorpyrifos and deltamethrin caused 100 % mortality within 4 hours, whereas the survival of insects exposed to azadirachtin was similar to the untreated control. Thus, further studies were conducted with azadirachtin to investigate its sublethal effects. Aiming to evaluate the effects of this insecticide in behavior, adult predators were placed in arenas treated with and without azadirachtin residues for the measurement of parameters such as number of stops, resting time, distance walked and walking velocity. There were no significant differences between treatments. Irritability and repellence to azadirachtin were assessed by the period and the proportion of individuals respectively remaining in the area containing insecticide residue on partially treated arenas. The results indicated that *B. pallescens* do not exhibit irritability nor repellence to azadirachtin. Subsequently predator

couples were subjected to four treatments with azadirachtin – untreated couple, treated female (and untreated male), treated male (and untreated female), and treated couple - where female longevity data, daily fecundity, fertility and F1 sex ratio were recorded. These data were used in a projection matrix that generated data of net reproductive rate, population growth rate and generation time for each treatment. The results indicated that there was difference between treatments. Thus, azadirachtin seems to be safer for the predator *B. pallescens* and therefore a good candidate for the use in pest management programs against *T. absoluta*.

## 1. INTRODUÇÃO

Entre os anos de 2011 e 2020, a União Europeia através da Regulação Europeia de Pesticidas irá implementar etapas para o uso sustentável de pesticidas, proibindo o uso de compostos que ofereçam riscos inaceitáveis a saúde humana/animal e ambiental, favorecendo dessa forma o crescimento do uso de biopesticidas (Villaverde et al., 2014). Essas medidas vêm sendo tomadas, pois o controle químico ainda é a principal forma para o manejo de pragas (Rosell et al., 2008; Gradish et al., 2011). A especificidade, biodegradabilidade e a não poluição de lençóis freáticos são características desejáveis em um inseticida. O uso de inseticidas seletivos a organismos não alvo, principalmente predadores e parasitóides, também é um dos pontos chave para o sucesso do manejo integrado de pragas (MIP). O uso de inseticidas seletivos também é uma alternativa diante da pressão que vem sendo imposta pela sociedade através da busca por produtos cada vez mais seguros à saúde humana e de baixo impacto ambiental (Charleston et al., 2006; Rosell et al., 2008; Simmons & Abd-Rabou et al., 2011). Além do risco à saúde humana e a poluição ambiental, o uso de inseticidas pode levar ao surgimento de resistência a inseticidas, erupção e ressurgência de pragas, além de potencialmente afetar o controle biológico (Rosell et al., 2008; Campos et al., 2010; Braga et al., 2011; Gradish et al., 2011; Cordeiro et al., 2013; Lima et al., 2013).

O número de trabalhos que avaliam os efeitos tóxicos em inimigos naturais vem crescendo, mas ainda se limita a poucas espécies e prioritariamente a efeitos letais, apesar de efeitos subletais estarem sendo mais avaliados nos últimos anos. Esses efeitos subletais podem comprometer parâmetros fisiológicos, como desenvolvimento, longevidade e fecundidade; e comportamentais, como mobilidade, forrageamento e acasalamento (Al-Deeb et al., 2001; Qi et al. 2001; Desneux et al. 2007; Cordeiro et al., 2010; Arnó & Gabarra, 2011; Campos et al., 2012; Lima et al., 2013; Pereira et al., 2014). Dessa forma, o estudo dos efeitos (letais e subletais) de inseticidas em inimigos naturais é necessário, principalmente para culturas com elevado uso de inseticidas, como o tomate (*Solanum lycopersicum*: Solanaceae) (Guedes & Picanço, 2012; Biondi et al., 2012).

Uma das pragas responsáveis pelo grande número de pulverizações inseticidas é a traça-do-tomateiro *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae). Essa praga é responsável por causar danos diretos, nos frutos, e indiretos já que a larva se alimenta do

mesófilo foliar, podendo ainda causar danos no caule e flores (Desneux et al., 2010). Após sua introdução no país no final dos anos 70, o número de pulverizações por safra praticamente triplicou, aumentando assim o custo de produção dessa cultura. O uso de pesticidas e o controle biológico parecem ser as estratégias de manejo mais eficientes para o controle desta praga (Guedes & Picanço, 2012), no entanto o uso de inseticidas antigos, pertencentes ao grupo dos organofosforados e piretróides, tem afetado o controle biológico devido a sua elevada toxicidade a organismos não-alvo (Zanuncio et al., 1998; Al-Deeb et al., 2001; May et al. 2003; Badji et al., 2004; Angeli et al.; 2005; Campos et al., 2010; Cordeiro et al., 2010; Lima et al., 2013). No entanto, o uso destes inseticidas antigos tem diminuído com o desenvolvimento de inseticidas mais modernos e pela busca de compostos passíveis de uso em agricultura orgânica, usualmente referidos como bioinseticidas ou inseticidas bioracionais (p.e. azadiractina). A estes últimos tem sido atribuídas características como especificidade, segurança a organismos não-alvos e o uso de pequenas quantidades do produto (Rosell et al., 2008).

As características atualmente buscadas em inseticidas modernos, incluindo bioinseticidas, favorecem a existência a campo de predadores generalistas, que são conhecidos por sua capacidade de controlar insetos fitófagos em muitas culturas (Symondson et al., 2002). Este é o caso dos percevejos predadores da família Anthocoridae, que desempenham papel importante no controle de afídeos, ácaros, mosca branca e de mariposas (Desneux et al., 2006; Veire et al., 1996) como a *T. absoluta* (Pereira et al., 2014). Esta praga é controlada por muitas espécies pertencentes a esta família, entre elas a espécie *Blaptostethus pallescens* Poppius que é ainda pouco conhecida, mas encontrada em campos de tomate no Brasil e relatada como predadora da traça-do-tomateiro, dentro outras espécies (Pereira et al., 2014). Contudo, pouco se sabe sobre o efeito letal e subletal de inseticidas a esta espécie, incluindo aí bioinseticidas de uso recomendado em cultivos orgânicos do tomate. Nesse contexto, o objetivo deste trabalho foi determinar a toxicidade de três inseticidas comerciais registrados para o controle de *T. absoluta*, ao percevejo predador *B. pallescens* e selecionar aquele (s) em que seu efeito agudo letal tenha sido pequeno, justificando estudos complementares sobre seus potenciais efeitos subletais no comportamento e reprodução do predador.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1 População de *Blaptostethus pallescens*

A população de *B. pallescens* foi estabelecida a partir de insetos coletados em plantios de tomate nos municípios de Viçosa e Coimbra, sendo mantidos no Laboratório de Manejo Integrado de Pragas do Departamento de Entomologia da Universidade Federal de Viçosa – MG. Os insetos foram criados em grupos de aproximadamente 100 insetos adultos mantidos em potes de vidro (2,5 L) cobertos com organza. Hastes de picão-preto (*Bidens pilosa*) foram usadas como substrato para oviposição. O substrato vegetal era trocado a cada dois dias e as hastes antigas contendo ovos eram transferidas para potes plásticos (250 mL) cobertos com organza. Para os potes que continham ninfas ou adultos foram adicionados ovos de *Anagasta kuehniella* (Zeller) (Lepidoptera: Pyralidae) (Insecta<sup>®</sup>, Lavras, MG) ad libitum, algodão umedecido com água destilada e papel toalha picado. A população foi mantida sob condições controladas de temperatura ( $27 \pm 2^\circ\text{C}$ ), umidade relativa ( $70 \pm 10\%$ ) e fotoperíodo (LD 12:12).

