

Laboratório de Manejo Integrado de Pragas  
Universidade Federal do Paraná

**ESTRATÉGIAS DE CONTROLE E  
SUAS REPERCUSSÕES NO MANEJO  
DA RESISTÊNCIA DA MARIPOSA-  
ORIENTAL EM POMARES DE  
MACIEIRAS NO SUL DO BRASIL**



**Lino Bittencourt Monteiro**

**Luís Gustavo Witt**

**ESTRATÉGIAS DE CONTROLE E SUAS  
REPERCUSSÕES NO MANEJO DA RESISTÊNCIA DA  
MARIPOSA-ORIENTAL EM POMARES DE MACIEIRA  
NO SUL DO BRASIL**

**SISTEMA DE AVALIAÇÃO PRÁTICA DA  
MARIPOSA-ORIENTAL E IMPACTO SOBRE O MANEJO  
DA RESISTÊNCIA**

Lino Bittencourt Monteiro<sup>1</sup> & Luis Gustavo Witt<sup>2</sup>

<https://doi.org/10.13140/RG.2.2.29343.28320>

Curitiba, julho de 2021.

<sup>1</sup> Professor Titular, Dr. do Departamento de Fitotecnia e Fitossanidade da Universidade Federal do Paraná, 80035-050, Curitiba, Paraná, Brazil.

<sup>2</sup> Mestre em Agronomia pelo Departamento de Fitotecnia e Fitossanidade da Universidade Federal do Paraná, 80035-050, Curitiba, Paraná, Brazil.

Correspondência: lbmonteiro@terra.com.br

**AGRADECIMENTOS:** O primeiro autor agradece ao Dr. José Fernando da Silva Protas, chefe da EMBRAPA Uva e Vinho em 1992, pela ‘palavra’, pela confiança e por permitir os primeiros estudos de controle biológico aplicado de ácaros predadores no Brasil. Tais estudos geraram conhecimentos que foram aplicados pelas empresas AGRIFLOR (Vacaria-RS), POMIFRAI, AGRICOLA FRAIBURGO, FISCHER FRAIBURGO e RENAR MAÇÃS (Fraiburgo-SC), FRUTIPAR (Lapa-PR) e COOPERATIVA SANJO (São Joaquim-SC). Agradecimento estendido a todos os proprietários, diretores, agrônomos e técnicos dessas empresas que acreditaram na adoção desta tecnologia de controle biológico. Além disso, agradecemos também aos agrônomos dos 27 pomares do Sul do Brasil que participaram do presente estudo, por terem facilitado a obtenção destas informações e pela confiança depositada quanto à seriedade da tarefa de reunir e abordar a complexidade do tema. Aos técnicos que colaboraram de maneira decisiva para que o estudo fosse coerente e condizente com a prática agrícola. Por fim, a todos os pesquisadores e estudantes que publicaram seus trabalhos e aqui foram utilizados como referências.

**Resumo.** Os primeiros pomares comerciais de macieira no Brasil surgiram na década de 70 e, nestas últimas três décadas, ocorreram evoluções no manejo de controle de pragas, de forma que os pomares se tornaram mais sustentáveis. O objetivo do presente trabalho foi caracterizar pomares de macieira do Sul do Brasil, identificando suas estratégias culturais e fitossanitárias, relacionando-as com a resistência de populações de *Grapholita molesta* a quatro ingredientes ativos comumente usados em pomares de macieira (chlorpyrifos, fenitrothion, chlorantraniliprole e lufenuron), assim como as atividades de das enzimas acetilcolinesterase, glutathione-S-transferase e  $\alpha$  esterase e  $\beta$ -esterase. O trabalho foi realizado em 27 pomares de macieira, localizados em três regiões de produção de maçã: estados do Paraná (municípios de Campo do Tenente, Lapa e Porto Amazonas), Santa Catarina (Fraiburgo, São Joaquim e Urupema) e Rio Grande do Sul (Vacaria). Foi realizado um levantamento de informações culturais e fitossanitárias para análise da eficiência tecnológica dos pomares, por meio de nove indicadores pela plataforma AMBITEC-AGRO. Foram multiplicadas larvas de *G. molesta* em sete pomares de macieira para serem utilizadas em bioensaios toxicológico e enzimático, comparando-os com populações de referências positiva e negativa. Por meio da análise dos indicadores os pomares foram classificados em Manejo Integrado de Pragas (MIP), Boas Práticas Agrícolas (BPA), Manejo Convencional (MC) e Manejo Inadequado (MI). Os pomares de MIP e BPA apresentaram os melhores parâmetros tecnológicos. O monitoramento de *G. molesta* mostrou diferenças entre as regiões produtoras referentes às estratégias de controle. Dentre as populações, quatro foram tolerantes ao chlorpyrifos, fenitrothion e lufenuron, e seis populações foram tolerantes a lufenuron. Populações que receberam o inseticida chlorantraniliprole anualmente mostraram-se mais tolerantes. A atividade enzimática foi relacionada com a estratégia de controle utilizada em cada pomar. Pomares que utilizaram formulação de confusão sexual para *G. molesta* foram os melhores na análise de eficiência tecnológica.

Palavras-Chave: *Grapholita molesta*, macieira, manejo de pragas, resistência a inseticidas.

## 1. INTRODUÇÃO

O manejo Integrado de Pragas (**MIP**) surgiu como resposta ao crescente uso de produtos fitossanitários na agricultura e suas influências nos agroecossistemas e na saúde humana. Nesse contexto, o MIP tem como objetivo integrar os diferentes métodos de controle de pragas, visando reduzir o uso e dependência dos produtos fitossanitários pelos produtores.

Os problemas fitossanitários no Brasil iniciaram nos anos 90 com o ácaro vermelho da macieira, *Panonychus ulmi* Koch (Acari: Tetranychidae), a primeira praga de importância comercial. Na sequência, mariposa oriental, *Grapholita molesta* (Busk) (Lepidoptera: Tortricidae), inicialmente praga primária em pessegueiro e, posteriormente, passou a ser praga primária também em macieira. Paralelamente, mosca-das-frutas, *Anastrepha fraterculus* Wiedemann (Diptera: Tephritidae), cresceu em importância, assim como a mariposa enroladeira da macieira, *Bonagota salubricola* (Meyrick) (Lepidoptera: Tortricidae) (Foto 1). Com o aumento dos problemas fitossanitários, o monitoramento de pragas se tornou indispensável. Salienta-se que o controle dessas pragas tem sido feito principalmente com o uso de produtos químicos, embora, nas últimas décadas, métodos alternativos vêm sendo implantados visando à redução no número de pulverizações de inseticidas e melhorar a sua eficiência.



Foto 1. Fêmeas de ácaro vermelho, lagarta enroladeira, mariposa oriental e mosca-das-frutas (da esquerda para a direita)(Foto: Lino B Monteiro)

O desenvolvimento destes insetos depende de condições bióticas e abióticas, as quais são diferentes em função da latitude e altitude, além das estratégias fitossanitárias adotadas em cada região. Manejos exclusivamente realizados por pulverizações definidas por calendário podem selecionar populações resistentes aos produtos fitossanitários (Siegwart et al., 2011; Monteiro et al., 2018), mas a associação de técnicas pode minimizar esse impacto (Monteiro et al., 2020).

Várias abordagens foram propostas para avaliação do impacto de produtos fitossanitários em agroecossistemas (Greitens & Day, 2007; Stenrod et al., 2008), por meio de regras padronizadas (Levitan et al., 1995; Gallivan et al., 2001; Greitens & Day, 2007), as quais privilegiam o uso de recursos biológicos naturais. Tornou-se cada vez mais necessário estimar o impacto do uso de produtos fitossanitários dentro de programas de MIP, como propostos pelo *Environmental Impact Quotient* (EIQ) (Kovach et al., 1992; Devilliers et al., 2005) (Universidade de Cornell, <http://www.nysipm.cornell.edu/publications/eiq> e <https://ecommons.cornell.edu/handle/1813/55750>) e *Indicateur Phytosanitaire* INDIGO (I-PHYarbo) (Griffith et al., 2003; Devilliers et al., 2005).

Esses programas usam indicadores de risco de inseticidas, adaptados para agrônomos e produtores especializados, visando tomada de decisão. Identificar possíveis indicadores locais pode contribuir para correções ao longo do processo produtivo (Mouron et al., 2006; Nario et al., 2009), pois muitos insetos apresentam distribuição regional e é influenciada por condições abióticas.

A Embrapa-Jaguariúna desenvolveu uma plataforma para avaliar o impacto de tecnologias sociais e ambientais (Rodrigues et al., 2003; 2010) e uma interface entre a pesquisa e desenvolvimento (P&D). A proposta AMBITEC-AGRO (Rodrigues et al., 2003; Avila et al., 2005; Santos & Rodrigues, 2008) estimulou produtores e pesquisadores a avaliarem suas contribuições tecnológicas, por meio de um *checklist*. Um dos gargalos na fruticultura seria a criação de critérios e indicadores que pudessem caracterizar os diferentes agroecossistemas e determinar o impacto exercido pelas estratégias locais, relacionando-as com a detecção precoce da resistência de populações de artrópodes pragas a produtos fitossanitários (Kanga et al., 2003; Siegwart et al., 2011; Monteiro et al., 2018). Isto estaria ocorrendo pela redução de opções de ingredientes ativos no mercado nacional, visto que vários grupos químicos de inseticidas neurotóxicos estão em processo de cancelamento de registro em alguns países, principalmente importadores. Como há poucas pesquisas sobre as ações integradas de controle, a ineficiência de inseticidas se torna subjetiva (Bernardi et al., 2016; Siegwart et al., 2011, Monteiro et al., 2020). Em suma, o uso de indicadores tem o objetivo de simplificar o complexo manejo de pragas em macieira para os usuários (Devilliers et al., 2005; Strassemeyer et al., 2017).

Assim, uma proposta preliminar em 2006 foi realizada com seis indicadores (Monteiro et al., 2018) e, posteriormente em 2014, foram utilizados nove indicadores em 27 pomares de macieira no Sul do Brasil, objeto deste boletim técnico. Portanto, esse trabalho teve a finalidade de caracterizar as estratégias culturais, ecológicas e fitossanitárias de pomares de macieira no sul do Brasil, verificando uma possível relação com a resistência de populações de *G. molesta*.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

A plataforma *System for Environment Impact Assessment of Agricultural Technology Innovations* (AMBITEC-AGRO), proposta por Rodrigues et al. (2003), foi inicialmente aplicada em atividades rurais (Rodrigues et al., 2010). O uso de critérios e indicadores foi adaptado para este estudo, de modo a representar as estratégias culturais e fitossanitárias e colocar em evidência as características de agroecossistemas de maçã sob a dinâmica populacional de pragas.

**2.1. Indicadores culturais e fitossanitários.** Os módulos de critérios e indicadores foram definidos a partir de visitas técnicas realizadas nos pomares e entrevistas com produtores e administradores, análise dos arquivos de monitoramento (no período de 2010 a 2015) e estratégias culturais e fitossanitárias (de 2012 a 2015). O resultado da enquête realizada junto aos produtores produziu nove módulos de indicadores, conceitualmente definidos a partir de estudos de pesquisa nacional e internacional. Estes módulos de indicadores foram agrupados de acordo com os efeitos sobre *G. molesta* em: efeito direto- frequência de inseticidas, rotação de inseticida, confusão sexual e flutuação, e efeito indireto- monitoramento, eliminação de frutos, controle de ácaros, herbicidas e isca-tóxica.

Para cada indicador e pomar foram aplicados **coeficientes de alteração** (CA = +3, +1, -1 e -3) para analisar o desempenho destas práticas, os quais variavam de -27 a +27 (9 módulos de indicadores \*  $\pm 3$ ). Valores positivos (+1 e +3) expressam fatores que promovem o equilíbrio da entomofauna, enquanto que valores negativos indicam fatores que promovem a instabilidade do agroecossistema. A soma dos CAs ( $\Sigma CA$ ) foi utilizada para definir quatro tipos de sistemas fitossanitários: Manejo Integrado de Pragas (MIP), com  $\Sigma CAs$  variando de 13,5 a 27,0; Boas Práticas Agrícolas (BPA) ( $\Sigma CAs$  de 1,0 a 13,4); Manejo Convencional (MC) ( $\Sigma CAs$  de 0 a -13,5) e Manejo Inadequado (MI) ( $\Sigma CAs$  de -13,5 a -27,0).

A definição de cada indicador e os critérios dos coeficientes de alteração são apresentados a seguir:

**Monitoramento de pragas.** Utilizado para determinar o nível populacional das principais pragas, *G. molesta* e *B. salubricola*, por meio de armadilha do tipo Delta com feromônio (Foto 2), e de *A. fraterculus* com armadilha do tipo McPhail com atrativo

alimentar composto por proteína hidrolisada (5%) ou suco de uva (25%). O número de armadilhas dependeu do tamanho de cada pomar, mas normalmente houve uma Delta à cada 3-4 ha e três McPhail à cada 5 ha. O monitoramento é usado para uma tomada de decisão para pulverização de produtos fitossanitários (Kovanci & Walgenbach, 2005), ao contrário de pulverização por calendário. O monitoramento para estas três principais pragas foi considerado como um fator positivo ( $CA = +3$ ). Quando o monitoramento foi realizado para uma única espécie, o valor do  $CA$  foi moderadamente positivo (+1); mas se a amostragem fosse parcial e não contínua durante o mesmo ciclo de produção, o valor de  $CA$  seria moderadamente negativo -1. Salienta-se que o valor totalmente negativo (-3) foi determinado para pomar sem monitoramento.



Foto 2. Armadilha do tipo Delta com feromônio e piso adesivo com machos de grafolita capturados (Foto: Lino B Monteiro)

**2.1.2. Controle biológico do ácaro vermelho, *P. ulmi*.** Na década de 90 e de 2000 foram construídas sete biofábricas de ácaros predadores, *Neoseiulus californicus* (McGregor) (Acari: Phytoseiidae) (Foto 3) no Sul do Brasil (Monteiro, 2002), sendo uma em Vacaria, São Joaquim e Lapa e quatro em Fraiburgo. Essa espécie de ácaro predador foi multiplicada e liberada em macieira para o controle de ácaro vermelho *P. ulmi*. Os ácaros predadores foram utilizados como biomarcadores para selecionar inseticidas menos tóxicos (Monteiro, 1993, 2001; Sato et al., 2002) nas áreas de liberação e nos pomares que receberam migrações naturais.

Se o controle de ácaro vermelho foi realizado apenas com ácaros predadores, então  $CA$  foi positivo (+3); o valor de  $CA$  será moderado de +1 se o controle fosse com ácaros predadores e houvesse a necessidade de acaricidas em 50% área do pomar; o controle realizado unicamente com uma única pulverização com acaricida tem valor

moderadamente negativo de -1 e completamente negativo (-3), quando for pulverizado com dois ou mais acaricidas por ciclo de produção.



Foto 3. Ácaro predador *Neoseiulus californicus* predando ácaro vermelho da macieira e sua morfologia (Foto: Lino B Monteiro)

**2.1.3. Herbicida.** A redução de ervas espontâneas com herbicidas prejudica a busca por alimento, desenvolvimento e refúgio de ácaros predadores (Monteiro et al., 2002). O CA foi positivo (+3) com uma pulverização de herbicida por ciclo vegetativo; o CA foi +1 com duas pulverizações; CA foi moderadamente negativo de -1 com três e CA foi completamente negativo (-3) com pulverizações igual ou superior a quatro.

**2.1.4. Eliminação de frutos na pós-colheita.** O objetivo desta prática é redução da fonte de pragas (Foto 4) e doenças no pomar para minimizar as pulverizações em pós-colheita e em pré-floração. O CA foi positivo (+3) quando o produtor eliminou totalmente os frutos após a colheita. A permanência de frutos exclusivamente nas macieiras polinizadoras teve CA igual a +1 (distribuição de cultivares polinizador-comerciais variaram de 10% a 50% das macieiras); enquanto que, o CA foi moderadamente negativo de -1 no caso de não ser colhido a totalidade das maçãs comerciais. O CA foi negativo (-3) quando a colheita foi seletiva, permanecendo macieiras comerciais e polinizadoras de um ciclo agrícola para o outro.



Foto 4. Maçãs com sintomas de danos causados por grafolita e galerias realizadas pelas lagartas (Foto: Lino B Monteiro)

**2.1.5. Isca tóxica.** Esta estratégia é definida como pulverizações seletiva nas bordaduras dos pomares com baixa vazão ( $\pm 60$  L/ha), contendo substâncias alimentares + inseticida para controle de mosca-das-frutas (Mangan & Moreno, 2007); a tomada de decisão é a partir do monitoramento. O benefício seria a redução de inseticidas em pulverização total da área, minimizando o impacto sobre pragas não alvos, como *P. ulmi*, *G. molesta* e *B. salubricola* (impacto sobre a resistência de pragas a inseticidas) e inimigos naturais como ácaros predadores, além dos parasitoides *Trichogramma pretiosum* Ridley (Hymenoptera: Trichogrammatidae) (Araújo et al., 2013) e *Aphelinus mali* (Haldeman) (Hymenoptera: Aphelinidae) (Monteiro et al., 2004a). O CA foi positivo (+3) quando ocorreram pulverizações seletivas de isca tóxica regulares nos três últimos ciclos vegetativos; CA foi +1 quando a isca tóxica foi usada em dois ciclos vegetativos e, em apenas um ciclo, foi moderadamente negativo de -1. O CA foi negativo (-3) quando não foi pulverizada isca tóxica no pomar e o controle de mosca-das-frutas foi somente com pulverização em cobertura total.