### 2.2 Inseticidas

Três inseticidas em formulações comerciais registradas para a cultura do tomate no Brasil foram utilizados nos experimentos (Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento 2013): o organofosforado clorpirifós (Lorsban CE; 480 g i.a./L, Dow AgroSciences Industrial, São Paulo, SP, Brasil); o piretróide deltametrina (Decis EC; 25 g i.a./L, Bayer CropScience, São Paulo, SP, Brasil); e o bioinseticida terpenóide azadiractina (Azamax EC; 12 g i.a./L, DVA Especialidades, Campinas, SP, Brasil).

### 2.3 Bioensaios de sobrevivência

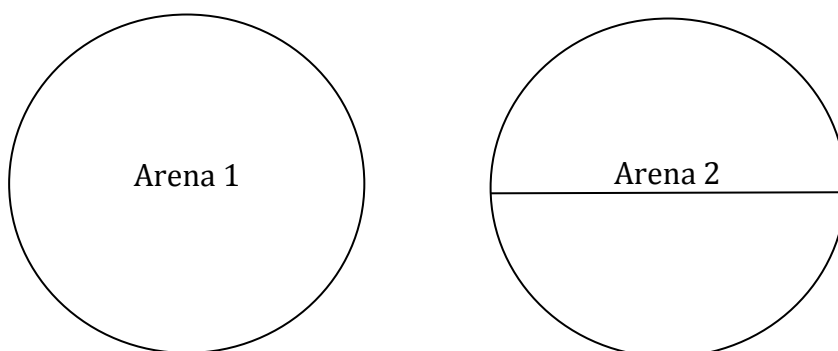
Os três inseticidas foram testados usando suas respectivas doses de campo (15 mL/L de clorpirifós; 4 mL/L de deltametrina; 2,5mL/L de azadiractina), recomendadas e registradas no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento – MAPA para o controle de *Tuta absoluta*, ou a maior dose com registro para a cultura do tomate, quando o ingrediente ativo não tinha registro para o controle da praga (Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento 2014). O controle consistiu de água destilada. Cada repetição consistiu de um adulto não-sexado, com até três dias de idade, que foi colocado individualmente em células circulares de plástico com diâmetro de três cm e altura de dois

cm (TPP, Switzerland, Europa). Cada célula recebeu 200 µL da respectiva solução. A pulverização foi realizada por meio de um aérografo acoplado a uma máquina de vácuo (Primatec inc., Itu, SP) usando uma pressão de  $6,9 \times 10^4$  Pa. O número de repetições variou de 25 a 30 insetos/tratamento. Imediatamente após a pulverização, os insetos foram individualmente transferidos para potes plásticos (150 mL) cobertos com organza, contendo ovos de *A. kuehniella* e algodão umedecido com água. Os potes foram mantidos em ambiente controlado, com temperatura de  $27 \pm 2^\circ\text{C}$ , umidade relativa de  $70 \pm 10\%$  e fotoperíodo LD 12:12. A mortalidade foi avaliada diariamente para a confecção das curvas de sobrevivência para cada tratamento. Com o objetivo de tornar a avaliação consistente, os insetos eram tocados com um pincel e considerados mortos quando não se mexiam após o estímulo. O tratamento que causou mortalidade igual ou inferior a 25% foi selecionado para experimentos posteriores que tinham por objetivo investigar o efeito sobre o comportamento e crescimento populacional.

#### **2.4 Bioensaios comportamentais**

Foram realizados dois ensaios comportamentais de caminhada usando a metodologia adaptada de Guedes et al. (2009) e Cordeiro et al. (2010). O primeiro ensaio de caminhada foi realizado em arena completamente tratada com inseticidas ou completamente não tratada (i.e., controle). O segundo foi realizado em arenas parcialmente (metade) tratadas (Figura 1). As arenas consistiam de placas de Petri de vidro de nove centímetros de diâmetro com fundo coberto com papel filtro (Nalgon Equipamentos Científicos Ltda, Itupeva, São Paulo, Brasil), e as paredes revestidas com Teflon PTFE<sup>®</sup> (DuPont, Wilmington, DE, USA) para evitar a fuga dos insetos. O disco de papel filtro recebeu um mL de solução inseticida para cada tratamento. No controle foi usado água destilada. Após o tratamento, os discos eram deixados durante 30 minutos numa câmara de exaustão. Após a secagem o disco era fixado com cola bastão não tóxica (Pritt, México) no fundo da placa de Petri. Os parâmetros avaliados foram: número de paradas, tempo parado, distância percorrida e velocidade média de caminhada. No segundo ensaio, um disco de papel filtro foi tratado com um mL de água e metade de um disco foi tratado com 500 µL da solução de inseticida. Após a secagem, o disco inteiro foi colado no fundo da placa e a metade do disco tratado foi colada sobre ele. O parâmetro

comportamental avaliado como indicador de refratariedade comportamental a inseticidas foi a frequência do número de insetos que permaneceu mais tempo na área tratada. Os dois componentes avaliados da refratariedade comportamental a inseticidas foram repelência e irritabilidade. Considerou-se repelência quando o inseto permaneceu menos do que um segundo na área tratada e irritabilidade foi a proporção de insetos que passaram menos do que 50% do tempo na área tratada. Os testes comportamentais foram realizados em sala com temperatura média de  $25 (\pm 2^\circ\text{C})$ . Nos dois ensaios foram utilizados insetos adultos, sexados, com idade entre um a três dias após a emergência. Cada arena recebeu um inseto e os parâmetros comportamentais foram registrados por uma câmera de vídeo acoplada a um computador (ViewPoint Life Sciences Inc., Montreal – Canadá) por um período de 10 minutos. O experimento foi delineado inteiramente ao acaso e estruturado em um fatorial (2 sexos x 2 tratamentos) com 20 a 24 repetições, onde cada repetição era formada por apenas um inseto. Cada inseto foi deixado no centro de cada arena. Durante os bioensaios não houve mortalidade dos insetos.