**2.1.6. Confusão sexual ou atrai-mata para o controle de *G. molesta*** (Foto 5). Essa estratégia proporciona redução significativa da mariposa oriental (Monteiro et al., 2008; 2013; Pastori et al., 2008; 2012) e menor pressão de seleção para resistência de tortricídeos, *G. molesta* e *B. salubricola* (Monteiro et al., 2020). O CA foi considerado positivo quando a técnica foi usada três anos antes do início e durante este estudo (+3); quando utilizada por dois anos sucessivos o valor foi +1. Pomares que nunca usaram a técnica foram negativos (-3), enquanto que o CA foi considerado moderadamente negativo (-1) para os pomares que usaram um ciclo produtivo antes do estudo.



Foto 5. Dispenser para confusão sexual. Isomate, Biolita, Cetro e Splat (Foto: Lino B Monteiro).

**2.1.7. Frequência da pulverização de inseticidas.** O número de aplicações de inseticidas tem impacto negativo sobre os inimigos naturais (Gonring et al., 1999; Monteiro, 2001; Araújo et al., 2013) e exerce pressão seletiva sobre os tortricídeos (Kanga et al., 2001; 2003; Siegwart et al., 2011; Bernardi et al., 2016). O valor **CA** positivo (+3) representou o menor impacto ambiental ( $\leq 6$  tratamentos); o **CA** moderado (+1) correspondeu de sete a nove inseticidas por ano. O **CA** foi moderadamente negativo (-1) com pulverizações de dez a doze. O **CA** foi considerado como impacto negativo (-3) com  $\geq 13$  pulverizações.

**2.1.8. Rotação de inseticidas.** A pulverização de inseticidas de um mesmo grupo químico está diretamente relacionada à seleção de resistência de tortricídeos (Kanga et al., 1997; 2003). Foi considerado rotação de um inseticida quando houve alternância de grupos químicos por ciclo produtivo. Assim, quando o controle químico para tortricídeos e mosca-das-frutas foi realizado com inseticidas pertencentes a três e quatro grupos químicos, o **CA** foi considerado positivo (+1 e +3, respectivamente); quando foram usados inseticidas de um único grupo químico foi considerado negativo (**CA** = -3) e moderadamente negativo (-1) quando foram usados inseticidas de dois grupos químicos.

**2.1.9. Flutuação de *G. molesta* após-tratamento.** Este módulo se referiu à média do número de *G. molesta* capturada no 10º dia após a aplicação de um inseticida. Para o cálculo foi utilizado a média das capturas nas armadilhas de um pomar homogêneo, em relação à variedade em cada região e entre 1º setembro e 31 de março. O indicador é válido para inseticidas do tipo aduicida para *G. molesta* e/ou para *B. salubricola* / *A. fraterculus*, em pomares com ambas as estratégias, confusão sexual (**CS**) e convencional sem confusão sexual (**SCS-CONV**). O **CA** foi considerado positivo (+3) com capturas de até quatro insetos após 10 dias; o **CA** foi de moderado (+1) quando houver capturas de 5 a 9 adultos. O **CA** foi completamente negativo (-3) com mais de 15 insetos e moderadamente negativo (-1) de 10 a 14 adultos.

**2.2. Agroecossistema macieira.** O estudo foi realizado em áreas tradicionais de cultivo da macieira no Sul do Brasil, as quais apresentam diferentes relevos e clima. Estudo preliminar definiu três agroecossistemas:

- i) Paralelo 25° com 750 m de altitude (**25°-750**): municípios de Campo do Tenente (25°58'41" S, 49°40'58" W, 798 m), Lapa (25°46'11" S, 49°42'57" W, 908 m) e Porto Amazonas (25°32'41" S, 49°53'25" W, 793 m) no estado do Paraná (PR);
- ii) Paralelo 27° e 28° com 950 m de altitude (**28°-950**) em Fraiburgo (27°01'34" S, 50°55'17" W, 1048 m) no estado de Santa Catarina (SC) e em Vacaria (28°30'44" S, 50°56'02" W) no estado do Rio Grande do Sul (RS);
- iii) Paralelo 28° acima de 1200 m de altitude (**28°-1200**) em São Joaquim (28°17'38" S, 49°55'54" W, 1353 m) e Urupema (28°17'38" S, 49°55'54" W, 1335 m) no estado de Santa Catarina (SC).

As áreas produtivas de maçã em São Joaquim (35%), Vacaria (35%) e Fraiburgo (12%) são responsáveis por 82% da produção nacional. A variedade mais cultivada nos estados de SC e RS é a ‘Gala’, seguida da ‘Fuji’, e no PR é a ‘Eva’ seguida de ‘Gala’. Visando padronizar a coleta de dados nos três agroecossistemas foi necessário definir as variedades e as datas. Para os pomares em Campo do Tenente, Lapa e Porto Amazonas o estudo foi feito na ‘Eva’ e ‘Gala’, cuja colheita se estendeu regularmente da primeira quinzena de dezembro à segunda quinzena de janeiro. Para Fraiburgo/Vacaria, o estudo foi realizado em ‘Gala’, com colheitas entre final de janeiro a final de fevereiro; para São Joaquim e Urupema a cultivar foi ‘Gala’, com colheita entre fevereiro e primeira quinzena de abril. O ciclo vegetativo foi definido de 1° de setembro a 31 de março, onde foram coletados os dados culturais e fitossanitários. Além disso, foi feita uma escala de representatividade dos dados em relação ao tamanho dos pomares: pomares menores de 50 ha os dados representaram a totalidade do pomar; pomares entre 70 e 100 ha os dados representaram 35% da área e pomares acima de 100 ha representaram 20%.

Foram selecionados 27 pomares de macieira, baseado no histórico de cada pomar e produção, representando em torno de 32% da área nacional. Desses, seis pomares se localizavam no estado do PR, dez em SC e onze no RS. Seis pomares entregavam sua produção às empresas especializadas na comercialização da fruta e os demais comercializavam os seus próprios frutos.

**2.3. Inseto.** Sete populações de *G. molesta* foram coletadas em pomares de macieira entre 2013/14 e 2014/15, nos agroecossistemas 25°-750 - PR e PRMD; 28°-950 – FRA1,

FRA2, VACMD, VAC1 e VAC2. Duas populações foram coletadas em pomares com confusão sexual para *G. molesta* durante três anos consecutivamente antes da coleta (PRMD e VACMD); uma população tem origem de um pomar, no qual, a confusão sexual foi instalada somente no último ano de estudo (Fischer), e outras quatro populações coletadas em pomar sem confusão sexual (PR, VAC1, FRA2 e VAC2). Além disso, duas populações foram coletadas como referência positiva: pomar orgânico de macieira (**S1**) sem produtos sintéticos; pomar familiar abandonado (**S2**), sem exploração comercial por três anos antes do início da pesquisa e, anteriormente, pulverizado durante 12 anos com inseticidas organofosforados. Finalmente, duas populações de laboratório de *G. molesta* foram usadas como referência negativa: população resistente a organofosforado (**R3**), coletada originalmente em 2005 em Vacaria (Siegwart et al., 2011) e multiplicada em dieta artificial por dez anos (cerca de 80 gerações) e submetida à seleção de pressão com fenitrothion (300 mg. L<sup>-1</sup>) e chlorpyrifos (300 mg. L<sup>-1</sup>); população resistente a chlorantraniliprole (**R2**), coletada originalmente em um pomar de Fraiburgo, pulverizada regularmente com dois chlorantraniliprole por ano (durante dois anos) e submetida à pressão de seleção em laboratório com chlorantraniliprole (10 mg. L<sup>-1</sup>) durante quinze meses.

Todas as populações foram multiplicadas no laboratório da Universidade Federal do Paraná com dieta artificial (Guennelon et al., 1981) e conduzidas à 25±1°C, 70% UR e fotoperíodo de 16:8 h (L:D). Os ovos foram obtidos em garrafa plástica (8 cm de Ø, 20 cm de comprimento) e colocados sobre a dieta contida em um recipiente (30 x 12 x 10 cm), onde ocorreu o desenvolvimento larval. Todas as populações de campo receberam novo material genético do mesmo pomar no segundo ano de coleta.

**2.4. Inseticida.** A susceptibilidade de larvas de *G. molesta* foi testada em relação ao inseticida benzoilureia lufenuron (Rimon® 100 EC, 100 g.L<sup>-1</sup>, Milenia AgroScience, Londrina, Brasil); à antranilamida chlorantraniliprole (Altacor 350 WG, 350 g.kg<sup>-1</sup>, Dupont do Brasil, Barueri, Brasil) (diamida); aos organofosforados chlorpyrifos (Lorsban® 480 BR, 480 g.L<sup>-1</sup>, Dow AgroSciences, São Paulo, Brasil) e fenitrothion (Sumithion 500 CE, 500 g.L<sup>-1</sup>, Sumitomo, São Paulo, Brasil). Sete concentrações foram definidas a partir dos testes piloto. Diluições novas de formulações de inseticidas foram preparadas em água destilada para os testes em neonatas (larvas recém-eclodidas). A nomenclatura adotada para os nomes de ingrediente ativos de inseticidas e seus grupos

químicos foram normalizados no texto de acordo com IRAC-BR (<https://www.irac-br.org/documentos-tecnicos>)

**2.5. Testes toxicológicos.** Os testes foram publicados por Monteiro et al. (2020). Poços de uma microplaca (96 poços, Kasvi, China) (Foto 6) foram preenchidos com 150 µl de dieta de lepidópteros (Soybean-Wheat Germ Insect Diet, Stonefly Industries, TX, EUA) e 6 µl de cada concentração de solução de inseticida depositada na superfície da dieta, de acordo com Reyes & Sauphanor (2008) e Siegwart et al. (2011). Sete concentrações entre 0% e 100% foram usadas após o estabelecimento da resposta de concentração para cada inseticida. Após 20 minutos de secagem a  $22\pm 2^{\circ}\text{C}$ , uma larva recém-eclodida (inferior a 3 h de idade) foi colocada individualmente em cada poço. A mortalidade foi registrada após sete dias à  $25^{\circ}\text{C}$  por concentração (n= 24) (total de 7 concentrações= 168 larvas), realizando três réplicas (n= 504 larvas). Os poços foram fechados com parafilme para evitar a perda de larvas e a desidratação da dieta. As larvas foram consideradas mortas ao não responder ao toque de um pincel. Essas foram avaliadas aos sete dias após o tratamento com os inseticidas organofosforados e antranilamidas, e dez dias para benzoilureia. O teste foi conduzido a  $25\pm 1^{\circ}\text{C}$ , 70% UR e fotoperíodo de 16:8 h (L:D).



Foto 6. Microplaca com dieta, lagarta de 2º instar e de 4º instar vivas; lagarta morta com inseticida (Foto: Lino B Monteiro)

**2.6. Análise da atividade enzimática.** A atividade das enzimas acetilcolinesterase (AChE), glutationa-S-transferase (GST),  $\alpha$  esterase ( $\alpha$ -EST) e  $\beta$  esterase ( $\beta$ -EST) foi avaliada em larvas (Monteiro et al., 2020). Para isso, 50 larvas de terceira geração por população, entre 4º e 5º ínstaes, foram analisadas em 10 *pools* (cinco larvas). Os poços foram homogeneizados na proporção de 1:10 (v:v) com tampão de fosfato de potássio 0,1 M (pH 7,0), usando um microhomogenizador e, então, centrifugados por 20 min. (10.000 xg a  $4^{\circ}\text{C}$ ). O sobrenadante, utilizado para determinar a atividade enzimática, foi

mantido em freezer a  $-80^{\circ}\text{C}$  até a análise. Fluorescente e absorbância foram medidas por leitor de microplacas (Tecan AG, Männedorf, Suíça). A atividade da AChE foi determinada de acordo com Ellman et al. (1961) e adaptada para análises de microplacas por Silva de Assis (1998). A atividade de GST foi determinada de acordo com Keen et al. (1976). A atividade de esterase inespecífica total foi medida com  $\alpha$ -naftil acetato ( $\alpha$ -NA) e atividade de  $\beta$ -naftil ( $\beta$ -NA), de acordo com Brasil (2006) (Foto 7).

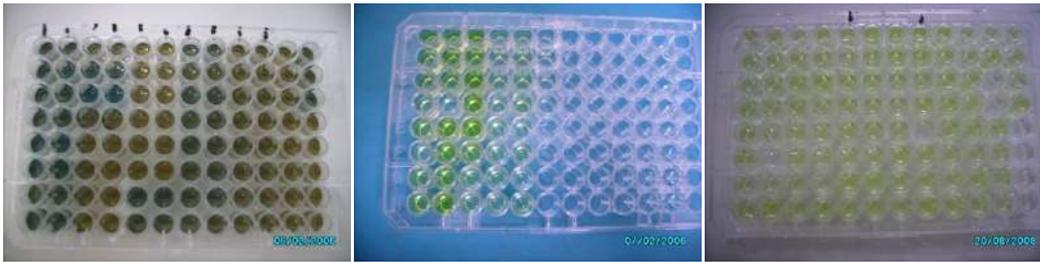


Foto 7. Análise enzimática por microplacas. Medição de proteína e naftil.

**2.7. Análise estatística.** Uma análise de probit nas mortalidades corrigidas (Abbott, 1925) foi feita para determinar os valores de  $CL_{50}$  (Russel et al., 1977) e estimar  $CL_{95}$ . A resistência **RS** ( $RS1CL_{50}$  ou  $RS1CL_{95}$ ) foi calculada pela razão entre a  $CL_{50} - CL_{95}$  da população de campo e  $CL_{50} - CL_{95}$  da população **S1**; e em relação às populações resistentes (**RR**) ( $RR2-RR3CL_{50}$  ou  $RR2-RR3CL_{95}$ ) foi calculada pela razão entre a  $CL_{50} - CL_{95}$  das populações de campo e  $CL_{50} - CL_{95}$  das populações resistentes (**R2** e **R3**). O mesmo foi utilizado para a relação das atividades enzimáticas ( $RAE = S1AE, R2AE$  e  $R3AE$ ). As populações resistentes (**R2**) foram utilizadas para o bioensaio de chlorantraniliprole e lufenuron e as populações resistentes (**R3**) para chlorpyrifos e fenitrothion. Os dados das enzimas foram detectados pela análise de variância, as médias foram comparadas usando o teste de Tukey ( $P < 0,05$ ) no software R (Bell Laboratories, Murray Hill, NJ).

### 3. RESULTADOS

**3.1. Indicadores culturais e fitossanitários.** O AMBITEC-AGRO permitiu a caracterização do status do manejo fitossanitário de pomares de macieira (n= 27). O somatório dos coeficientes de alteração ( $\Sigma$ CAs) positivos (+3 e +1) mostrou que o indicador **monitoramento** foi o mais utilizado nos pomares (92,6% dos pomares), seguido da **eliminação de frutos** (76,5%) e da pulverização de **isca tóxica** para controle de mosca-das-frutas (69,1%), enquanto que, adoção de **controle biológico aplicado de ácaros** foi verificada em apenas 58,0% dos pomares. Ainda como **CAs** positivos, 70,4% dos pomares capturaram menos de **10 adultos de *G. molesta* por armadilha após 10 dias** da pulverização com inseticida. A técnica de **confusão sexual** foi utilizada em 48% dos pomares (n= 13) nos três anos antes e durante a coleta de dados. No último ano, 56% dos pomares instalaram a técnica de confusão sexual, sendo que, SJ1 investiu no segundo ano de estudo e FRA1 no terceiro; esses dois últimos não foram considerados pomares com confusão sexual.

Por outro lado, o  $\Sigma$ CAs negativos (-1 e -3) mostrou que a **frequência de inseticidas** com mais de dez pulverizações ocorreu em 66,7% dos pomares, enquanto que, a **rotação de inseticidas** com um ou dois grupos químicos foi realizada em 49,4% dos pomares. As pulverizações com **herbicidas**, igual ou maior do que três aplicações ocorreram em 60,4% dos pomares.

Os módulos de indicadores foram agrupados de acordo com influência sobre o manejo de *G. molesta*: efeito direto (frequência de inseticida, rotação, confusão sexual e flutuação) e efeito indireto (monitoramento, eliminação de frutos, controle de ácaros, herbicidas e isca-tóxica). Se considerarmos o agrupamento efeito indireto, verificou-se que o  $\Sigma$ CAs positivos ocorreu em 81% dos pomares (n= 22) (Fig. 1), embora somente 18 desses pomares pontuaram acima de 33,3% do  $\Sigma$ CAs positivos possível de ser conseguido em três anos (**CAs  $\geq 1$** = varia de 27 a 81) (VACMD, VACMD1, VACMD2, VACMD3, VACMD4, FRAMD1, FRAMD2, FRAMD3, PRMD, PRMD1, PRMD2, VAC1, VAC3, VAC4, FRA1, FRA2, SJ1 e SJ3).

No agrupamento efeito direto, o  $\Sigma$ CAs positivos ocorreu em 52% dos pomares (n= 14); entretanto, apenas nove pomares contabilizaram pontuação acima de 33,3% do

$\Sigma$ CAs possíveis nos três anos (VACMD1, VACMD2, VACMD3, VACMD4, FRAMD2, FRAMD3, PRMD, PRMD1 e PRMD2) (Fig. 1).