**Figura 1.** Representação esquemática da arena completamente tratada ou controle (arena 1) e arena parcialmente (metade) tratada (arena 2).

## **2.5 Bioensaio reprodutivo**

Foram realizados quatro tratamentos para o inseticida selecionado após os bioensaios de toxicidade aguda para avaliar seu impacto na capacidade reprodutiva de fêmeas e machos de *B. pallezensis*. Os tratamentos consistiram de casais onde apenas a fêmea foi tratada, apenas o macho tratado, fêmea e macho foram tratados (casal tratado) e ambos não foram tratados (casal não tratado), seguindo um arranjo fatorial 2 x 2 (macho tratado ou não x fêmea tratada ou não). Cada tratamento era formado por 20 a 30 repetições e cada

repetição era formada por um casal de adultos. Cada inseto com até três dias de idade foi pulverizado com 200µL do respectivo tratamento como descrito anteriormente. Cada casal foi mantido em um pote plástico de 150 mL coberto por organza, contendo ovos de *A. kuehniella*, algodão umedecido com água destilada e um pedaço de vagem de feijão fresca de dois cm para oviposição. A cada dois dias, o casal era alimentado e o substrato vegetal era trocado. Cada pedaço de vagem era transferido para outro pote plástico (150 mL) para a contagem do número de ovos, ninfas e razão sexual da geração  $F_1$ .

## **2.6 Modelo de matriz para *Blaptostethus pallescens***

O modelo de matriz estruturado no estágio foi usado para os quatro tratamentos (controle, fêmea tratada, macho tratado e casal tratado) com o objetivo de avaliar os efeitos do inseticida na longevidade e incremento da fecundidade. Os estágios do ciclo de vida incluídos no modelo foram ovo, ninfa e adulto. A matriz resulta de elementos que compõe a diagonal ( $P_i$ ), que representa a probabilidade de sobrevivência individual e permanência no atual estágio, abaixo da diagonal ( $G_i$ ), que representa a probabilidade individual e a passagem para o próximo estágio do ciclo de vida (Caswell, 2011; Vilca Malqui et al., 2013). Essas probabilidades são calculadas através das taxas de sobrevivência ( $\sigma_i$ ) e desenvolvimento ( $\gamma_i$ ) de cada estágio de vida ( $i$ ) em relação a fase de tempo da projeção (um dia), sendo  $P_i = \sigma_i (1 - \gamma_i)$  e  $G_i = \sigma_i \gamma_i$  (Vilca Malqui et al., 2013). Para compor a matriz, além do bioensaio reprodutivo, foram avaliadas a longevidade e a sobrevivência de ovos e ninfas em um experimento adicional. Dessa forma, ovos com até 48 horas de idade, e ninfas com até três dias de idade, foram pulverizados com 200µL do respectivo tratamento. Além da exposição por contato, as ninfas foram expostas oralmente ao resíduo através da oferta de ovos de *A. kuehniella* e algodão pulverizado contendo resíduos de azadiractina. A longevidade e a sobrevivência de cada estágio foram avaliadas diariamente. Os dados coletados foram longevidade das fêmeas, fecundidade diária, fertilidade total e razão sexual da geração  $F_1$ . Estes resultados foram submetidos ao software PopTools (PopTools version 3.2.3) para a obtenção das matrizes populacionais. Após análise, foram estimadas a taxa reprodutiva líquida ( $R_0$ ), taxa de crescimento populacional ( $r$ ), o tempo de geração ( $T$ ).

## **2.7 Análises Estatísticas**

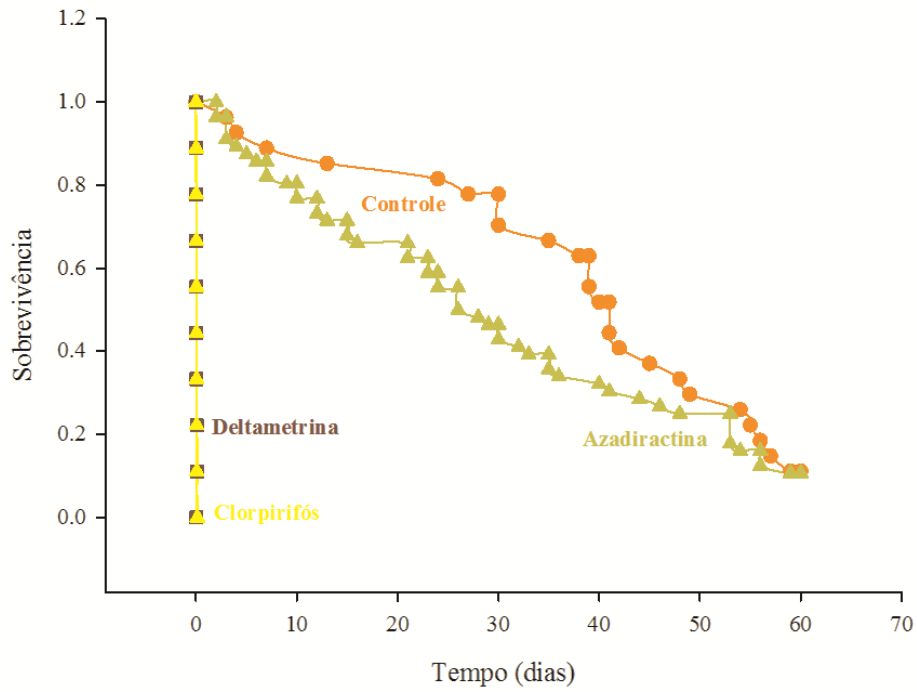
Os resultados dos bioensaios de toxicidade aguda foram submetidos à análise de sobrevivência (PROC LIFETEST; SAS Institute, 2008), gerando curvas de sobrevivência em função do tempo. Os resultados do ensaio comportamental referentes a arenas completamente tratadas foram submetidos à análise de variância multivariada (tratamento x sexo) e análise de variância (univariada) quando necessário (PROC GLM com MANOVA; SAS Institute, 2008). Os dados referentes à arena parcialmente tratada (metade tratada e metade controle) foram submetidos ao teste de  $\chi^2$  ( $p < 0,05$ ). Os resultados do bioensaio reprodutivo foram submetidos à análise de variância multivariada (fêmea x macho), seguido de análise de variância (univariada) se necessário (PROC GLM com MANOVA; SAS Institute, 2008), e os parâmetros significativos foram submetidos ao teste de Tukey (HSD) ( $p < 0,05$ ).

Os dados referentes ao número de adultos não satisfizeram os pressupostos de homogeneidade de variância e de normalidade sendo necessário recorrer a transformação ARCSIN ( $\sqrt{x}/100$ ) para número de adultos.