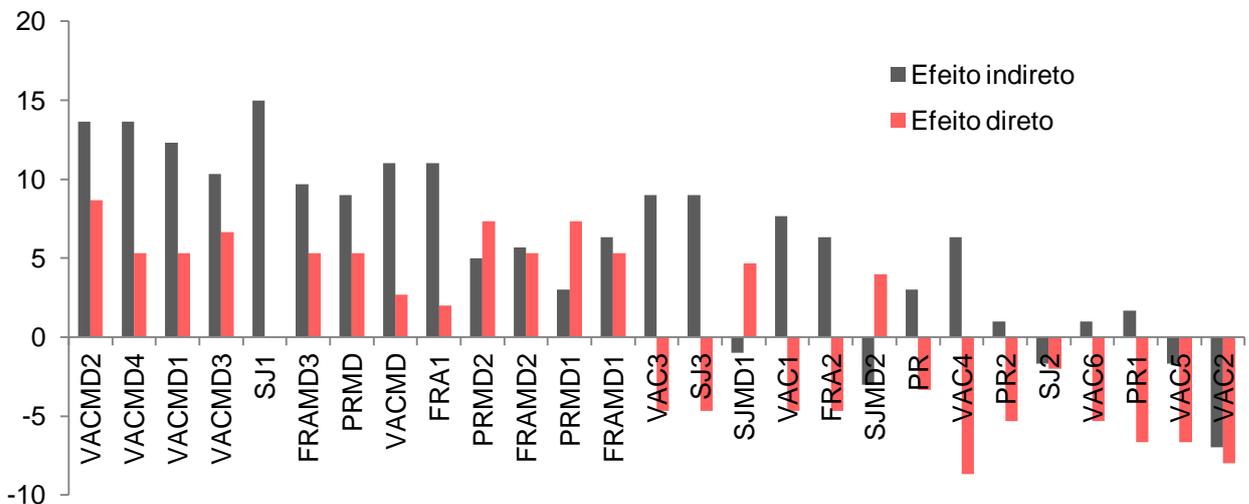


Figura 1. Média do somatório dos coeficientes de alteração aplicados em 27 pomares de macieira no Sul do Brasil, agrupados efeito direto e indireto sobre *G. molesta*, entre 2010/2011 a 2014/2015, usando a plataforma AMBITEC-AGRO (Rodrigues et al., 2003).

**3.2. Status fitossanitário e agroecossistema macieira.** No agroecossistema 28°-950 houve sete pomares com status de **MIP** (43,7%) (VACMD, VACMD1, VACMD2, VACMD3, VACMD4, FRAMD3, PRMD, FRA1), cinco pomares com status de **BPA** (31%), três pomares classificado com **MC** (18,0%) e um com o status **MI**. Em relação ao 28°-1200 houve somente um pomar **MIP** (20%), três **BPA** (60%) e um **MC** (20%), enquanto que, no 25°-750 houve um **MIP** (16,7%), dois **BPA** (33,3%) e três **MC** (50%). Nas Tabelas 1 e 2 estão apresentados a porcentagem e o status fitossanitário dos 27 pomares de acordo com o agroecossistema (25°-750, 28°-950 e 28°-1200) e em função das estratégias de **CS** e **SCS-CONV**.

O  $\Sigma$ CAs médio e positivo dos agrupamentos efeito indireto e direto variou de 80% a 100% e de 50% a 75% da pontuação máxima nos pomares com status de **MIP**, respectivamente; o  $\Sigma$ CAs oscilou de 40% a 80% e de 25% a 75% em pomares com o status de **BPA**, respectivamente; o  $\Sigma$ CAs variou de 40% a 60% e de 0% a 50% para pomares **MC**; o  $\Sigma$ CAs médio foi nulo, não havendo CA positivo no pomar com status **EI**.

Tabela 1. Porcentagem de pomares classificados como MIP, BPA, MC e MI em função do somatório dos coeficientes de alteração proposto por AMBITEC-AGRO (Rodrigues et al., 2003) para cada agrossistema e estratégia de controle utilizada.

Status fitossanitário <sup>1</sup>	Agroecossistema / Estratégia fitossanitária <sup>2</sup>					
	25°-750		28°-1200		28°-950	
	CS	SCS	CS	SCS	CS	SCS
MIP	33,0	0,0	0,0	33,3	75,0	12,5
BPA	66,7	0,0	100,0	33,3	25,0	37,5
MC	0,0	100,0	0,0	33,3	0,0	25,0
MI	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	12,5

<sup>1</sup> MIP- manejo integrado de pragas, BPA- boas práticas agrícolas, MC- manejo convencional, MI- Manejo inadequado; <sup>2</sup> CS- confusão sexual para *G. molesta*; SCS- sem confusão sexual para *G. molesta*.

Tabela 2. Status fitossanitário de 27 pomares de macieira no Sul do Brasil, de acordo com o somatório dos coeficientes de alteração proposto por AMBITEC-AGRO (Rodrigues et al., 2003), indicando o agroecossistema e a estratégia de controle.

Pomares	Status	Agroecossistema	Estratégia
VACMD	MIP	28°-950	CS
VACMD1	MIP	28°-950	CS
VACMD2	MIP	28°-950	CS
VACMD3	MIP	28°-950	CS
VACMD4	MIP	28°-950	CS
FRAMD1	BPA	28°-950	CS
FRAMD2	BPA	28°-950	CS
FRAMD3	MIP	28°-950	CS
FRA1	MIP	28°-950	SCS-CONV <sup>1</sup>
FRA2	BPA	28°-950	SCS-CONV
VAC1	BPA	28°-950	SCS-CONV
VAC2	MI	28°-950	SCS-CONV
VAC3	BPA	28°-950	SCS-CONV
VAC4	MC	28°-950	SCS-CONV
VAC5	MC	28°-950	SCS-CONV
VAC6	MC	28°-950	SCS-CONV
SJMD1	BPA	28°-1200	CS
SJMD2	BPA	28°-1200	CS
SJ1	MIP	28°-1200	SCS-CONV <sup>2</sup>
SJ2	MC	28°-1200	SCS-CONV
SJ3	BPA	28°-1200	SCS-CONV
PRMD	MIP	25°-750	CS
PRMD1	BPA	25°-750	CS
PRMD2	BPA	25°-750	CS
PR	MC	25°-750	SCS-CONV
PR1	MC	25°-750	SCS-CONV
PR2	MC	25°-750	SCS-CONV

<sup>1</sup> - Pomar de macieira que instalou confusão sexual no último ano de avaliação; <sup>2</sup> - pomar de macieira que instalou confusão sexual nos dois últimos anos de avaliação. MIP- manejo integrado de pragas; BPA - boas práticas agrícolas; MC- manejo convencional; MI- Manejo inadequado; 25°-750- paralelo 25° com 750 m de altitude; 28°-950- paralelo 27° e 28° com 950 m de altitude; 28°-1200- paralelo 28° acima de 1200 m de altitude; CS- pomar com confusão sexual para *G. molesta*; SCS-CONV- pomar sem confusão sexual.

**3.3. Técnica de Confusão sexual.** Dentre os pomares que usaram **CS** durante seis anos (n=13), sete foram classificados status fitossanitário de **MIP** (54%) (VACMD, VACMD1, VACMD2, VACMD3, VACMD4, FRAMD3 e PRMD), seis pomares (46%) tiveram status de **BPA**, nenhum como **MC** e **MI**. Para os pomares que não usaram confusão sexual (SCS-CONV) (n=14), dois pomares tiveram o status de **MIP**, apenas quatro pomares tiveram o status de **BPA** (29%), sete pomares foram considerados **MC** (50%) e um classificado como **MI** (VAC2). Nota-se que os dois pomares SCS-CONV com status **MIP**, adotaram parcialmente a formulação de confusão sexual no último e no antepenúltimo ano de avaliação (FRA1 e SJ1, respectivamente).

### 3.4. Monitoramento de *G. molesta*

**3.4.1. Monitoramento geral.** Em geral, as capturas se diferenciam temporalmente, significativamente maiores em 2010/11 e 2011/12 ( $\mu= 10,1$ ) em relação aos três últimos anos (2012 a 2014) ( $\mu= 5,6$ ) (dl=4,  $F=13,87$ ,  $p= <0,0001$ ) (Fig. 2).

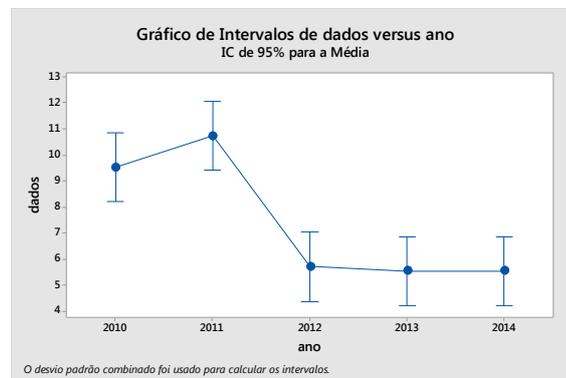


Figura 2. Captura média anual de *G. molesta* em 27 pomares de macieira no sul do Brasil (2010/11 a 2014/15).

A média das capturas em todos os 27 pomares por semana é apresentada na Fig. 3. As maiores capturas ocorreram em setembro de cada ano (38° a 40° semana do ano) (dl=31,  $F= 4,51$ ,  $p= <0,0001$ ) (Fig. 3).

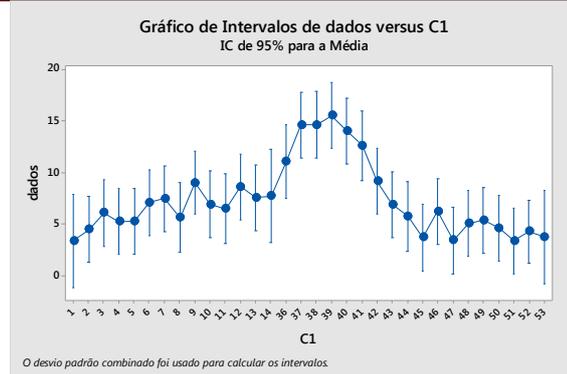


Figura 3. Número médio de capturas de *Grapholita molesta* (cinco anos) por semana em 27 pomares em três agroecossistemas (latitude 28° e altitude de 950m; 28°-1200; 25°-750), em função das semanas de monitoramento (2010/11 a 2014/15).

**3.4.2. Monitoramento x confusão sexual.** A média geral de capturas de *G. molesta* nos pomares de **CS** ( $\mu= 3,7$ ) foi significativamente menor do que nos pomares **SCS-CONV** ( $\mu= 11,1$ ) ( $dl=2$ ,  $F= 155,57$ ,  $p= <0,0001$ ). Para os pomares que usaram **CS**, o pico de capturas ocorreu entre 39° e 40° semana (de 21 a 27 de setembro) ( $dl= 31$ ,  $F= 4,44$ ,  $p= <0,0001$ ) (Fig. 4). Nos pomares **SCS-CONV**, as capturas se diferenciaram entre as semanas de monitoramento ( $dl= 1$ ,  $F= 2,13$ ,  $p= <0,0001$ ), mas a distribuição foi mais elevada e homogênea a partir da 5° semana (entre fevereiro e outubro) (Fig. 5), diferente do que verificado em pomares **CS**.

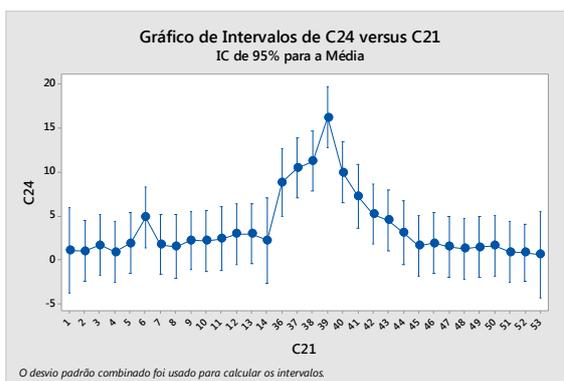


Figura 4. Número médio de *Grapholita molesta* em pomares **com** confusão sexual durante 32 semanas (2010/11 a 2014/15).

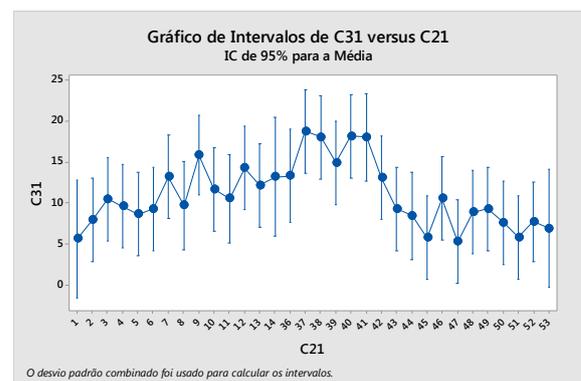


Figura 5. Número médio de capturas de *Grapholita molesta* em pomares **sem** confusão sexual durante 32 semanas (2010/11 a 2014/15).

**3.4.3. Monitoramento x agroecossistema.** Houve diferenças de capturas de *G. molesta* entre os três agroecossistemas ( $dl=2$ ,  $F= 117,91$ ,  $p= <0,0001$ ), com médias de 2,0, 12,8 e 7,3 capturas para 28°-1200, 28°-950 e 25°-750, respectivamente (Fig. 6).

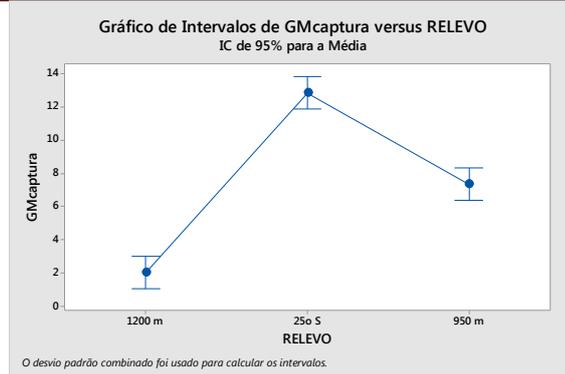


Figura 6. Captura média de *G. molesta* em função de três agroecossistemas (25°-750, 28°-950 e 28°-1200) ocorrida entre 2010/11 e 2014/15.

A flutuação populacional de *G. molesta* tende a ser mais elevada na ausência de inseticidas, isto é, início da primavera e pós-colheita. As capturas de *G. molesta* se diferenciaram ( $dl=5$ ,  $F=92,20$ ,  $p= <0,0001$ ) em ambas estratégias (CS e SCS-CONV) (Fig. 7a) e nos três agroecossistemas entre 01 de setembro e 31 de março (2010/2011 a 2014/2015) (Fig. 7b).

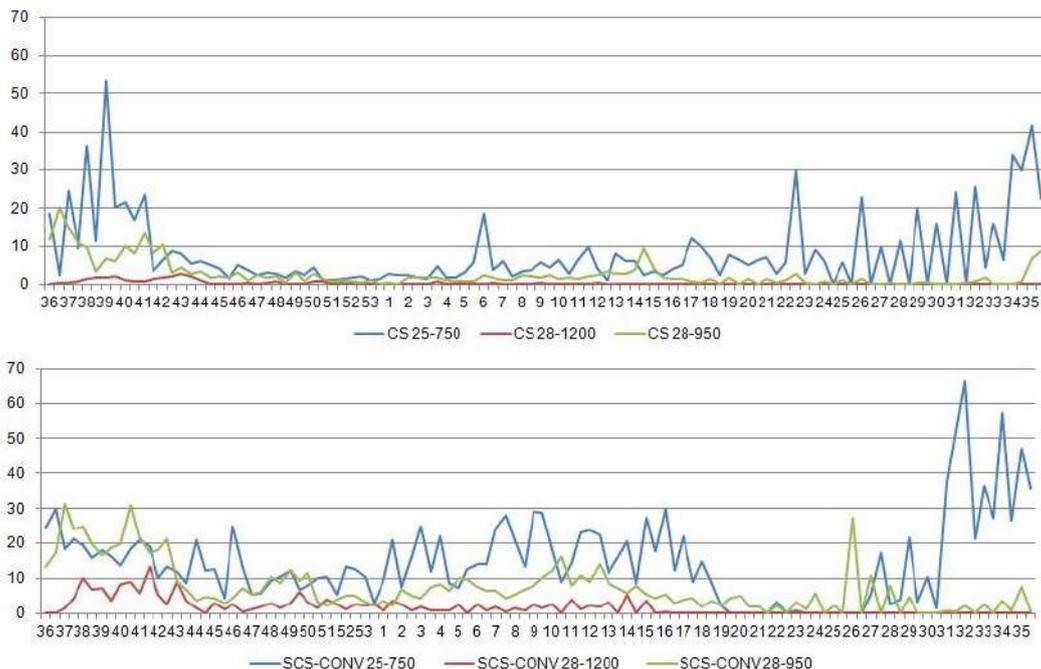


Figura 7a. Capturas médias de *G. molesta* por semana, iniciando em 1° de setembro de cada ano em pomares com confusão sexual (CS) e convencional (SCS-CONV) em três agroecossistemas (25°-750, 28°-950 e 28°-1200) durante cinco anos.