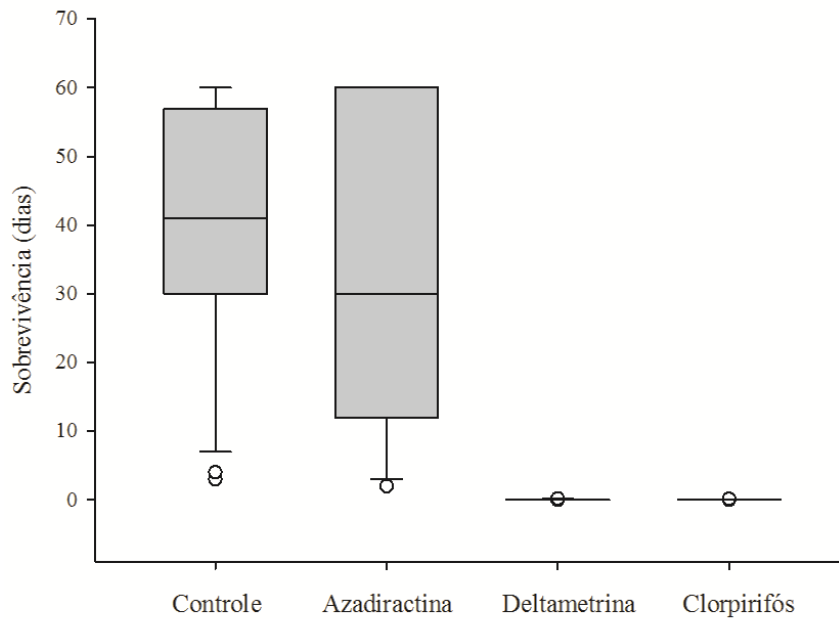
## **3. RESULTADOS**

### **3.1. Bioensaios de sobrevivência**

Os resultados dos bioensaios de sobrevivência mediante exposição aguda estão representados na Figura 2. Os inseticidas deltametrina e clorpirifós foram mais tóxicos para *B. pallescens* com  $TL_{50}$  igual a 25 e 60 minutos respectivamente, enquanto azadiractina e controle apresentaram  $TL_{50}$  iguais a 27 e 41 dias, respectivamente (Log-rank  $\chi^2 = 168,8115$ ,  $p < 0,001$ ; Figura 3). Como a mortalidade causada por azadiractina foi inferior a 25% 48 horas após a exposição, este inseticida foi selecionado para os bioensaios comportamental e reprodutivo.



**Figura 2.** Sobrevivência dos adultos de *B. pallescens* tratados com clorpirifós, deltametrina, azadiractina e não tratados (controle).

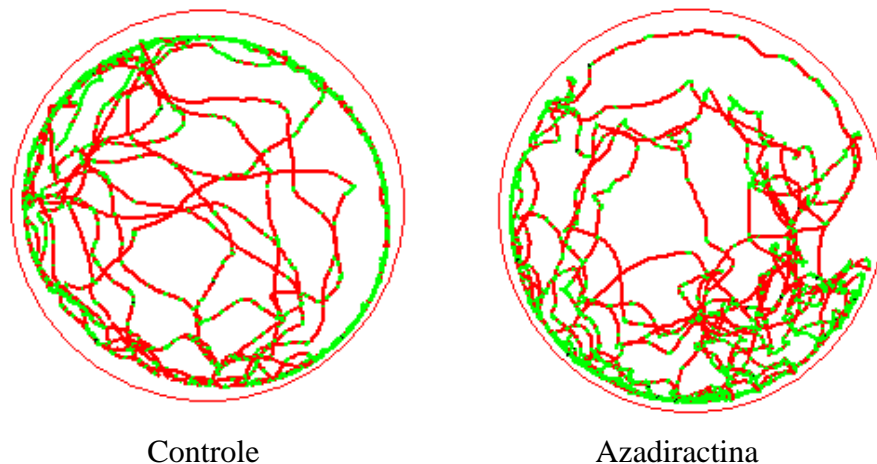


**Figura 3.** Tempo mediano de sobrevivência ( $TL_{50}$ ) dos adultos de *B. pallescens* expostos aos tratamentos com clorpirifós, deltametrina, azadiractina e controle.

## 3.2. Bioensaios comportamentais

### 3.2.1 Caminhamento em arena completamente tratada ou controle

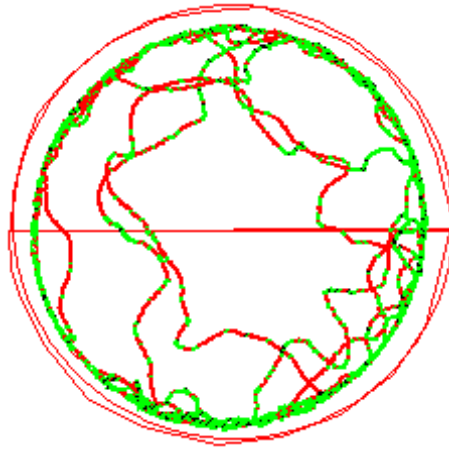
Mapas representativos de caminhada estão representados na Figura 4. As características comportamentais (número de paradas, tempo parado, distância percorrida e velocidade) avaliadas na população de *B. pallescens* para as arenas completamente tratadas com resíduo seco de azadiractina ou controle não diferiram significativamente entre tratamentos (G.L<sub>num</sub>/den= 4/34; Wilks lambda = 0,8716; F = 1,25; p < 0,31), sexos (G.L<sub>num</sub>/den= 4/34; Wilks lambda = 0,8071; F = 2,03; p < 0,11) e para a interação tratamento x sexo (G.L<sub>num</sub>/den= 4/34; Wilks lambda = 0,9857; F = 1,28; p < 0,97) (Tabela 1)



**Figura 4.** Mapas do caminhar de adultos *B. pallescens*, gravados por 10 minutos em arena composta por papel filtro de nove cm de diâmetro completamente tratada com resíduos de azadiractina e controle.

### 3.2.2 Caminhamento em arena parcialmente (metade) tratada

Mapa representativo de caminhar em arena parcialmente tratada está representado na Figura 5. Os resultados dos bioensaios de caminhar em arena parcialmente tratada mostraram que não houve repelência, já que todos os insetos permaneceram mais do que um segundo na área tratada. A irritabilidade foi baixa, aproximadamente 10%. A proporção do tempo de permanência do indivíduo na metade tratada da arena não diferiu significativamente do controle para fêmeas ( $\chi^2 = 0,167$ , G.L = 11, p < 0,05) e machos ( $\chi^2 = 0,409$ , G.L = 10, p < 0,05). (Figura 6).



**Figura 5.** Mapa do caminhamento de adultos de *B. pallescens* em arena composta por papel filtro com nove cm de diâmetro parcialmente tratada com resíduos de azadiractina (parte inferior) e controle (parte superior).

### 3.3. Bioensaios reprodutivos

Análise de variância multivariada indicou efeito significativo apenas com o tratamento de machos (G.L<sub>num</sub>/den= 5/112; Wilks lambda = 0,8921; F = 2,71; p < 0,02) (Tabela 2). As análises de variância conduzidas para cada característica avaliada não mostraram diferença significativa quanto a longevidade das fêmeas (G.L = 3, F = 1,42, p = 0,24), fecundidade diária (G.L = 3, F = 2,46, p = 0,07), fertilidade (G.L = 3, F = 1,82, p = 0,15), e número de insetos que chegaram a fase adulta (G.L = 3, F = 2,61, p = 0,06). Houve diferença significativa para fecundidade diária (F = 2,46, p = 0,665, número de adultos (F = 2,24, p = 0,0876) e razão sexual da geração F<sub>1</sub> (Tukey (HSD) = 3,6864, G.L = 3, F = 3,66, p = 0,01). As médias e os erros são mostrados na tabela 3. A matriz populacional mostrou que as taxas líquidas reprodutivas foram maiores para com o macho tratado (R<sub>0</sub> = 11,82), fêmea tratada (R<sub>0</sub> = 11,56) e controle (R<sub>0</sub> = 11,39), quando comparados ao casal tratado (R<sub>0</sub> = 8,76). De forma semelhante, as taxas de incremento populacional foram maiores para o tratamento controle (r = 0,154), macho tratado (r = 0,152) e fêmea tratada (r = 0,151), quando comparado ao casal tratado (r = 0,129). Essa mesma tendência, foi observada para o tempo de geração, sendo que o controle apresentou menor tempo de geração (T = 15,82) seguido de macho tratado (T = 16,22), fêmea tratada (T = 16,26) e casal tratado (T = 16,78). A projeção da matriz mostrou diferença no crescimento populacional ao longo das gerações entre os tratamentos (Figura 7).

**Tabela 1:** Médias ( $\pm$  erro padrão) do número de paradas, tempo parado (segundos), distância percorrida (centímetros) e velocidade média (centímetros/segundos). Médias dentro da mesma coluna, seguidas da mesma letra não apresentam diferença significativa ( $F = 1.25$ ;  $p < 0.31$ ).

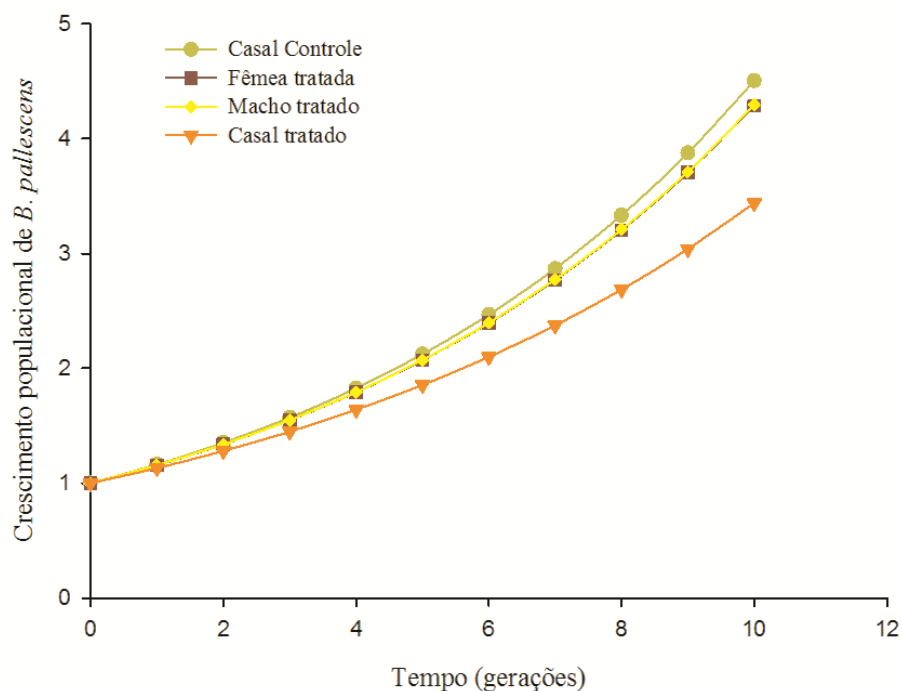
Tratamento	Sexo	Número de paradas	Tempo parado (segundos)	Distância percorrida (centímetros)	Velocidade média (cm/s)
Controle	Fêmea	771,09 $\pm$ 31,21 a	208,13 $\pm$ 12,49 a	282,27 $\pm$ 17,68 a	0,77 $\pm$ 0,03 a
	Macho	804,30 $\pm$ 37,99 a	180,40 $\pm$ 15,38 a	301,67 $\pm$ 29,82 a	0,81 $\pm$ 0,05 a
Azadiractina (30mg i.a/L)	Fêmea	775,10 $\pm$ 52,93 a	229,13 $\pm$ 29,48 a	258,69 $\pm$ 27,54 a	0,76 $\pm$ 0,04 a
	Macho	772,40 $\pm$ 57,91 a	190,44 $\pm$ 23,72 a	298,88 $\pm$ 25,23 a	0,85 $\pm$ 0,03 a

**Tabela 2.** Valores de Wilks Lambda, F, graus de liberdade e probabilidade para os fatores fêmea, macho e interação entre fêmeas e machos para os parâmetros longevidade das fêmeas, fecundidade diária, fertilidade, proporção de insetos que chegaram a fase adulta e razão sexual da geração  $F_1$ .

Fator	Wilks Lambda	F	G.L (num/den)	p
Fêmea	0,9576	0,99	5/112	0,43
Macho	0,8921	2,71	5/112	0,02
Fêmea*Macho	0,9316	1,64	5/112	0,15

**Tabela 3.** Média  $\pm$  erro padrão da longevidade das fêmeas tratadas (dias), fecundidade diária, fertilidade, número ninfas que chegaram à fase adulta, Razão sexual da geração  $F_1$ . Médias dentro da mesma coluna, seguidas da mesma letra não apresentam diferenças significativas ( $F = 1,63$ ;  $p = 0,05$ ).