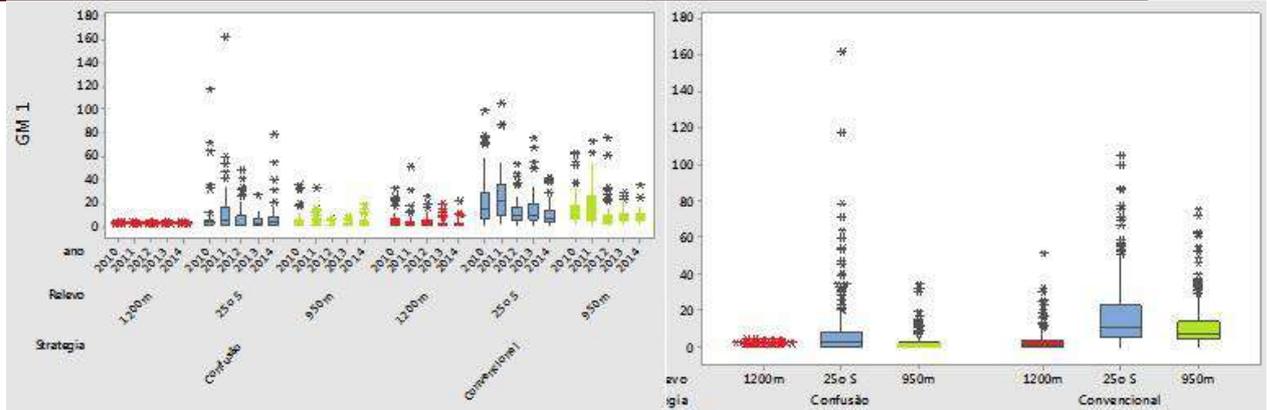


Figura 7b. Boxplot de capturas de *G. molesta* por ano (esquerda) e média (direita) em pomares com confusão sexual e convencional (sem confusão sexual) em três agroecossistemas (25°-750, 28°-950 e 28°-1200) durante cinco anos e em 32 semanas de monitoramento.

Observa-se que a influência da latitude/altitude impõe uma redução de capturas médias de *G. molesta* em ambas as estratégias (CS e SCS-CONV) no agroecossistema 28°-1200 em relação aos demais 28°-950 e 25°-750 (Tabela 3).

Tabela 3. Capturas de *G. molesta* no Sul do Brasil em duas estratégias (CS e SCS-CONV) e três agroecossistemas.

Estratégia	N	Média	DesvPad	IC de 95%
Com confusão sexual 25°-750	302	7,9	16,036	(6,671; 9,287)
Com confusão sexual 28°- 950	302	2,7	4,852	(1,413; 4,029)
Com confusão sexual 28°-1200	302	0,5	0,9303	(-0,7582; 1,8575)
Sem confusão sexual 25°-750	302	17,7	18,26	(16,40; 19,02)
Sem confusão sexual 28°-950	302	11,9	12,575	(10,680; 13,296)
Sem confusão sexual 28°-1200	302	3,5	5,705	(2,196; 4,812)

Considerando as capturas totais **acumuladas** nas 32 semanas de monitoramento (primavera e verão), contabilizando ambas as estratégias fitossanitárias, verifica-se que se mantém uma diferença entre os agroecossistemas ( $dl=1$ ,  $F= 569.76$ ,  $p<0,0001$ ) (Fig. 8).

As capturas médias **acumuladas** no período de primavera, entre 36° e 53° semanas de monitoramento de *G. molesta*, mostrou uma diferença significativa entre os agroecossistemas 25°-750, 28°-1200 e 28°-950 para os pomares CS ( $dl= 2$ ,  $F= 259,96$ ,  $p= <0,0001$ ), com 1.349,5; 51,5 e 624,3 adultos capturados, respectivamente, e para os pomares SCS-CONV ( $dl=2$ ,  $F= 171,06$ ,  $p<0,0001$ ), com 2.876,0; 409,2 e 3.022,0

adultos capturados, respectivamente. Houve 213,0%, 794,6% e 484,1% capturas a mais nos pomares **SCS-CONV** do que nos de **CS** para os agroecossistemas 25°-750, 28°-1200 e 28°-950, respectivamente.

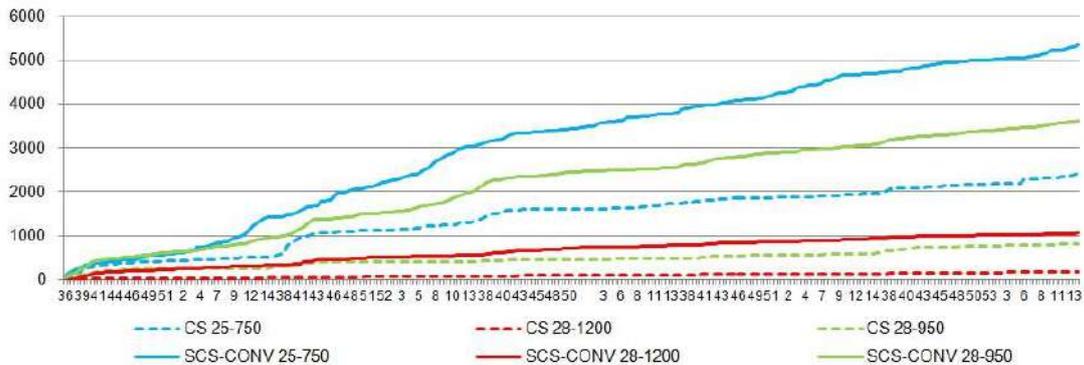


Figura 8. Capturas **acumuladas** de *G. molesta* em três agroecossistemas e duas estratégias de controle em 32 semanas (1° de setembro a 31 de março) durante cinco anos.

O mesmo se verificou para as capturas médias **acumuladas** no período entre 1° e 14° semana (janeiro a março) de monitoramento de *G. molesta*; houve diferenças significativas entre os agroecossistemas 25°-750, 28°-1200 e 28°-950 para os pomares **CS** (dl= 2, F= 192.05, p= <0,0001), com 1.509,6, 47,0 e 680,6 adultos capturados, respectivamente, e para os pomares **SCS-CONV** (dl=2, F= 134.75, p=<0,0001), com médias de 3.389, 403,7 e 3.240,0 adultos capturados, respectivamente. Houve 224,5%, 1.690,6% e 476,1% capturas a mais nos pomares **SCS-CONV** do que nos de **CS** para os agroecossistemas 25°-750, 28°-1200 e 28°-950, respectivamente.

Esses dados sugerem que o ‘potencial de dano’ promovido pela flutuação de grafolita em pomares **SCS-CONV** no agroecossistema 28°-1200 é 8,6 maiores do que em pomares **CS**, enquanto que essa pressão é menor nos 25°-750 e 28°-950, em torno de 2,2 e 4,8 vezes maiores no **SCS-CONV**, respectivamente.

**3.5. Frequência de inseticida.** No Agrupamento efeito direto, o indicador inseticida foi aquele que mais influenciou o  $\Sigma$ CAs negativos. O número médio de aplicações de inseticidas por ano nos 27 pomares foi de 11,1 pulverizações, mas este valor foi influenciado pela altitude e latitude. Em geral, os pomares situados em 25°-750 ( $\mu$ = 8,7 inseticidas/anos) e em 28°-1200 ( $\mu$ = 9,4) pulverizaram menos em relação aos situados à 28°-950 (n=16) ( $\mu$ = 12,5).

Pomares **CS** no 25°-750 (PRMD, PRMD1 e PRMD2) tiveram 8,2 inseticidas por ano, contra 9,1 para **SCS-CONV** (PR2, PR1 e PR); pomares com **CS** no 28°-1200 (SJMD1, SJMD2) foram pulverizados em média 7,7 vezes e nos **SCS-CONV** foram 11,0 pulverizações (SJ1, SJ2 e SJ3) (Tabela 4). A mesma tendência se verificou nos pomares **CS** no 28°-950 (VACMD, VACMD1, VACMD2, VACMD3, VACMD4, FRAMD1, FRAMD2 e FRAMD3) com 10,6 inseticidas por ano contra 14,3 pulverizações em **SCS-CONV** (VAC1, VAC2, VAC3, VAC4, VAC5, VAC6, FRA1 e FRA2).

Tabela 4. Número médio pulverização com inseticidas por ano em pomares de macieira com ou sem confusão sexual para *G. molesta* e em três agroecossistemas no sul do Brasil, avaliação realizada de 2010/11 a 2014/15.

Agroecossistema >>>	Estratégia de controle de <i>G. molesta</i>					
	Confusão sexual			Sem confusão sexual		
	25°-750	28°-1200	28°-950	25°-750	28°-1200	28°-950
Número de inseticida	8,2	7,7	10,6	9,1	11,0	14,3

Os organofosforados foram os mais utilizados nos três agroecossistemas (Tabela 5). Nos pomares situados a 25°-750 pulverizaram 76,0% e 83,0% com inseticidas fosforados do total de inseticidas para a estratégia **CS** (n= 6,2 pulverizações por ano) e **SCS-CONV** (n= 7,6), respectivamente. Naqueles pomares situados a 28°-950 pulverizaram 71,0% e 73,0% com organofosforados em **CS** (n= 7,5 pulverizações por ano) e em **SCS-CONV** (n= 10,5), respectivamente. O maior número de pulverizações de inseticidas organofosforados ocorreu nos pomares no 28°-1200, sendo 98,0% em **CS** (n= 7,5 inseticidas por ano) e 92,0% em **SCS-CONV** (n= 10,1), respectivamente.

Chlorantraniliprole foi usado somente nos agroecossistemas 25°-750 e 28°-950, sendo que, nesse último agroecossistema, foi pulverizado 85,5% de todo o antranilamida utilizado nestes três anos de estudo. Além disso, a estratégia **SCS-CONV** no 25°-950 teve o maior número de pulverizações com chlorantraniliprole (59,4%), contra 26,5% nos pomares com **CS** 28°-950. O mesmo ocorreu com inseticidas neonicotinoides, pois 93,0% destes inseticidas foram pulverizados no 28°-950, sendo que desses, 58,1% foram em pomares com **SCS-CONV**.

O uso de inseticidas do grupo benzilureia foi maior em **CS** do que em **SCS-CONV** nos agroecossistemas 25°-750 e 28°-950, enquanto que no 28°-1200 houve a menor porcentagem de uso. Quase todos os inseticidas neonicotinoides foram pulverizados nos pomares 28°-950 (93%). Os demais grupos foram utilizados em poucos pomares.

Tabela 5. Porcentagem e número médio por ano de inseticidas por grupos químicos pulverizados em função do agroecossistema e da estratégia de controle para *G. molesta* em 27 pomares de macieira no sul do Brasil, avaliados de 2010/11 a 2014/15.

Grupos químicos	Agroecossistema <sup>1</sup> / Estratégia de controle <sup>2</sup>											
	25°-750				28°-1200				28°-950			
	CS		SCS-CONV		CS		SCS-CONV		CS		SCS-CONV	
	%	μ	%	μ	%	μ	%	μ	%	μ	%	μ
Organofosforado	75,7	6,2	82,9	7,6	97,8	7,5	91,9	10,1	70,9	7,5	73,0	10,5
Antranilamida	6,8	0,8	4,9	1,3	0,0	0,0	0,0	0,0	6,7	1,4	11,0	1,6
Benzilureia	14,9	1,8	7,3	1,0	2,2	0,3	6,1	1,0	10,6	1,3	6,7	1,3
Neonicotinoide	2,7	0,3	0,0	0,0	0,0	0,0	1,0	0,3	9,8	1,4	4,4	1,0
Biológico	0,0	0,0	1,2	0,3	0,0	0,0	1,0	0,3	1,2	0,3	1,2	0,4
Éter difenílico	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,4	0,3	2,0	1,2
Piretroide	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,4	0,3	0,9	0,5
Spinosad	0,0	0,0	3,7	1,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Carbamato	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,9	0,3

<sup>1</sup>25°750: Lapa, Campo do Tenente e Porto Amazonas; 28°-950: Fraiburgo e Vacaria; 28°-1200: Urupema e São Joaquim; <sup>2</sup>CS- confusão sexual; SCS- sem confusão sexual.

**3.6. Rotação de inseticidas de diferentes grupos químicos.** A rotação de inseticidas de  $\geq 3$  grupos químicos foi realizada em 48%, 52% e 52% dos pomares em 2012/13, 2013/14 e 2014/15, respectivamente.

De acordo com o manejo fitossanitário, a porcentagem de pomares que usaram  $\leq 2$ , 3 e 4 grupos químicos por ano nas estratégias com **CS** foi de 54%, 31% e 15% e **SCS-CONV** foi de 43%, 36% e 21%, respectivamente.

Levando em consideração o agroecossistema, a rotação com  $\geq 3$  grupos químicos ocorreu em 13 pomares no 28°-950: cinco pomares com **CS** (VACMD1, VACMD2, VACMD3, FRAMD1 e FRAMD3) e sete pomares **SCS-CONV** (VAC1, VAC2, VAC3, VAC5, VAC6, FRA1 e FRA2); no agroecossistema 25°-750 houve um pomar com **CS**

(PRMD2) e um pomar SCS-CONV (PR). Pomares no 28°-1200 pulverizaram inseticidas de 1 ou 2 grupos químicos (Fig. 9).

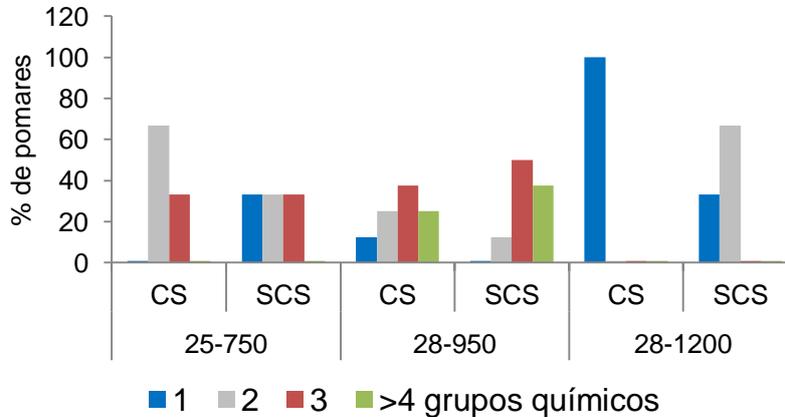


Figura 9. Porcentagem de pomares de macieira que pulverizaram inseticidas de diferentes grupos químicos (1, 2, 3 e 4) de acordo com o agroecossistema e estratégia de controle durante três anos (CS- confusão sexual; SCS- sem confusão sexual).

De uma forma geral, os inseticidas organofosforados foram os mais pulverizados (77%), seguidos de benzoilureia (8,2%), antranilamida (7,1%) e neonicotinoide (4,8%). Os inseticidas do grupo biológico, éter difenílico, piretroide, spinozad e carbamato foram pulverizados em torno de 3%. A Tabela 6 resume a porcentagem de inseticidas de cada grupo químico pulverizado nos pomares de macieira, de acordo com o agroecossistema e as estratégias CS e SCS-CONV.

Tabela 6. Porcentagem média inseticidas de diferentes grupos químicos pulverizados em 27 pomares de macieira localizados em três agroecossistemas e sob a influência de duas estratégias de controle de *G. molesta* (CS- confusão sexual; SCS- sem confusão sexual), durante três anos.

Estratégias	Grupos químicos	Agroecossistema		
		25°-750	28°-950	28°-1200
Confusão Sexual	Organofosforado	75,7	70,8	97,8
	Antranilamida	6,7	6,7	0,0
	Benzoilureia	14,9	10,6	2,2
	Neonicotinoide	2,7	9,8	0,0
Sem confusão sexual	Organofosforado	82,9	72,9	91,9
	Antranilamida	4,8	11,0	0,0
	Benzoilureia	7,3	6,6	6,1
	Neonicotinoide	0,0	4,3	1,0

Os pomares VACMD, FRAMD2, VACMD4, SJMD1, VAC4, SJMD2, SJ1, SJ2, SJ3, PRMD, PRMD1, PR1 e PR2 foram os pomares que fizeram regularmente a menor rotação por ano, variando de um a dois grupos químicos.

**3.7. Flutuação de insetos no 10º dia após a pulverização.** Todos os pomares que usaram confusão sexual nos três agroecossistemas capturaram  $\leq 4$  adultos no 10º dia após a pulverização (Fig. 10) (VACMD, VACMD1, VACMD2, VACMD3, VACMD4, FRAMD1, FRAMD2, FRAMD3, SJMD1, SJMD2, PRMD, PRMD1 e PRMD2).

Dentre os pomares que não utilizaram confusão sexual (SCS-CONV), dois pomares capturaram na classe  $\leq 4$  adultos (SJ1 e SJ2), três pomares na classe 5 e 9 (SJ3, FRA1 e VAC1), cinco pomares capturaram na classe 10 e 14 (VAC3, FRA2, PR, PR1 e PR2) e quatro pomares acima de 15 grafolitas (VAC2, VAC4, VAC5 e VAC6).

No agroecossistema 25º-750 houve três pomares na classe  $\leq 4$  adultos (PRMD, PRMD1 e PRMD2) e três pomares na classe 10 a 14 adultos (PR, PR1 e PR2); no agroecossistema 28º-1200 houve quatro pomares que capturaram na classe  $\leq 4$  adultos (SJMD1, SJMD2, SJ1 e SJ2) e um na classe 5 a 9 adultos (SJ3); no agroecossistema 28º-950, a metade dos pomares capturaram na classe  $\leq 4$  adultos (todos CS), dois pomares na classe 5 a 9 adultos (FRA1 e VAC1), dois pomares na classe 10 a 14 adultos (FRA2 e VAC3) e quatro pomares na classe superior a 15 capturas (VAC2, VAC4, VAC5 e VAC6).

Considerando os pomares que deram origem as populações para teste toxicológico e bioquímico, nos pomares PRMD e VACMD capturaram o menor número de adultos no 10º dia após pulverização ( $\leq 4$  adultos); os pomares VAC1 e FRA1 se enquadraram na classe 5 a 9, os pomares PR e FRA2 capturaram grafolitas na classe 10 a 14, enquanto que no pomar VAC2 capturou acima de 15 indivíduos.