Tratamento	Long. Fêmeas	Fec. Fêmeas	Fertilidade	Núm. De adultos	Razão sexual
Casal Controle	40,29 $\pm$ 3,36 a	2,32 $\pm$ 0,30 a	40,68 $\pm$ 4,16 a	58,71 $\pm$ 6,08 a	1,01 $\pm$ 0,06 b
Fêmea tratada	41,03 $\pm$ 4,20 a	2,18 $\pm$ 0,25 ab	45,21 $\pm$ 4,31 a	62,81 $\pm$ 5,54 b	0,94 $\pm$ 0,12 bc
Macho tratado	46,46 $\pm$ 3,19 a	2,23 $\pm$ 0,14 a	49,98 $\pm$ 1,59 a	62,89 $\pm$ 2,41 b	1,74 $\pm$ 0,43 a
Casal tratado	35,58 $\pm$ 3,90 a	1,54 $\pm$ 0,19 b	37,70 $\pm$ 4,61 a	45,61 $\pm$ 5,14 a	0,91 $\pm$ 0,11 c



**Figura 7.** Crescimento populacional de *B. pallenscens* referentes aos tratamentos controle, fêmea tratada, macho tratado e casal tratado com azadiractina ao longo das gerações.

#### 4. DISCUSSÃO

Os bioensaios de toxicidade aguda mostraram que entre os inseticidas testados, azadiractina se mostrou o menos tóxico. Este biopesticida vem sendo utilizado amplamente no controle de pragas (Riba et al., 2003; Pineda et al., 2009; Tomé et al., 2013), no entanto sua seletividade tem sido questionada (Cordeiro et al., 2010; Biondi et al. 2012; Lima et al., 2013), pois apresenta efeitos na sobrevivência, locomoção, comportamento de oviposição e de alimentação, fecundidade, fertilidade, duração dos estágios imaturos e a formação normal de adultos (Mordue & Blackwell 1993; Mordue et al., 1998; Qi et al. 2001; Rosell et al., 2008; Cordeiro et al., 2010; Biondi et al., 2012; Lima et al., 2013). Os inseticidas deltametrina e clorpirifós exibiram toxicidade semelhante para *B. pallenscens*, causando mortalidade igual a 100% em até 4 horas. Esses resultados já eram esperados devido a alta toxicidade e amplo espectro de ação de alguns inseticidas do grupo dos piretróides e organofosforados (Zanuncio et al., 1998; Al-Deeb et al., 2001; May et al. 2003; Badji et al., 2004; Angeli et al.; 2005; Cordeiro et al., 2010; Campos et al., 2011; Lima et al., 2013).

Os parâmetros comportamentais (número de paradas, tempo parado, distância percorrida e velocidade) não apresentaram diferença significativa entre os tratamentos para arena completamente tratada. Nos bioensaios comportamentais usando arena parcialmente tratada, também não houve diferença significativa para repelência e irritabilidade. No entanto os efeitos comportamentais causados por azadiractina são controversos (Cordeiro et al., 2010; Lima et al., 2013; Tomé et al., 2013). Essa divergência tem variação interespecífica (Stark et al., 2007; Cordeiro et al., 2010) e até mesmo dentro da mesma espécie, quando diferentes substratos são usados nos bioensaios (Tomé et al., 2013).

O resultado da matriz mostrou crescimento populacional para todos os tratamentos, o controle apresentou o maior incremento, seguido pelos tratamentos: macho tratado e fêmea tratada, o menor incremento populacional foi apresentado pelo casal tratado, sendo o mais afetado pelo inseticida. No entanto observamos, em valores absolutos, uma menor taxa líquida reprodutiva e de incremento populacional para o tratamento em que o casal foi tratado, e um menor tempo de geração para o controle. Entre os parâmetros da matriz, longevidade das fêmeas, fecundidade diária, fertilidade, número de insetos que chegou a fase adulta e razão sexual, apenas fecundidade diária, número de insetos na fase adulta e razão sexual mostraram resultado significativo. Resultados semelhantes para fecundidade e/ou fertilidade são relatados em outros trabalhos (Riba et al., 2003; Medina et al., 2004; Nathan et al., 2006; Kraiss & Cullen, 2008; Arnó & Gabarra, 2011; Stara et al., 2011). Por outro lado, a queda na fecundidade e/ou fertilidade também é relatada (Medina et al., 2003; Riba et al., 2003; Nathan et al., 2007; Siriwattananurungsee et al., 2008; Pineda et al., 2009; Arnó & Gabarra 2011; Biondi et al., 2012). Efeitos de pesticidas na razão sexual da prole ainda são poucos conhecidos, os inseticidas relatados por causarem este efeito são clorpirifós e alguns pertencentes ao grupo dos piretróides em espécies haplodiplóides (Desneux et al., 2007).

Resultados divergentes quanto a efeitos letais e subletais são relatados na literatura. Essa variação de resultados encontrada nos trabalhos pode ser explicada pelas diferentes formulações, doses e formas com que o inseto foi exposto a azadiractina (Mordue & Blackwell, 1993; Tang et al., 2002), além de se tratarem de espécies diferentes e de terem sido distintos os estágios de desenvolvimento em que a exposição ao inseticida ocorreu. Nossos resultados corroboram com outros trabalhos em que azadiractina se mostrou mais segura para organismos não-alvo do que inseticidas sintéticos (Angeli et al., 2005; Cordeiro et al. 2010; Lima et al., 2013), mas

apresentam uma novidade: o efeito cumulativo (fêmea e macho tratados) do inseticida azadiractina no crescimento populacional ao longo das gerações.

Em resumo nós avaliamos o efeito letal de três inseticidas registrados para o controle da *T. absoluta* (clorpirifós, deltametrina e azadiractina) e os efeitos subletais no comportamento de caminhamento e na reprodução do percevejo predador *B. pallenscens* mediante exposição à azadiractina. Os inseticidas clorpirifós e deltametrina se mostraram muito tóxicos para o predador, causando mortalidade igual a 100%, quatro horas após a exposição. Apesar dos resultados divergentes encontrados na literatura quanto ao uso da azadiractina, no presente trabalho este inseticida se mostrou o mais seguro para o predador *B. pallenscens* quanto aos parâmetros testados. Estudos a campo são necessários, no entanto azadiractina se mostrou seletiva ao predador *B. pallenscens* no presente trabalho, mostrando-se, portanto como uma alternativa seletiva de inseticida a ser avaliada para o manejo integrado de *T. absoluta* e em campos orgânicos de tomate.

## **5. CONSIDERAÇÕES FINAIS**

Os inseticidas clorpirifós e deltametrina se mostraram altamente tóxicos para o percevejo predador *B. pallenscens*, causando mortalidade de 100% dos adultos em poucas horas. Os efeitos letais causados pelo bioinseticida azadiractina não foram significativos. Os resultados dos ensaios comportamentais e reprodutivos mostraram que azadiractina não teve efeito nos parâmetros de caminhamento avaliados. Já nos parâmetros reprodutivos avaliados (taxa instantânea de crescimento, de incremento populacional e tempo de geração) houve uma pequena diferença, sendo que o casal tratado foi o mais afetado, seguido pelos tratamentos onde apenas a fêmea ou o macho foi tratado. Ainda assim, o bioinseticida azadiractina se mostrou seletivo ao percevejo predador *B. pallenscens*, mostrando-se uma ferramenta segura para o controle de *T. absoluta* em campos orgânicos de tomate.