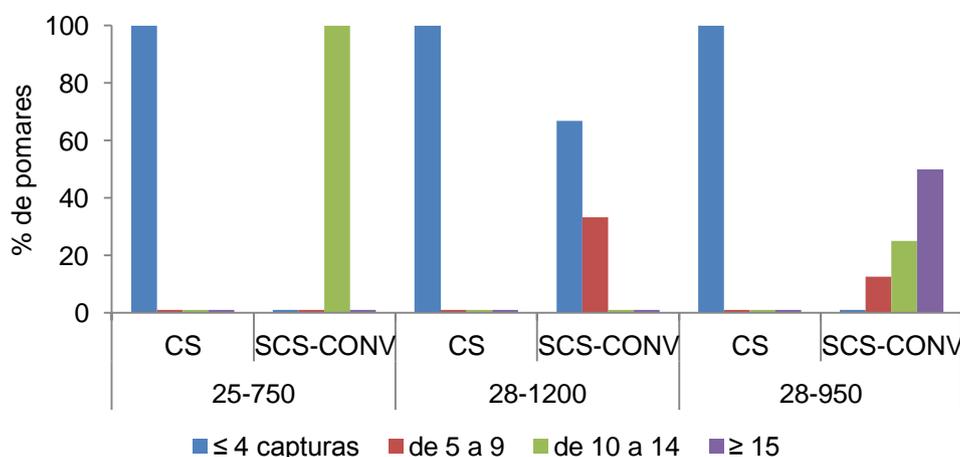


Figura 10. Porcentagem de pomares macieira que capturaram adultos de *G. molesta* 10 dias após pulverização com inseticidas, em função de classe de capturas, do agroecossistema e da estratégia fitossanitária, durante cinco anos de avaliação (2010/2011 a 2014/2015).

**3.8. Bioensaio toxicológico.** Somente sete populações foram multiplicadas em número suficiente para a realização dos testes toxicológicos e bioquímicos, apesar dos esforços para a coleta de populações de *G. molesta* e melhorar a representação dos pomares em diferentes agroecossistemas e estratégias. Destas, duas utilizaram estratégias de confusão sexual e cinco aplicaram uma estratégia sem confusão sexual.

Assim, os pomares, que deram origem a estas populações criadas em laboratório, foram classificados quanto ao status fitossanitário em **MIP**: os dois pomares que utilizaram confusão sexual a 28°-950 m (VACMD) e 25°-750 (PRMD), um pomar com status **MIP** sem confusão sexual (FRA1); **BPA**: dois pomares sem confusão sexual a 28°-950 (FRA2 e VAC1); **MC**: um pomar sem confusão sexual a 28°-1200; **EI**: um pomar sem confusão sexual (VAC2) a 28°-950.

Em geral, as populações mais suscetíveis foram PRMD e VACMD (ambos **CS**) e FRA2 (**SCS-CONV**); essa última é exceção para lufenuron. As populações VAC1 e VAC2 (**SCS-CONV**) foram as mais tolerantes. Resultados toxicológicos foram publicados por Monteiro et al. (2020) em anexo.

**3.8.1. Populações de referência positiva e negativa.** Além das populações de campo, foram multiplicadas quatro populações de referência para balizar a suscetibilidade aos inseticidas. A população de pomar orgânico (**S1**) foi a que apresentou os melhores resultados toxicológicos claramente suscetíveis. A segunda população, originada de um pomar abandonado (**S2**), foi suscetível, embora a taxa de resistência seja pelo menos 20% mais tolerante do que **S1**, calculado pela concentração letal 50% (CL<sub>50</sub>) (RS1CL<sub>50</sub>). Além disso, **S2** foi suscetível em relação às populações **R2** e **R3** para os inseticidas chlorpyrifos, fenitrothion e lufenuron, não se diferenciando para **R2** com o inseticida chlorantraniliprole.

A população tolerante à chlorantraniliprole (**R2**) não se diferenciou de **S1** quando exposta a chlorantraniliprole; entretanto foi diferente a **S1**, quando testada por lufenuron (RS1CL= 2,70). A população tolerante a organofosforados (**R3**) foi significativamente tolerante em relação a **S1** quando testada com os inseticidas

chlorpyrifos ( $RS1CL_{50} = 2,89$ ;  $RS1CL_{95} = 3,39$ ) e fenitrothion ( $RS1CL_{50} = 1,96$ ), sendo que, teve a maior  $CL_{50}$  dentre as populações testadas.

### 3.8.2. População de pomar comparada às referências

**3.8.2.1. Testadas com organofosforados.** As quatro populações de *G. molesta* originadas de pomares sem confusão sexual (**SCS-CONV**) (FRA1, PR, VAC1 e VAC2) foram significativamente mais tolerantes do que **S1** ( $RS1CL_{50} > 1,4$ ), quando expostas aos inseticidas organofosforados. A população VACMD, originária de pomar com confusão sexual (**CS**), foi mais tolerante para chlorpyrifos ( $RS1CL_{50} = 1,58$ ) em relação a **S1**. A população PRMD (**CS**) e FRA2 (**SCS-CONV**) tiveram valores de  $CL_{50}$  similares à população **S1** e **S2**, sendo consideradas suscetíveis aos inseticidas fosforados.

As populações FRA1, PR, VAC1 e VAC2 (todas **SCS-CONV**) foram tão tolerantes quanto a população **R3** para fenitrothion ( $RR3CL_{50} =$  de 0,72 a 0,83), além disso, VAC2 e FRA1 não foram diferentes em relação a **R3** ( $RR3CL_{50} =$  de 0,74 a 0,88) quando testado chlorpyrifos. Para os valores de 95,0% de CL, apenas a VAC2 (**SCS-CONV**) apresentou tolerância ao chlorpyrifos. De uma forma geral, as duas populações com confusão sexual PRMD e VACMD foram as mais sensíveis aos organofosforados ( $RR3CL_{95} =$  de 0,24 a 0,70), além da população FRA2 (**SCS-CONV**).

**3.8.2.2. Testadas com chlorantraniliprole.** Somente as populações VAC1 e VAC2 (ambas **SCS-CONV**) foram significativamente mais tolerantes em relação a **S1** ( $RS1CL =$  de 1,50 a 1,58); ambas populações foram 20% mais tolerante em relação a **R2**, embora não significativo. Todas as demais populações de campo não foram diferentes de **R2** e **S2**.

**3.8.2.3. Testadas com lufenuron.** As populações VACMD (**CS**), PR, FRA1, FRA2, VAC1 e VAC2 (**SCS-CONV**) foram significativamente mais tolerantes em relação a **S1**. A população PRMD (**CS**) foi a única tão suscetível quanto **S1**. Além disso, as populações VAC2 e FRA2 foram as mais tolerantes em relação a **R2** ( $CL_{50}$  superior a 67,0%).

Quando se analisa os valores da  $CL_{95}$ , as populações PRMD, PR, VAC1, VAC2 e FRA2 ( $CL_{95} =$  de 6,33 a 24,26) foram significativamente mais tolerantes do que a população **R2** ( $CL_{95} = 4,09$ ).

### 3.9. Atividade enzimática

**3.9.1. Populações de referência positiva e negativa.** As populações **S1** e **S2** tiveram as menores atividades de GST, AChE e  $\beta$ -EST dentre as populações e não se diferenciaram entre si, corroborando com os testes toxicológicos. A atividade enzimática entre as populações de referência **S1**, **S2**, **R2** e **R3** foram significativas para GST (dl=3; F= 4,66; p=0,008) (Fig. 11), AChE (dl=3; F= 6,66; p=0,001) (Fig. 12),  $\alpha$ -EST (dl=3; F= 8,42; p=0,001) (Fig. 13) e  $\beta$ -EST (dl=3; F= 12,84; p=0,000) (Fig. 14).

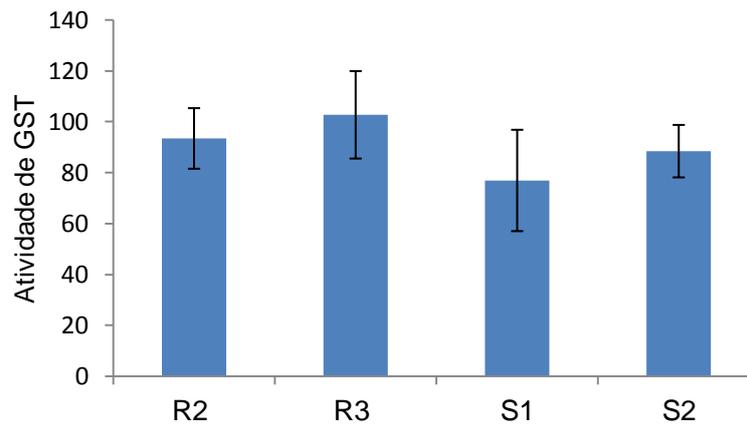


Figura 11. Atividade enzimática de glutiona-S-transferase (GST) expressa em nmol. min<sup>-1</sup>.mg proteína<sup>-1</sup> em populações de *Grapholita molesta* coletadas em pomares de macieira no Sul do Brasil e multiplicadas em laboratório, tolerantes a chlorantraniliprole (**R2**) e chlorpirifos e fenitrothion (**R3**) e sensível coletadas em pomar orgânico (**S1**) e pomar abandonado (**S2**).

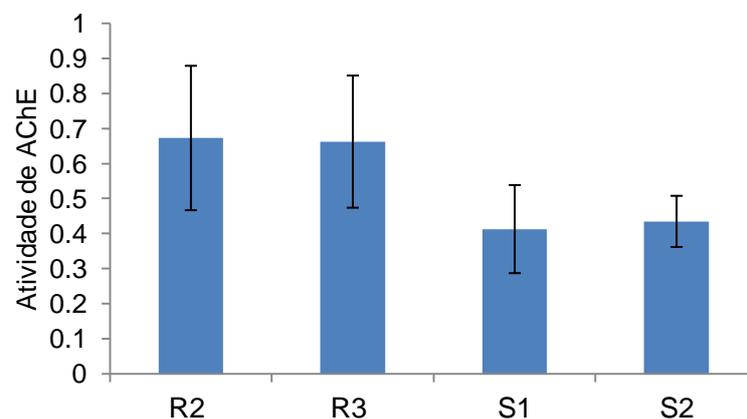


Figura 12. Atividade enzimática de acetilcolinesterase (AChE) expressa em nmol. min<sup>-1</sup>.mg proteína<sup>-1</sup> em populações de *Grapholita molesta* coletadas em pomares de macieira no Sul do Brasil e multiplicadas em laboratório, tolerantes a chlorantraniliprole (**R2**) e chlorpirifos e fenitrothion (**R3**) e sensível coletadas em pomar orgânico (**S1**) e pomar abandonado (**S2**).

As atividades enzimáticas nas populações **R2** e **R3** foram mais elevadas, entretanto não se diferenciaram estatisticamente entre si (Tabela 7), mostrando que as populações sofreram um processo de seleção no processo de criação em laboratório.

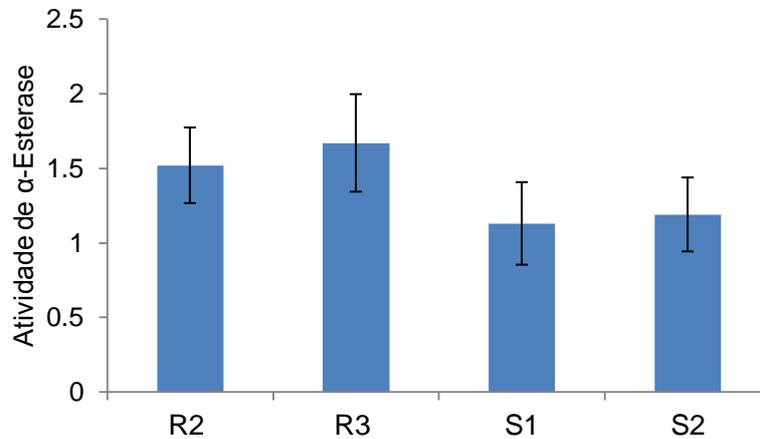


Figura 13. Atividade Enzimática de  $\alpha$ -Esterase expressa em nmol.min<sup>-1</sup>.mg proteína<sup>-1</sup> em populações de *Grapholita molesta* coletadas em pomares de macieira no Sul do Brasil e multiplicadas em laboratório, tolerantes a chlorantraniliprole (**R2**) e chlorpirifos e fenitrothion (**R3**) sensível coletadas em pomar orgânico (**S1**) e pomar abandonado (**S2**).

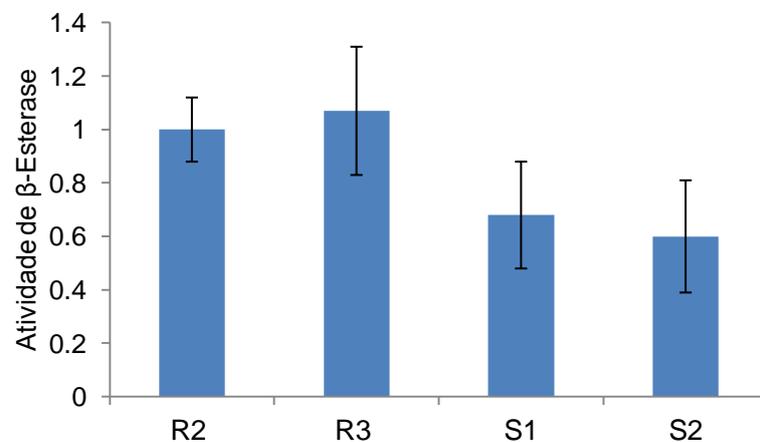


Figura 14. Atividade enzimática de  $\beta$  esterase expressa em mol. min<sup>-1</sup>. Mg proteína<sup>-1</sup> em populações de *Grapholita molesta* coletadas em pomares de macieira no Sul do Brasil e multiplicadas em laboratório, tolerantes a chlorantraniliprole (**R2**) e chlorpirifos e fenitrothion (**R3**) e sensível coletadas em pomar orgânico (**S1**) e pomar abandonado (**S2**).

Tabela 7. Atividade enzimática de glutathiona-S-transferase, acetilcolinesterase,  $\alpha$  e  $\beta$  esterase em populações de *G. molesta* criadas em laboratório da UFPR, sofrendo pressão de resistência e selecionadas como tolerantes a chlorantraniliprole (**R2**) e chlorpyrifos e fenitrothion (**R3**).

Médias GST R2 e R3

População	N	Média	DesvPad	IC de 95%
<b>R2 Diamida</b>	10	93,48	11,90	(83,67; 103,30)
<b>R3 Fosforado</b>	10	102,75	17,17	(92,93; 112,56)

Médias AChE entre R2 e R3

População	N	Média	DesvPad	IC de 95%
<b>R2 Diamida</b>	10	0,6732	0,2062	(0,5419; 0,8045)
<b>R3 Fosforado</b>	10	0,6628	0,1887	(0,5315; 0,7941)

Médias ALFA entre R2 e R3

População	N	Média	DesvPad	IC de 95%
<b>R2 Diamida</b>	10	1,5157	0,2536	(1,3215; 1,7099)
<b>R3 Fosforado</b>	10	1,667	0,327	(1,473; 1,862)

Médias BETA entre R2 e R3

População	N	Média	DesvPad	IC de 95%
<b>R2 Diamida</b>	10	1,0044	0,1245	(0,8770; 1,1319)
<b>R3 Fosforado</b>	10	1,0692	0,2411	(0,9417; 1,1966)

### 3.9.2. População de pomar comparada às referências.

**3.9.2.1. Acetilcolinesterase (AChE).** As atividades enzimáticas das populações originadas dos pomares **SCS-CONV** (FRA2, PRMD, VAC2) e pomar **CS** (VACMD) foram significativamente diferentes em relação a **S1** e **S2** (df = 10; F= 5,83; p <0,0001) (S1EA= de 1,35 a 1,76), isto é, possuem mecanismos de resistência. Estes se confirmam, visto que as atividades enzimáticas dessas populações não se diferenciam em relação à população **R3**. As populações VAC1 e FRA1 (**SCS-CONV** 28°-950) e PR (**SCS-CONV** 25°-750) foram aquelas com menor atividade da AChE dentre as populações de campo, sendo tão suscetível quanto **S1** e **S2** (Fig. 15).

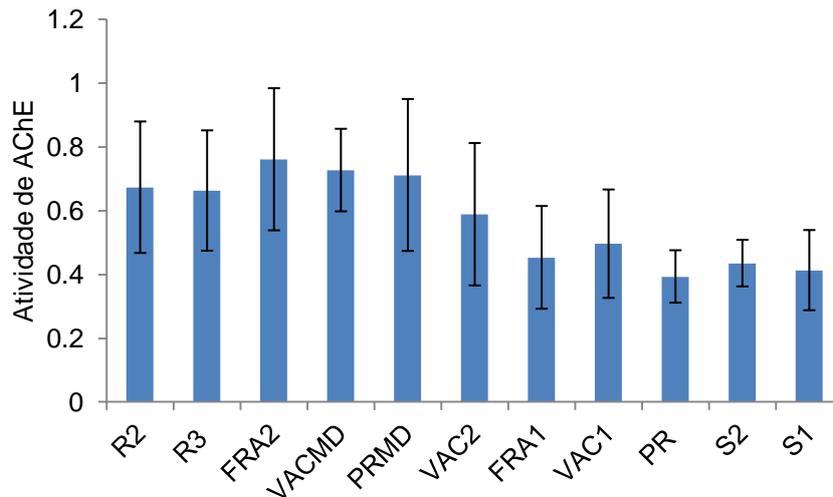


Figura 15. Atividade Enzimática da AChE expressa em  $\text{nmol}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{mg}\text{ proteína}^{-1}$  em sete populações de *Grapholita molesta* coletadas em pomares de macieira no Sul do Brasil e populações de referência negativa (R2 e R3) e positiva (S1 e S2).

Considerando as cinco populações originadas em pomares **SCS-CONV**, a população FRA2 teve significativamente a maior atividade da AChE ( $\text{df}= 4$ ;  $F=6,42$ ;  $p<0,000$ ).

**3.9.2.2. Glutathione-S-transferase (GST).** A atividade enzimática de GST nas populações originadas dos pomares **SCS-CONV** (VAC1, FRA1 e PR) e **CS** (VACMD), foi significativamente maior do que em S1 ( $\text{df} = 10$ ;  $F= 6,17$ ;  $p <0,0001$ ), variando de 37,7 a 65,9%. Além disso, o valor de R2EA destas populações foi semelhante a R3 e diferente estatisticamente em relação à população resistente a chlorantraniliprole (R2). As populações com menor atividade foram FRA2 (**SCS-CONV**) e PRMD (**CS**) (Fig. 16).

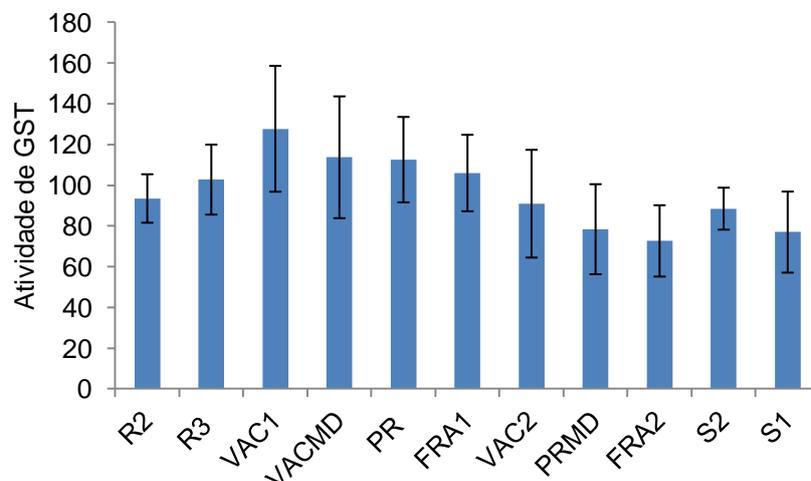


Figura 16. Atividade Enzimática de GST expressa em  $\text{nmol}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{mg prote\acute{a}na}^{-1}$  em sete populações de *Grapholita molesta* coletadas em pomares de macieira no Sul do Brasil e populações de referência negativa (R2 e R3) e positiva (S1 e S2).

**3.9.2.3.  $\alpha$ -Esterase.** A atividade enzimática de  $\alpha$ -EST foi significativa elevada para FRA2 (SCS-CONV) em relação a S1, S2, R2 e R3. Ao contrário, PR e VAC2 (ambas SCS-CONV) e VACMD (CS) foram tão suscetíveis quanto S1, assim como, VAC2, FRA1 e PRMD (CS) foram significativamente mais suscetíveis do que S1 e S2 (df= 10; F= 12,45;  $p < 0,0001$ ) (Fig. 17).

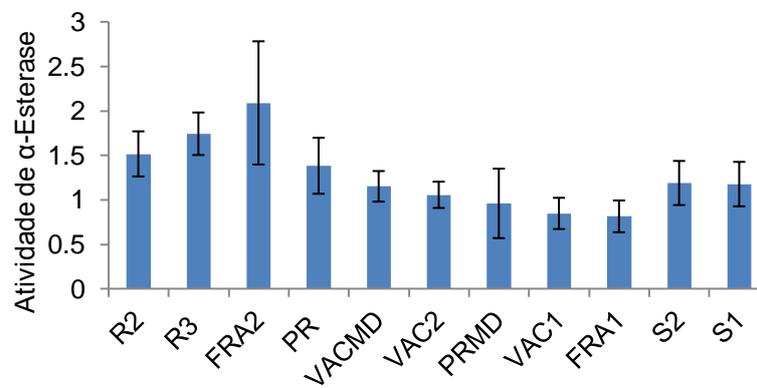


Figura 17. Atividade Enzimática de  $\alpha$ -Esterase expressa em  $\text{nmol}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{mg prote\acute{a}na}^{-1}$  em sete populações de *Grapholita molesta* coletadas em pomares de macieira no Sul do Brasil e populações de referência negativa (R2 e R3) e positiva (S1 e S2).

**3.9.2.4.  $\beta$  esterase.** A elevada atividade de  $\beta$ -EST ocorreu em FRA2 diferenciando-se de S1, S2, R2 e R3 (df= 10; F=13,7304;  $P < 0,0001$ ). Todas as demais populações não se diferiram de S1 e S2 (Fig. 18).

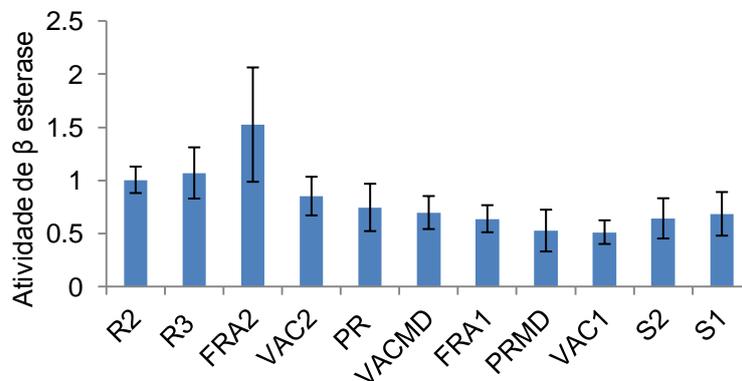


Figura 18. Atividade Enzimática de  $\beta$ -Esterase expressa em  $\text{nmol}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{mg prote\acute{a}na}^{-1}$  em sete populações de *Grapholita molesta* coletadas em pomares de macieira no Sul do Brasil e populações de referência negativa (R2 e R3) e positiva (S1 e S2).

De uma forma geral, comparando as médias das atividades enzimáticas ocorridas em pomares **CS** (n= 2) e **SCS-CONV** (n= 5), verificou-se que as populações conduzidas com estratégia confusão sexual tiveram significativamente as maiores atividades para AChE (df= 1; F=9,75; p< 0,003), entretanto, não houve diferenças significativas para as atividades de GST e esterases.

#### 4. DISCUSSÃO SOBRE ESTRATÉGIAS DE CONTROLE UTILIZADAS EM POMARES DE MACIEIRA NO SUL DO BRASIL

Poucos estudos sobre evolução de resistência consideram o mosaico de estratégias fitossanitárias, provavelmente devido à complexidade de relacionar os parâmetros agrônômicos às explicações coerentes de um modelo teórico (REX Consortium, 2010). Neste trabalho procuramos coletar dados do modelo brasileiro para pomares de macieira e entender como eles se interagem e quais seriam os gargalos de conhecimento. Na pretensão de tentar explicar o efeito do manejo integrado de pragas sobre a resistência, muitos modelos se tornaram pobres quando consideraram apenas os parâmetros de efeito direto sobre as pragas. A importância do manejo de pragas secundárias ou a de agentes biológicos reguladores de insetos muitas vezes não são considerados, pois não representam uma ação sobre o potencial de seleção de pragas-chaves. Esta dificuldade se esbarra na perda de precisão estatística, visto que, em biologia os fatores são interligados e exige robustez em repetições e volume de dados. Acrescenta-se a isso, os impactos de um manejo fitossanitário ministrado em variedades de macieira precoces e tardias sobre a pressão de seleção de populações.

REX consortium (2010) postulou que a resistência é fortemente influenciada pela classe de produtos fitossanitários e que os critérios econômicos e agrônômicos são raramente usados para analisar a evolução da resistência. Cerca de 40% dos modelos utilizam a frequência da resistência com único critério para comparar estratégias em termos de eficiência (REX Consortium, 2010). Esses autores, analisando 187 artigos sobre o tema resistência, mostraram que as estratégias utilizadas nos estudos de resistência foram bastante similares entre si para as diferentes classes de inseticidas, com isso, outros critérios deveriam ser considerados para justificar a evolução da resistência.

**4.1. Indicadores.** A plataforma AMBITEC-AGRO foi empregada para ranquear a gestão fitossanitária e o grau de adoção de tecnologias em pomares de macieira no Sul do Brasil, os quais representavam em torno de 32% da área nacional. A plataforma havia sido utilizada preliminarmente em estudos com seis indicadores (Monteiro et al., 2018) e, posteriormente, foi acrescentado mais três indicadores, objeto deste estudo.

A maioria dos pomares organizou o manejo agrônomico em planilhas eletrônicas, o que facilitou checar as informações e a construção do perfil fitossanitário de cada pomar. As múltiplas estratégias fitossanitárias não refletiram necessariamente um impacto sobre a eficiência no controle de pragas, mas contribuiu para mostrar como as práticas agrônomicas integradas possam colaborar para uma gestão mais eficiente.

Foram identificados pomares que usaram de um único grupo químico para o controle de insetos; alguns combinaram um único grupo químico associado com a técnica de confusão sexual para grafolita e outros fizeram a rotação com vários grupos químicos, mas não usaram confusão sexual. Alternância de métodos de controle é recomendada em manejo integrado de pragas para reduzir o impacto sobre a resistência, podendo ser de efeito direto e indireto. Os indicadores positivos dos efeitos indiretos estiveram presentes em 2/3 dos pomares e são os mais fáceis de serem obtidos na prática, entretanto estes efeitos possuem menor peso sobre a resistência de pragas. Apesar disso é preciso considerar que o monitoramento adequado conduz a efeitos diretos positivos pela boa escolha temporal da intervenção.

O monitoramento de pragas foi realizado em 92,6% dos pomares, sendo considerada uma ferramenta essencial para a tomada de decisão de controle na maioria dos pomares e para verificação da eficácia do controle químico e/ou necessidade de mudar de estratégias. O monitoramento de tortricídeos em pomares com confusão sexual é realizado por uma substância de comunicação entre mesma espécie (feromônio), e no caso de grafolita, esta substância sintética corresponde ao odor da fêmea de mesma espécie. O septo ou difusor deste feromônio contém uma concentração menor em relação aos difusores da formulação de confusão sexual, a qual pode ser momentaneamente minimizada em função de ventos ou chuvas constantes (LBM, nota do autor). Em alguns anos, produtores suspeitam que o feromônio de monitoramento não esteja sendo eficiente e, alguns recorrem a uso de fêmeas virgens de grafolita, colocadas em armadilhas. Ocorre que a capacidade de liberação de feromônio por uma fêmea virgem e a sua detecção pelo macho é quase 19 vezes menor do que um feromônio sintético (Poltronieri et al., 2008), assim, o uso de fêmeas virgens é uma técnica acadêmica, não substitui o feromônio sintético no campo. Os investimentos em pesquisa e acompanhamento do desempenho desta substância no pomar é um dos mais importantes estudos visando garantir ao produtor feromônios de qualidade.

O monitoramento contribuiu para que 76,5% dos produtores tomassem a decisão de eliminar frutos do pomar após a colheita, visto que, esta ação, embora tecnicamente correta, implica em custos com mão-de-obra, os quais precisam ser compensados pela redução do potencial de prejuízos com patógenos e pragas no início da próxima fase vegetativa. Embora a eliminação de frutos seja coerente, o seu efeito positivo está condicionado ao agroecossistema, assim, esta abordagem é mais importante em pomares que cultivavam variedades de macieira de ciclo médio e tardio do que em relação às cultivares precoce. Nesta última, o potencial de inócuo é minimizado pelo maior tempo de degradação de frutos por fatores abióticos e bióticos durante os meses quentes após a colheita, como é a situação em pomares localizados no agroecossistema 25°-750.

As escolhas das estratégias não foram necessariamente definidas unicamente pelo monitoramento das pragas, mas também por critérios econômicos. Com isso, verificou-se que 44,0% dos pomares adotaram unicamente o uso de inseticidas em detrimento da adoção de novas tecnologias, como a associaram de inseticidas com a técnica de confusão sexual para *G. molesta*. Além disso, 69,1% dos pomares optaram pelo uso de isca tóxica para a redução de *A. fraterculus*. Esta combinação de estratégias fitossanitárias proporcionou um mosaico de repercussões sobre ambas pragas, mas também sobre artrópodes não alvos, tais como, *B. salubricola* e *P. ulmi*.

O monitoramento definiu as principais portas de entradas de mosca-das-frutas nos pomares, pois estas migram das matas adjacentes para os pomares (Monteiro et al., 2007a), motivadas pela necessidade das fêmeas em alimento rico em proteína para desenvolvimento do seu aparelho reprodutor e ausência de frutos nativos em matas adjacentes aos pomares, como foi mostrado por Araújo et al. (2020) no Paraná. Com isso, o uso de isca tóxica (atrativo alimentar + inseticida) na periferia dos pomares foi uma estratégia usada anualmente, apesar de que sua eficiência, na prática, seja de difícil avaliação (Monteiro & Fabbrin, 2007b; Mangan & Moreno, 2007). Não obstante, devemos levar em consideração que os benefícios da isca tóxica seletiva também incidem sobre a entomofauna benéfica no pomar. Vários estudos mencionam a repercussão positiva com a redução de inseticidas de cobertura na sobrevivência de predadores e parasitoides (Monteiro, 1993; Monteiro, 2001a; Sato et al. 2002; Schuber et al., 2008).

No que se refere ao manejo de ácaros vermelho, *P. ulmi*, o monitoramento permitiu que o controle biológico aplicado fosse utilizado ano após ano (desde 1992)

(Monteiro, 1993; Monteiro, 2002a; Monteiro et al. 2006). Em 55,0% dos pomares estudados houve ausência de acaricidas, principalmente para aqueles que construíram as biofábricas multiplicadoras de *N. californicus* (ácaros predadores) (Monteiro, 2002b). Apesar de muitos pomares não terem implantado o controle biológico aplicado, estes foram beneficiados pela presença de *N. californicus*, graças ao seu comportamento de buscar fontes de alimentos ou refúgios. Os ácaros predadores, após realizarem a redução de ácaros vermelhos nas macieiras, descem para plantas espontâneas no solo (Monteiro et al., 2002c) e migram para novas parcelas ou pomares vizinhos. Na primavera, eles são estimulados a subirem novamente para as macieiras devido aos cairomônios liberados pelos danos e atividades biológicas promovidas por ácaros vermelhos nas folhas (Collier et al., 2000; Collier et al., 2001). Essa migração ocorre regularmente na segunda semana de dezembro, entretanto, para que esse ciclo seja renovado ano após ano é necessário um bom manejo fitossanitário com inseticida, acaricida e herbicida. A este ciclo acrescentam-se ainda as influências de fatores abióticos, como é o caso do fenômeno climático *El Niño*, o qual provoca um atraso de um mês na migração das ervas do solo para as macieiras (LBM, nota pessoal).

A preservação de plantas hospedeiras dos ácaros predadores nas entrelinhas de plantio foi observada na maioria dos pomares. O uso de uma e duas pulverizações de herbicidas por ano sob as copas das macieiras foi feito em 32% e 14% dos pomares, respectivamente, o que permite um equilíbrio tritrófico entre ácaros fitófagos, ácaros predadores e plantas hospedeiras (Altieri & Liebman, 1986; Monteiro, 2002c, Monteiro et al., 2006). Apesar desse benefício e equilíbrio proporcionado pelas ervas, na metade dos pomares os produtores ainda insistem em reduzir as ervas com vários herbicidas.

A implantação do controle biológico de ácaros proporcionou uma ótima experiência prática para os produtores e agrônomos; identificando-os, quantificando-os e compreendendo a importância desses como bio-indicadores. A escolha de inseticidas com menor impacto ecológico permitiu uma nova abordagem na definição da política de racionalização do uso de produtos fitossanitários (Monteiro 1993, 2001a, 2001b), tendo repercussão positiva sobre as populações de agentes biológicos como um todo. O exemplo disso foi a quantificação do parasitismo ( $\mu = 61,2\%$ ) de *A. mali* em pulgão lanígero, *Eriosoma lanigerum* (Homoptera: Aphididae) (Monteiro et al., 2004a) e a constatação pela primeira vez da ocorrência de *T. pretiosum* em macieira, parasitando 6,6% das massas de ovos e 22,3% dos ovos de *B. salubricola* em cada massa (Monteiro

et al., 2004b). Ambos os casos ocorreram em pomares que construíram biofábricas para a multiplicação de *N. californicus* em Fraiburgo e utilizaram-no como bio-indicador para selecionar os produtos fitossanitários (Monteiro, 2002b; Araújo et al., 2013).

Apesar da interação entre monitoramento, isca tóxica, controle biológico e ervas daninhas se apresentarem de forma linear, observou-se neste estudo que estas interações foram influenciadas por fatores abióticas, principalmente sobre a flutuação de insetos chaves. Com isso, verificou-se que as capturas de grafolita foram quase duas vezes maiores nos dois primeiros anos do estudo em relação aos últimos.

Grafolita é uma praga residente no pomar ou pelo menos não migra como outros insetos, tendo um comportamento sedentário similar a *Cydia pomonella* L. (Lepidoptera: Tortricidae) (Gu et al., 2003); apenas disso, uma pequena fração da população realiza um voo migratório. Com isso, a maior parte da população passa o período adverso de inverno em *burrknots* em ramos e troncos (Maicon et al., 2012; Bisognin et al., 2012), principalmente nas macieiras mais velhas da variedade Gala. Gradualmente se dá a emergência de adultos na estação invernal e, com o aquecimento da temperatura no início da primavera, o pico de emergência dos adultos ocorre entre a 38ª e 40ª semanas do ano, isto é, final de setembro (Fig. 3, 4 e 5). Esse pico de flutuação coincide com a floração, promovido pelo acúmulo de graus-dias (somatório térmico acima de 9,0°C) necessário para o desenvolvimento dos insetos. De forma geral, a flutuação de grafolita foi fortemente influenciada pelo histórico e manejo fitossanitário adotado pelos produtores em anos anteriores, assim, para aqueles que optaram pelo controle exclusivamente químico se observou uma flutuação quase constante, variando de 10 a 20 adultos por semana ao longo do primeiro semestre e da primavera (Fig. 5).