## REFERÊNCIAS

- Al-Deeb, M. A.; Wilde, G. E.; Zhu, K. Y. Effect of insecticides used in corn, sorghum, and alfalfa on the predator *Orius insidiosus* (Hemiptera: Anthocoridae). *Journal of Economic Entomology*, v. 94, p. 1353-1360, 2001.
- Angeli, G.; Baldessari, M.; Maines, R.; Duso, C. Side-effects of pesticides on the predatory bug *Orius laevigatus* (Heteroptera: Anthocoridae) in the laboratory. *Biocontrol Science and Technology*, v. 15, p. 745-754, 2005.
- Arnó, J. & Gabarra, R. Side effects of selected insecticides on the *Tuta absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae) predators *Macrolophus pygmaeus* and *Nesidiocoris tenuis* (Hemiptera: Miridae). *Journal of Pest Science*, v. 84, p. 513-520, 2011.
- Badji, C. A.; Guedes, R. N. C.; Silva, A. A.; Araújo, R. A. Impact of deltamethrin on arthropods in maize under conventional and no-tillage cultivation. *Crop Protection*, v. 23, p. 1031–1039, 2004.
- Biondi, A.; Desneux, N.; Siscaro, G.; Zappalà, L. Using organic-certified rather than synthetic pesticides may not be safer for biological control agents: Selectivity and side effects of 14 pesticides on the predator *Orius laevigatus*. *Chemosphere*, v. 87, p. 803–812, 2012.
- Braga, L. S.; Corrêa, A. S.; Pereira, E. J. G.; Guedes, R. N. C. Face or flee? Fenitrothion resistance and behavioral response in populations of the maize weevil, *Sitophilus zeamais*. *Journal of Stored Products Research*, v. 47, p. 161-167, 2011.
- Campos, M. C.; Picanço, M. C.; Martins, J. C.; Tomaz, A. C.; Guedes, R. N. C. Insecticide selectivity and behavioral response of the earwig *Doru luteipes*. *Crop Protection*, v. 30, p. 1535-1540, 2011.
- Caswell, H. *Matrix Population Models*. Massachusetts: Sinauer Associates, 1990.
- Charleston, D. S.; Kfir, R.; Dicke, M.; Vet, L. E. M. Impact of botanical extracts derived from *Melia azedarach* and *Azadirachta indica* on populations of *Plutella xylostella* and its natural enemies: A field test of laboratory findings. *Biological Control*, v. 39, p. 105-114, 2006.
- Cordeiro, E. M. G.; Corrêa, A. S.; Vezon, M.; Guedes, R. N. C. Insecticide survival and behavioral avoidance in the lacewings *Chrysoperla externa* and *Ceraeochrysa cubana*. *Chemosphere*, v. 81, p. 1352–1357, 2010.
- Cordeiro, E. M. G.; Moura, I. L. T.; Fadini, M. A. M.; Guedes, R. N. C. Beyond

selectivity: Are behavioral avoidance and hormesis likely causes of pyrethroid-induced outbreaks of the southern red mite *Oligonychus ilicis*? *Chemosphere*, v. 93, p. 1111–1116, 2013.

Desneux, N.; Wajnberg, E.; Wyckhuys, K. A. G.; Burgio, G.; Arpaia, S.; Narváez-Vasquez, C. A.; González-Cabrera, J.; Ruescas, D. C.; Tabone, E.; Frandon, J.; Pizzol, J.; Poncet, C.; Cabello, T.; Urbaneja, A. Biological invasion of European tomato crops by *Tuta absoluta*: ecology, geographic expansion and prospects for biological control. *Journal of Pest Science*, v. 83, p. 197 – 215, 2010.

Desneux, N.; Decourtye, A.; Delpuech, J-M. The sublethal effects of pesticides on beneficial arthropods. *Annual Review Entomology*, v. 52, p. 81-106, 2007.

Desneux, N.; O’Neil, R. J.; Yoo, H. J. S. Suppression of Population Growth of the Soybean Aphid, *Aphis glycines* Matsumura, by Predators: The Identification of a Key Predator and the Effects of Prey Dispersion, Predator Abundance, and Temperature. *Environmental Entomology*, v. 35, p. 1342-1349, 2006.

Gradish, A. E.; Scott-Dupree, C. D.; Shipp, L.; Harris, C. R.; Ferguson, G. Effect of reduced risk pesticides on greenhouse vegetable arthropod biological control agents. *Pest Management Science*, v. 67, p. 82-86, 2011.

Guedes, N.M.P., Guedes, R.N.C., Ferreira, G.H., Silva, L.B.. Flight take-off and walking behavior of insecticide-susceptible and e resistant strains of *Sitophilus zeamais* exposed to deltamethrin. *Bull. Entomol. Res.* 99, 393 e 400, 2009.

Guedes, R. N. C. & Picanço, M. C. The tomato borer *Tuta absoluta* in South America: pest status, management and insecticide resistance. *EPPO Bulletin*, v. 42, p. 211-216, 2012.

Gentz, M. C.; Murdoch, G.; King, G. F. Tadem use of selective insecticides and natural enemies for effective, reduced-risk pest management. *Biological Control*, v. 52, p. 208-215, 2010.

Kraiss, H. & Cullen, E. M. Insect growth regulator effects of azadirachtin and neem oil on survivorship, development and fecundity of *Aphis glycines* (Homoptera: Aphididae) and its predator, *Harmonia axyridis* (Coleoptera: Coccinellidae). *Pest Management Science*, v. 64, p. 660–668, 2008.

Lima, D. B.; Melo, J. W. S.; Guedes, R. N. C.; Siqueira, H. A. A.; Pallini, A.; Gondim Jr., M. G. C. Survival and behavioural response to acaricides of the coconut mite predator *Neoseiulus baraki*. *Experimental and Applied Acarology*, v. 60, p. 381–393, 2013.

May, W. E.; Soroka, J. J.; Loeppky, H. A.; Murrell, D. C. The effects of trichlorfon and deltamethrin on alfalfa plant bug and lygus bug (Heteroptera: Miridae) populations in alfalfa grown in Canada. *Crop Protection*, v. 22, p. 883-889, 2003.

Medina, P.; Budia, F.; Del Estal, P.; Vinuela, E. Influence of Azadirachtin, a botanical insecticide, on *Chrysoperla carnea* (Stephens) reproduction: Toxicity and ultrastructural approach. *Journal of Economic Entomology*, v. 97, p. 43-50, 2004.

Medina, P.; Smagghe, G.; Budia, F.; Tirry, L.; Vinuela, E. Toxicity and absorption of azadirachtin, diflubenzuron, pyriproxyfen, and tebufenozide after topical application in predatory larvae of *Chrysoperla carnea* (Neuroptera: Chrysopidae). *Environmental Entomology*, v. 32, p. 196-203, 2003.

Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) AGROFIT. Sistema de Agrotóxicos Fitossanitários desenvolvido pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Acesso em 21 de janeiro de 2014 através do link:<[http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit\\_cons/principal\\_agrofit\\_cons](http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons)>.

Mordue (Luntz), A. J.; Simmonds, M. S. J.; Ley, S. V.; Blaney, W. M.; Mordue, W.; Nasiruddin, M.; Nisbet, A. J. Actions of azadirachtin, a plant allelochemical, against insects. *Pesticide Science*, v. 54, p. 277-284, 1998.

Mordue, A. J. & Blackwell, A. Azadirachtin: an update. *Journal of Insect Physiology*, v. 39, p. 903-924, 1993.

Nathan, S. S.; Choi, M. Y.; Seo, H. Y.; Paik, C. H.; Kalaivani, K.; Kim, J. D. Effect of azadirachtin on acetylcholinesterase (AChE) activity and histology of the brown plant hopper *Nilaparvata lugens* (Stål). *Ecotoxicology and Environmental Safety*, v. 70, p. 244–250, 2007.

Nathan, S. S.; Kalaivani, K.; Sehoon, K.; Murugan, K. The toxicity and behavioural effects of neem limonoids on *Cnaphalocrocis medinalis* (Guenée), the rice leaf folder. *Chemosphere*, v. 62, p. 1381–1387, 2006

Pereira, R.; Santana, P.; Moreira, S.; Picanço, M. C.; Guedes, R. N. C.; Corrêa, A. S. Insecticide toxicity and walking response of three pirate bug predators of the tomato leaf miner *Tuta absoluta*. *Agricultural and Forest Entomology*, (in press). doi:10.1111/afe/12059.

Pineda, S.; Martínez, A. M.; Figueroa, J. I.; Schneider, M. I.; Estal, P. D.; Viñuela, E.; Gómez, B.; Smagghe, G.; Budia, F. Influence of Azadirachtin and Methoxyfenozide on Life Parameters of *Spodoptera littoralis* (Lepidoptera: Noctuidae). *Journal of Economic Entomology*, v. 102, p. 1490-1496, 2009.

Pop Tools versão 3.2. Download disponível em: <<http://www.poptools.org>> acesso em janeiro de 2014.

Qi, B.; Gordon, G.; Gimme, W. Effects of Neem-Fed Prey on the Predacious Insects *Harmonia conformis* (Boisduval) (Coleoptera: Coccinellidae) and *Mallada signatus* (Schneider) (Neuroptera: Chrysopidae). *Biological Control*, v. 22, p. 185-190, 2001.

Riba, M.; Martí, J.; Sans, A. Influence of azadirachtin on development and reproduction of *Nezara viridula* L. (Het., Pentatomidae). *Journal of Applied Entomology*, v. 127, p. 37-41, 2003.

Rosell, G.; Quero, C.; Coll, J.; Guerrero, A. Biorational insecticides in pest management. *Journal of Pesticide Science*, v. 33, p. 103-121, 2008.

SAS Institute. SAS/STAT User's Guide. SAS, Cary, NC, USA, 2008

Simmons, A. M. & Abd-Rabou, S. Populations of predators and parasitoids of *Bemisia tabasi* (Hemiptera: Aleyrodidae) after the application of eight biorational insecticides in vegetable crops. *Pest Management Science*, v. 67, p. 1023-1028, 2011.

Symondson, W. O. C.; Sunderland, K. D.; Greenstone, M. H. Can generalist predators be effective biocontrol agents? *Annual Review of Entomology*, v. 47, p. 561-594, 2002.

Siriwattananurungsee, S.; Sukontason, K. L.; Olson, J. K.; Chailapakul, O.; Sukontason, K. Efficacy of neem extract against the blowfly and housefly. *Parasitology Research*, v. 103, p. 535-544, 2008.

Stara, J.; Ourednickova, J.; Kocourek, F. Laboratory evaluation of the side effects of insecticides on *Aphidius colemani* (Hymenoptera: Aphidiidae), *Aphidoletes aphidimyza* (Diptera: Cecidomyiidae), and *Neoseiulus cucumeris* (Acari: Phytoseiidae). *Journal of Pest Science*, v. 84, p. 25-31, 2011.

Stark, J. D.; Vargas, R.; Banks, J. E. Incorporating ecologically relevant measures of pesticide effect for estimating the compatibility of pesticides and biocontrol agents. *Journal of Economic Entomology*, v. 100, p. 1027 - 1032, 2007.

Tang, Y. Q.; Weathersbee III, A. A.; Mayer, R. T. Effect of Neem Seed Extract on the Brown Citrus Aphid (Homoptera: Aphididae) and its Parasitoid *Lysiphlebus testaceipes* (Hymenoptera: Aphidiidae). *Environmental Entomology*, v. 31, p. 172-176, 2002.

Tomé, H. V. V.; Martins, J. C.; Corrêa, A. S.; Galdino, T. V. S.; Picanço, R. N.C.; Guedes, R. N. C. Azadirachtin avoidance by larvae and adult females of the tomato leaf miner *Tuta absoluta*. *Crop Protection*, v. 46, p. 63-69, 2013.

Veire, M. V.; Smagghe, G.; Degheele. Laboratory test method to evaluate the effect of 31 pesticides on the predatory bug, *Orius laevigatus* (Het.: Anthocoridae). *Entomophaga*, v. 41, p. 235-243, 1996.

Villaverde, J.J.; Sevilla-Morán, B.; Sadín-Spana, P.; López-Goti, C.; Alonso-Prados, J.

L. Biopesticides in the framework of the European Pesticide Regulation (EC) No. 1107/2009. *Pest Management Science*, v. 70, p. 2-5, 2014.

Vilca Mallqui, K. S.; Vieira, J.; Guedes, R. N. C.; Gontijo, L. M. Azadirachtin-mediated shift in fecundity-longevity trade-off in the Mexican bean beetle *Zabrotes subfasciatus*. *Journal Economic Entomology*, v. 107, p. 860-866.

Zanuncio, J. C.; Batalha, V. C.; Guedes, R. N. C.; Picanço, M. C. Insecticide selectivity to *Supputius cincticeps* (Stal) (Het., Pentatomidae) and its prey *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lep., Noctuidae). *Journal of Applied Entomology*, v. 122, p. 467-460, 1998