Contrariamente, o número médio de grafolita em pomares que adotaram a confusão sexual foi próximo a dois adultos por semana no primeiro semestre, havendo um crescimento das emergências somente entre a 36ª e 40ª semana (Fig. 4). Como era de se esperar, as capturas de *G. molesta* em pomares CS ocorrem com a emergência de adultos à medida que as temperaturas se elevavam e se estabilizaram em função da instalação da confusão sexual, a qual ocorreu entre 15 de outubro a 20 de novembro, dependendo da variedade e do agroecossistema. A análise temporal desse pico de grafolita fortalece a ideia de que seria melhor permitir a emergência natural, adotar medidas mínimas de controle na floração e, posteriormente, o controle de adultos e instalação da confusão sexual no período pós-floração. Em função das condições de

clima neste período, é possível que a eclosão de larvas não se constitua um ‘potencial de dano’, não merecendo mais do que uma única pulverização de inseticida larvicida na floração (ver 4. Considerações finais).

**4.2. Agroecossistema.** Os fatores abióticos e bióticos específicos de cada agroecossistema influenciam a biologia dos insetos. Em altitude elevada (1200 m) a temperatura é amena até meados de novembro, o que regula o número de gerações e a intensidade de ataque de várias pragas, similar ao observado no Chile e na Suíça. Em função disso, o número de grafolitas coletadas 28°-1200 foi o menor entre os agroecossistemas, com média próxima a dois adultos (Fig. 6). Apesar disso, o “potencial de dano” de grafolita no 28°-1200 foi maior do que nos outros agroecossistemas, visto que as capturas de grafolita em pomares sem confusão sexual foram de 7,9 e 8,6 vezes maior do que em pomares com confusão sexual na primavera e verão, respectivamente.

A temperatura influenciou o “potencial de dano” de grafolita no agroecossistema 25°-750 (Porto Amazonas, Lapa e Campo do Tenente), mas neste caso, ocorreu uma interação com o fator cultural. Tanto a variedade brasileira ‘Eva’ como Gala são precoces neste agroecossistema (colheita de 5 de dezembro a 20 de janeiro), em relação a ‘Gala’ e ‘Fuji’ no 28°-950 (Vacaria e Fraiburgo) (colheita a partir de 20-25 de janeiro a 30 de março). Mesmo que o número médio de capturas nos pomares 25°-750 seja o maior dentre os três agroecossistemas (Fig. 6), o “potencial de dano” de grafolita foi menor, em função de não haver uma sincronia perfeita entre desenvolvimento de grafolita e a fase suscetível do fruto, principalmente para ‘Eva’ (Strapasson et al., 2016). Além disso, o desenvolvimento de grafolita e oviposição não coincide com a fase suscetível do fruto de ‘Eva’ (Silva et al., 2011), pois, as temperaturas médias nos meses anteriores à colheita (setembro e outubro) são normalmente inferiores a 19°C.

A definição de “potencial de dano” é complexa, pois é a interação de conhecimentos biológicos gerais da praga, conhecimentos específicos sobre a atuação desta praga no agroecossistema, envolvendo os fatores culturais e técnico fitossanitários, podendo ser modificado à medida que os fatores interajam. O que leva a “tomada de decisão” ser técnica e complexa. Em ambas as situações (25°-750 e 28°-1200), o agroecossistema teve um papel determinante no status do potencial de dano de *G. molesta*, *B. salubricola* e *A. fraterculus*, de modo que as recomendações

fitossanitárias indicavam o uso de inseticidas menos tecnológicos, normalmente pertencentes a um único grupo químico. Isso não estimulou o controle de *G. molesta* com novos inseticidas, considerados mais caros, como é o caso de inseticidas antranilâmidas, repercutindo para que o número médio de pulverizações fosse menor em 25°-750 e 28°-1200 ( $\mu= 8,7$  e  $\mu= 9,7$ , respectivamente) do que em 28°-950 ( $\mu= 12,5$ ).

Os inseticidas organofosforados representaram, em média, 76,8% dos inseticidas utilizados em todos os pomares; pomares no 28°-1200 foram aqueles que utilizaram a maior porcentagem ( $\mu= 93,4\%$ ), provavelmente, para o controle de mosca-da-frutas, visto que inseticidas desse grupo são ainda os mais eficientes. O uso de um único grupo de inseticidas tem efeitos diretos sobre o alvo, mas repercussões indiretas sobre insetos não alvos. A deriva de inseticidas organofosforados proporciona um efeito residual sobre adultos de *G. molesta* (e também *B. salubricola*) (Siegwart et al., 2011), sem necessariamente ter a eficiência de controle.

Inseticidas que apresentam um bom residual exercem uma maior pressão de seleção e desequilíbrio, como é o caso de neonicotinoide e antranilâmida. Os neonicotinoides são sistêmicos e são translocados na planta, desde a semente até a floração em cereais, e, frequentemente, são vinculados com a redução do enxame das abelhas. Por isso, *European Food Safety Authority* (EFSA) restringiu o uso de imidacloprid às estufas permanentes (Abdourahime et al., 2018), além de clothianidin e thiametoxam. A França baixou o Decreto n° 2018-675 (30 julho de 2018, <https://www.legifrance.gouv.fr/eli/decret/2018/7/30/2018-675/jo/texte>) restringindo o uso de acetamiprid, clothianidin, imidacloprid, thiacloprid e thiametoxam. Estas decisões estão em conformidade com vários estudos no mundo (Henry et al., 2012; Tavares et al., 2017; Jiang et al., 2018; Giri et al., 2018). Dada a importância de polinização em macieira (Giannini et al., 2015), o manejo com os inseticidas acetamiprid e acetamiprid + etofenprox, registrados na grade de produtos fitossanitários em macieira no Brasil para o controle de *A. fraterculus* e *G. molesta* (EMBRAPA, 2020), deveria ser melhor avaliado quanto aos seus possíveis impactos. Essa preocupação não deve ser restrita à pomares de macieira, visto que, os neonicotinoides são os inseticidas mais utilizados no mundo e estão entre as moléculas com maior índice de detecção no Brasil, sendo que, imidacloprid foi detectado em 16% das amostras analisadas no período de 2017 a 2018 (Relatório do Programa de Análise de Resíduo de Agrotóxico em Alimentos – PARA, página 38, <https://www.gov.br/anvisa/pt->

br/assuntos/agrotoxicos/programa-de-analise-de-residuos-em-alimentos/arquivos/3770 json-file-1). Além de acetaprimide, o inseticida larvicida chlorantraniliprole apresenta residual de 38 dias (Sial & Brunner, 2010a; Magalhaes & Walgenbach, 2011), o que faz dele um candidato à perda de eficiência devido às pulverizações sucessivas no período de floração e pré-colheita, como ocorreu em pomares do agroecossistema 28°-950.

Em nosso estudo tentamos definir um parâmetro prático para identificar a perda da eficiência dos inseticidas, por meio de monitoramento de *G. molesta* após 10 dias da pulverização. A nossa hipótese se baseou na ideia de que quanto maior fosse a captura, maior seria a tolerância dos tortricídeos aos inseticidas. De forma geral, os 12 pomares que utilizaram a estratégia **CS** capturaram na classe  $\leq 4$  adultos de grafolitas no 10º dia após a pulverização, enquanto que nos pomares com **SCS** se encontrou uma maior diversidade de situações; entretanto, nenhum com capturas  $\leq 4$  adultos no agroecossistema 25°-750 e 28°-950. No 28°-950, a maioria dos pomares (75%) capturou mais do que 10 adultos por semana, o que podemos considerar como um controle ineficaz e uma reinfestação rápida do pomar. As populações utilizadas para os testes toxicológicos e bioquímicos, originalmente coletadas em pomares com estratégias **SCS**, capturaram grafolitas na classe 10 a 14 (VAC1, PR e FRA2) e  $\geq 15$  (VAC2), indicando que houve uma dificuldade de controle destas populações.

Por si só, a técnica de confusão sexual reduz a captura de adultos de grafolita, acrescenta-se a isso, a menor suscetibilidade da população em pomares com confusão sexual, devido ao melhor manejo de controle químico (redução de 41% dos inseticidas). Corroborada o fato de que a maioria dos indicadores positivos ocorreu em pomares **CS** (sete pomares dos nove classificados como **MIP** utilizaram confusão sexual). Embora seja difícil definir o grau de influência do conjunto de indicadores sobre a redução de capturas no 10º dia após a pulverização, percebeu-se que este parâmetro poderia ser utilizado por produtores que apresentem uma boa compreensão ecológica, capacidade de análise de informações integradas e ambição na promoção de um pomar sustentável e economicamente mais equilibrado.

**4.3. Teste de toxicidade.** Foram coletadas larvas em quase todos os 27 pomares e conduzidas para o laboratório da UFPR, visando determinar o impacto da pressão de seleção de tratamentos inseticidas sobre *G. molesta*. Somente sete populações sobreviveram e se multiplicaram em abundância às condições da dieta artificial.

Observou-se que as populações de pomares com **CS** tiveram mais dificuldades de adaptação do que as de pomares **SCS-CONV**. Destas, cinco populações foram originadas no agroecossistema 28°-950 (VACMD, VAC1, VAC2, FRA1 e FRA2) e duas populações no 25°-750 (PRMD e PR). De acordo com os indicadores propostos pelo AMBITEC-AGRO, esses pomares foram classificados como **MIP** (VACMD, PRMD e FRA1), **BPA** (VAC1 e FRA2), **MC** (PR) e **EI** (VAC2). Os pomares com confusão sexual foram VACMD e PRMD, os demais não utilizaram confusão sexual. As populações de campo foram comparadas com populações sensíveis, originadas de pomares orgânicos (**S1**) e abandonados (**S2**), além disso, outras duas populações foram selecionadas em laboratório com chlorantraniprole (**R2**) e organofosforados (**R3**) (chlorpirifos e fenitrothion), ditas tolerantes.

A taxa de mortalidade nos testes de toxicidade (detalhes no artigo em anexo - Monteiro et al., 2020) nos mostrou que as populações **S1** e **S2** foram as mais sensíveis, quando comparadas com as tolerantes **R3**, selecionada para ser resistente a organofosforados em laboratório por 10 anos. A  $DL_{50}$  das populações suscetíveis não foi diferente da observada para **R2**. O fato de não haver diferença à **R2** é surpreendente, pois as populações **S1** e **S2** nunca foram pulverizadas com chlorantraniprole, diferentemente de **R2**.

#### 4.3.1. Sensibilidade das populações de campo em relação à população **S1**.

**Chlorantraniprole.** Duas populações (VAC1 e VAC2) foram significativamente tolerantes em relação a **S1** quando testado com chlorantraniliprole. Pelo histórico fitossanitário, ambas as populações sofreram pressão de seleção pela frequência de pulverização, pela sequência de pulverizações na floração e pré-colheita, pelo poder residual das antranilamidas e pela genética das populações construída temporalmente (Roush & Daly, 1990). Os valores de tolerância ( $DL_{50}$  pop. de campo/ $DL_{50}$  pop. **S1**) para as duas populações obtidos neste estudo {1,50 e 1,58 – Monteiro et al. 2020 (Tabela 2)} foram semelhantes aos obtidos por Jones et al. (2011) para *G. molesta* nos EUA e inferiores aos de Bosch et al. (2018a) para *C. pomonella* na Espanha (RR = 1,9 a 5,2). As demais populações não foram diferentes de **S1**, sendo que as populações de pomares **CS** não foram pulverizadas com chlorantraniliprole (VACMD e PRMD).

**Organofosforados.** As populações VAC1, VAC2, PR e FRA1 foram tolerantes à **S1**, quando testados para ambos organofosforados. As duas primeiras populações foram originadas de pomar convencional que usaram o maior número de inseticidas organofosforados dentre os 27 pomares.

Uma única população de pomar com confusão sexual (VACMD) teve  $DL_{50}$  significativamente maior do que **S1** para chlorpyrifos, devido ao intenso uso deste inseticida. Alguns produtores apresentaram dificuldades de abandonarem a dependência de inseticidas organofosforados, mesmo que tenham adotadas novas tecnologias. As dúvidas persistem, tais como o receio de que o monitoramento não está funcionando ou que é necessário pulverizar mesmo sem a presença de insetos. As incertezas são minimizadas por meio de observação do comportamento dos insetos, presença de danos e com o tempo para assimilação da tecnologia.

**Lufenuron.** Quase todas as populações criadas em laboratório (VACMD, VAC1, PR, FRA1, VAC2 e FRA2) foram significativamente mais tolerantes em relação a **S1**. Considerando que a média das pulverizações com benzoilureia foi inferior a uma aplicação por ano nos pomares VACMD, VAC1, FRA1 e VAC2, essa maior tolerância a lufenuron pode ser explicação devido à possibilidade de resistência cruzada com tebufenozide, como ocorreu no sul da França (Sauphanor et al., 2000) e na Suíça (Charmillot et al., 2007) para *C. pomonella*. Sauphanor et al. (2000) afirmaram que a resistência à tebufenozide é resultado da exposição de população de *C. pomonella* a inseticidas do grupo químico benzoilureias, visto que há evidências de resistência cruzada entre tebufenozide, diflubenzuron e tiaclopride / spinosad (Reyes et al., 2007).

No caso do Brasil, é plenamente compreensível que após o uso intensivo de tebufenozide no final dos anos 90 e início de 2000, estas populações fossem selecionadas devido ao incorreto uso. Neste período, produtores se acostumaram a pulverizar tebufenozide em sequência com intervalos de 15 dias e/ou com 50% da concentração recomendada (LBM, nota do autor), com o argumento de que inseticida possui um bom poder residual. De fato, tebufenozide possui um efeito residual superior a 30 dias para larvas de *G. molesta* em ponteiro (Grützmacher et al., 1999). Situação semelhante foi observada por Magalhães & Walgenbach (2011), os quais consideraram que o residual de novaluron para larvas de *G. molesta* foi de 28 dias. Para evitar esse processo de seleção, é recomendada uma única pulverização de inseticida dos grupos

químicos benzoilureia e diacilhidrazida por ano, principalmente no agroecossistema 28°-950.

De uma forma geral, a população PRMD foi a única população suscetível similar às populações de referência **S1** e **S2** para todos os inseticidas testados. Vários fatores podem estar envolvidos, tais como, originada de um pomar com confusão sexual, ser a 7ª população com menor número de pulverizações com organofosforados, estar situada no agroecossistema 25°-750 e ter baixa captura no 10º dia após pulverização. VACMD também foi sensível em relação a **S1** (fenitrothion e chlorantraniliprole), diferenciando-se de populações convencionais. População FRA2 foi a única população melhor avaliada para organofosforados e chlorantraniliprole.

A população FRA2 foi pulverizada em campo por uma elevada carga de organofosforados, mas foi aquela que recebeu a maior rotação de inseticidas (organofosforado, antranilamida, benzoilureia, neonicotinoide e éter difenílico). Além disso, houve duas pulverizações de formulação biológica contendo *Bacillus thuringiensis*. Os agentes biológicos são capazes de provocar uma reversão do status de resistência dos insetos, pois o controle não é seletivo e nem discriminatório. Nesta linha, o uso de Bt para *B. salubricola* apresenta um bom controle (Pereira et al., 2018); entretanto, para grafolita a eficiência é inferior a 50% (Paixão, 2012).

#### **4.3.2. Sensibilidade das populações de campo em relação às populações R2 e R3.**

**Chlorantraniliprole.** Todas as populações de campo não se diferenciaram de **R2**, ou seja, estas populações possuem características muito próximas à população **R2**, estimulada e selecionada em laboratório com chlorantraniliprole. Além disso, as populações VAC1 e VAC2 foram 20% mais tolerantes do que **R2**, sendo que a primeira se justifica pelas duas pulverizações de chlorantraniliprole anualmente. Ambas populações foram capturadas na classe 10 a 14 no monitoramento no 10º dia após a pulverização. Embora chlorantraniliprole seja uma molécula recente, o status de pragas resistentes a esse inseticida, não é novidade no mundo. Mosca-branca, *Bemisia tabaci* (Gennadius) (Hemiptera: Aleyrodidae) (Grávalos et al., 2015) e de traça do tomateiro, *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae) (Campos et al., 2015) já foram diagnosticadas como resistentes, como também populações de *G. molesta* nos EUA (Jones et al., 2011) e *C. pomonella* na Espanha (Bosch et al., 2018a).

**Organofosforados.** Quando testado com chlorpyrifos, as populações de campo FRA1 e VAC2 foram tão tolerantes quanto à **R3**, enquanto que as demais foram mais sensíveis. Quando testadas com fenitrothion, as populações FRA1, PR, VAC1 e VAC2 foram também tolerantes à **R3**, mostrando o grau de pressão de seleção no pomar durante as últimas décadas. Na prática, é provável que a pressão de seleção não tenha sido diretamente sobre *G. molesta*, mas de forma indireta por meio de pulverizações para mosca-das-frutas. Por outro lado, muitos produtores não utilizaram uma estratégia específica para grafolita porque acreditam que o uso de inseticidas organofosforados para mosca-das-frutas poderia reduzir a população dos tortricídeos, o que pode ser um equívoco. A flutuação de mosca-das-frutas pode não coincidir com as de tortricídeos, de modo que larvas eclodam ou adultos emergem sobre o resíduo destas pulverizações, cujas concentrações são insuficientes para o seu controle (Magalhães & Walgenbach, 2011). Levando isso em consideração, nos faz crer que o uso de iscas tóxicas tem objetivo de reduzir o residual de organofosforados sobre pragas não alvos.

**Lufenuron.** A evolução da resistência está relacionada com a frequência e rotação dos inseticidas ao longo de um período (REX Consortium, 2010). Entretanto, em muitos casos, a simples rotação de grupos químicos não é suficiente, devido à possibilidade das populações possuírem múltiplos mecanismos de desintoxicação de inseticidas. Das seis populações testadas com lufenuron, cinco delas foram semelhantes a **R2**, com taxas de tolerância variando de 1,33 a 1,80. Esse efeito parece ser comum entre inseticidas do grupo químico diacilhidrazida (tebufenozide) e benzoilureia (lufenuron) (Sauphanor et al., 2000; Reyes et al., 2007). Tebufenozide foi amplamente utilizado e sua eficiência foi frequentemente questionada para grafolita, assim como, para *B. salubricola* (Bernardi et al., 2016).

Os insetos apresentam características genéticas que são moldadas em função dos processos de seleção, tais como, biológicos, químicos, culturais e bioquímicos (Kanga et al., 2003). Parece ser o caso de pomares que instalaram confusão sexual. As populações VACMD e PRMD foram significativamente as mais sensíveis em relação aos organofosforados (**R3**), e também em relação a **S1** (exceção para VACMD para fenitrothion) (detalhes em Monteiro et al., 2020).

#### **4.4. Atividade enzimática**

**4.4.1. Atividade enzimática das populações S1 e S2.** As populações de referência **S1** e **S2** foram utilizadas para balizar as populações suscetíveis e suas atividades enzimática para GST, AChE,  $\alpha$ -EST e  $\beta$ -EST. Chama a atenção da similaridade enzimática destas duas populações, visto que **S1** é originária de um pomar orgânico, ou seja, nunca foi pulverizado por produtos químicos, e a **S2** de pomar abandonado por dois anos, após 15 anos de pulverização exclusiva com inseticidas organofosforados. Na ausência de pressão de seleção nestes dois anos, provavelmente, houve uma reversão à suscetibilidade da **S2** representada pela menor atividade enzimática, corroborando com os estudos de Teixeira et al. (2016). A reversão na suscetibilidade pela ausência do processo de seleção é comum (French-Constant & Roush, 1990; Reyes et al., 2007) e também foi observada para ácaros vermelhos em pomares que adotaram com controle biológico aplicado, após dois ou mais anos sem intervenção de acaricidas (LBM, nota do autor).

**4.4.2. Atividade enzimática das populações R2 e R3.** Atividades enzimáticas de populações resistentes **R2** e **R3** contrastam com **S1** e **S2**. A comparação entre populações sensíveis e resistentes criadas em laboratório nos fornece importantes informações sobre os mecanismos de resistência quando estimulados por um fator exclusivo, ou seja, chlorantraniprole e organofosforado. A população **R3** foi aquela que apresentou a maior  $CL_{50}$  nos testes com inseticidas organofosforados e também elevada atividade da AChE, o que era esperado, assim como atividades para GST,  $\alpha$ -EST e  $\beta$ -EST. Em relação a **R2**, esta população nem sempre apresentou as maiores  $CL_{50}$ , assim, podemos nos questionar se **R2** foi a melhor referência para expressar a resistência de populações de *G. molesta* à antranilamidas ou se o tempo de pressão de seleção em laboratório não tenha sido o suficiente. Apesar disso, **R2** teve as mais altas atividades de GST,  $\alpha$ -EST e  $\beta$ -EST.

#### **4.3.2. Sensibilidade das populações de campo em relação às populações R2 e R3.**

No campo, as populações sofrem pressão química, biológica, climática, cultural e nutricional, de modo que, o fator temporal sobre o processo de seleção não foi o mesmo imposto no laboratório. Por isso, os resultados muitas vezes não são exatamente aqueles

que o pesquisador estava esperando, necessitando assim um cuidado para não deixar que as convicções se imponham em relação aos dados. A análise da atividade enzimática sugeriu que a população FRA2 tenha múltiplos mecanismos de desintoxicação e foi um bom caso para análise com mais detalhes. Este pomar foi pulverizado com o segundo maior número de inseticidas organofosforados dentre os 27 estudados e, em consequência, a atividade da AChE nesta população foi uma das mais fortes, quando comparado com **S1** (70% maior) e com **R3** (6% maior), corroborando com Kanga et al. (1997) e Lame et al. (2001). O fato de que FRA2 tenha tido mais atividade da AChE do que **R3** significa que esta população teve temporalmente a mesma pressão de seleção exercida em laboratório, apesar dos inúmeros fatores propícios para a reversão da suscetibilidade presentes no campo (diluição genética por migração, redução natural da população por agentes biológicos, mortalidade natural em períodos adversos e redução por inseticidas de diferentes grupos químicos). A maior frequência e rotação de inseticidas no pomar FRA2 parece ter menor impacto sobre atividade da AChE, pois esta não é influenciado por inseticidas de outros grupos químicos.

Por exemplo, chlorantraniliprole não interfere na atividade da AChE (Li et al., 2011; Pestana et al., 2014), visto que o seu mecanismo de ação é completamente inovador. Este inseticida altera a homeostase do cálcio nos neurônios centrais. Além disso, diminui a biotransformação e as atividades de enzimas antioxidantes GST e CAT (enzimas antioxidantes catalases) e reduz os níveis de glutathione total, principalmente em baixas concentrações (Rodrigues et al., 2015). Assim, justifica-se que a menor atividade de GST na FRA2 seja devido ao maior número de pulverizações com chlorantraniliprole.

A atividade  $\alpha$ -EST na FRA2 foi significativamente maior do que em **S1** e **R2** (78,0% e 38,0%, respectivamente), assim como, para  $\beta$ -EST (92,75% e 52,0% maior do que em **S1** e **R2**, respectivamente). Isso pode estar associado ao custo energético do inseto e ao processo de desintoxicação induzido por inseticidas benzoilureia ( $n = 6$  pulverizações deste grupo), conforme observado por Reyes & Sauphanor (2008). Acrescenta-se a esse mecanismo as altas atividades de esterase induzidas pelas aplicações de neonicotinoides ( $n = 7$  em três anos), como sugerido por Ninsin & Tanaka (2005) e Reyes et al. (2007). De fato, inseticidas benzoilureia, diacilhidrazida e neonicotinoides são inativados pelas atividades das esterases e não por atividade pela

AChE (Eldefrawi & Eldefrawi, 1990). Finalmente, altos níveis de esterases são capazes de catalisar o metabolismo de chlorantraniliprole (Sial et al., 2010b, 2011). A quantificação do grau da resistência de FRA2, definidos pelos testes de toxicidade e bioquímica em laboratório, são confirmados em nível de campo pelas capturas na classe 10 a 14 adultos no monitoramento do 10º dia após a pulverização. Com isso, podemos aceitar que elevadas capturas ao 10º dia após a pulverização sugerem populações com status de resistência a inseticida de um ou mais grupos químicos, necessitando de uma mudança de estratégia.

A estratégia rotacional é uma forma de gerenciamento de resistência para grafolita (Kanga et al., 2003; REX Consortium, 2010), porque bruscas mudanças com inseticidas de diferentes modos de ação causam estresses nos insetos e promovem ajustes compensatórios no metabolismo energético para manter homeostase fisiológica e bioquímica, entretanto, analisando a população FRA2, nos leva a considerar que as mudanças metabólicas possam ter origens comuns entre grupos químicos de inseticidas, e por isso, os benefícios da estratégia de rotação sobre o status da resistência não são plenamente alcançados.

Ao contrário, quando a rotação de inseticidas é simples, as chances da promoção de múltiplos mecanismos são reduzidas, como ocorreu nos pomares VAC1 e VAC2. Ambos foram os que tiveram o maior número de pulverizações com inseticidas organofosforados, definindo um status genético da população, e quando ocorre a introdução de um novo inseticida, cujo sítio de ação não seja da AChE, os mecanismos de resistência do inseto tendem se adaptarem. Com isso, o status da resistência da população se alternam, ora com maior atividade de GST (VAC1) e baixa atividade da AChE,  $\alpha$ -EST e  $\beta$ -EST (VAC2) ora ao contrário. Com o tempo, constituem-se indivíduos únicos devido ao comportamento sedentário de *G. molesta* (Gu et al., 2003; Poltronieri et al., 2008) e de *C. pomonella* (Torriani et al., 2010) e aos seus altos níveis de endogamia, isto é, acasalamento de indivíduos aparentados ou geneticamente semelhantes (Torriani et al., 2010). O potencial de dano desta população vai depender do manejo agrônomico e ecológico, pois os acasalamentos de indivíduos entre pomares são mínimos, e a melhora genética é condicionada a uma pequena fração da população que realiza voos migratórios (Gu et al., 2003).

O manejo fitossanitário em áreas de cultivares de ciclo precoce minimiza o processo de seleção e mudanças bioquímicas, como se verificou na população PRMD.

O pomar conciliou a técnica de confusão sexual com um baixo número de pulverização por ano e com maiores intervalos de pressão de seleção pós-colheita; assim, o conjunto promoveu as mais baixas atividades enzimáticas para GST e  $\alpha$ -EST e  $\beta$ -EST e, na prática, as mais baixas capturas de grafolita no 10º dia após a pulverização.

O objetivo do manejo de pragas em pomares de macieira não deveria ser a eliminação total dos insetos, pois o custo energético, ecológico e econômico é muito alto. O que se procura é diminuir a influência dos fatores de seleção sobre os insetos, como ocorreu de forma drástica com o pomar abandonado (S2). Este efeito se chama deriva genética (*'genetic drift'*) (Levin et al., 2000) e pode ser alcançado com a utilização de estratégia de redução de uma população por um efeito não selecionador, como é o caso de uma técnica não química (controle biológico, cultural e feromônios). Além disso, se pode reduzir a frequência de um inseticida que não apresenta mais a eficiência inicial, como é o caso de tebufenozide. Mas a simples ausência de tebufenozide em um pomar por dois anos não vai provocar uma reversão da resistência se continuar a pulverização de inseticidas methoxifenozone, lufenuron e teflubenzuron, pois há uma resistência cruzada entre os grupos químicos (Sauphanor et al., 2000; Reyes et al., 2007).

Populações de insetos resistentes aos inseticidas organofosforados possuem elevada atividade da enzima AChE e, como os antranilamidas (chlorantraniliprole) não colaboram para a atividade da AChE, ambos podem estar juntos em um manejo de pragas. Populações tolerantes a spinosad e abamectin possuem maiores atividades de oxidase de Função Múltipla (OFM), as quais também são as enzimas de responsáveis pela desintoxicação a inseticidas benzoilureias e diacilhidrazida (Tabela 8).

Poucos estudos sobre evolução de resistência consideram o mosaico de estratégias (monitoramento após 10 dias da pulverização, efeito residual de inseticidas a pragas não alvo, uso de estratégias não seletivas, etc.), isto é, parâmetros que não contemplam um efeito direto sobre os insetos. Na prática, observou-se que alguns produtores não consideram o critério econômico para a comparação de eficiência entre estratégias. Esta situação é surpreendente, pois ela é a base para a adoção de uma campanha fitossanitária. Via de regra, a preocupação de alguns é a redução da praga em número, mas não levam em consideração os efeitos negativos indiretos, tais como desequilíbrio biológico do agroecossistema, seleção de populações resistentes ou ainda perdas de rendimento devido a densidades de pragas secundárias (Ojiambo et al., 2002).

A má escolha do manejo pode implicar na saúde humana, inviabilizando o negócio em longo prazo (Fleßa & Marschall, 2009). Produtores de maçãs (mercado nacional ou internacional) são compelidos a exercitarem o lado econômico, isto é, ao adotarem uma determinada técnica de manejo levam em consideração os custos de implantação de uma estratégia de controle, a redução de danos de frutos e a manutenção da qualidade, em resumo, o que dá credibilidade a uma marca comercial.

Tabela 8. Ligação entre atividade enzimática (AChE, OFM, Esterases, GST) dos insetos e grupos químicos de inseticidas.

Inseticidas	AChE	MFO	EST	GST
Fosforado	***	*	*	**
Neonicotinoide	não	***	***	
Spinosin		***		
Abamectin		**	***	
Piretroide		***		
Benzoilureia		***		
Diacilhidrazida	**	**		***
Antranilamida	não		*	***

\* - ligação fraca entre atividade enzimática do inseto e inseticida; \*\* - ligação intermediária; \*\*\* - ligação forte; AChE- acetilcolinesterase; OFM- oxidase de Função Múltipla; EST- esterases; GST- glutathiona-S-transferase. Fonte: LBM copilado de Reyes et al., (2007), Kanga et al. (2001); Rodriguez et al. (2011); Siegart et al. (2011); Monteiro & Witt (2020)

## 5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A análise do status fitossanitário de 27 pomares no Sul do Brasil mostrou a capacidade do setor em absorver novas tecnologias. Poucos produtores apresentam dificuldades na incorporação dos aspectos ecológicos, econômicos e fitossanitários, o que sinaliza uma meta para os órgãos de pesquisa e extensão. O conhecimento acumulado nos sugere que o manejo de ervas daninhas tenha relação direta com as ocorrências de ácaro vermelho e suas conseqüentes pulverizações de acaricidas; que o uso indiscriminado de certos inseticidas e acaricidas possa eliminar ácaros predadores e a entomofauna benéfica; que o uso de inseticidas de amplo espectro no período pós-floração possa comprometer o equilíbrio entre pragas e seus agentes de controle na primavera; que o uso de inseticidas do grupo neonicotinoides esteja relacionado com a redução de enxames de abelhas; que o uso de isca tóxica para mosca-das-frutas seja uma alternativa sustentável e inicial de controle; que a eliminação total de frutos dos pomares seja benéfica fitossanitária; que o efeito residual dos inseticidas sobre as macieiras tenha impacto sobre seleção de populações de tortricídeos; que o processo de seleção dos insetos seja lento, mas contínuo; que cada inseticida tenha as suas características física e química e sua aplicação deva ser de acordo com o estágio do inseto; que a integração de técnicas não seletivas aos inseticidas seja sustentável; que o monitoramento possa ser organizado em tabelas e gráficos, etc.

A análise da perda da suscetibilidade da praga continua a ser mal avaliada por alguns produtores. *G. molesta* é uma praga residente com mínima imigração entre populações de pomares de macieira, o que pode ser positivo à medida que os genes de resistência possam se diluir, caso seja utilizada estratégia não seletiva. Apesar do incremento com inseticidas modernos, as pulverizações de larvicidas na floração (chlorantraniliprole, tebufenozide, methoxifenozone, lufenuron e teflubenzuron) e repetidas em sequência na pós-floração ou pré-colheita não é a melhor estratégia. Acrescenta-se a isso o uso de inseticida do grupo neonicotinoides para o controle de mosca-das-frutas, os quais atuam em mesmo sítio de ação dos inseticidas larvicidas.

A técnica de confusão sexual reduz a ocorrência de adultos de *G. molesta* e diminui o uso de inseticidas após a floração, cuja instalação é condicionada a uma pulverização de um inseticida adulticida. Entretanto, durante a fase da floração, o

controle de larvas de grafolita ainda é uma incógnita, visto que, do ponto de vista biológico, não há alimento em abundância para as larvas; pode-se considerar que essa fase fenológica tem um baixo potencial de dano. O uso de um larvicida na floração é mais ‘psicológico’ do que técnico, embora se reconheça a responsabilidade de técnicos, agrônomos e produtores em produzir alimentos com boa qualidade externa.

Associado ao uso de inseticidas na floração, a data de aplicação da confusão sexual é um ponto mais importante para os pomares que fazem sua adoção. No agroecossistema 25°-750, a data ideal seria a aplicação em 15 de outubro para as formulações com validade de quatro meses e 1° de setembro para as formulações com seis meses. No 28°-950 a instalação seria entre 15 e 30 de outubro com formulações válidas por seis meses e no 28°-1200 o ideal seria entre 10 e 20 de novembro com formulações de seis meses de validade. Essas datas aqui mencionadas podem ser modificadas de acordo o status fitossanitário do pomar, principalmente para aqueles que possuem variedades de ciclo tardio ou colheita prolongada.

Concluindo, exaltamos a necessidade de melhorar a compreensão do monitoramento e da avaliação da eficiência de inseticidas pela captura de grafolita no 10° dia após tratamento, o que consideramos uma boa ferramenta prática para determinar o status de resistência da população.

## 5. CONCLUSÃO

- 1- A maioria dos pomares foi classificada como pomares MIP e BPA;
- 2- Os resultados mostraram o bom nível tecnológico adotado pelos produtores de maçã do Sul do Brasil;
- 3- *G. molesta* apresenta flutuação populacional de acordo com o agroecossistema;
- 4- Capturas de grafolita foram significativamente menores em pomares que utilizaram confusão sexual;
- 5- As populações originadas de pomares com confusão sexual foram aquelas que tiveram a menor  $DL_{50}$ ;
- 6- As populações originadas de pomares com confusão sexual foram aquelas que tiveram as menores atividades enzimáticas;
- 7- Redução na média da captura da *G. molesta* no 10º dia após pulverização indicou maior suscetibilidade da população;
- 8- As populações mostraram-se tolerantes aos inseticidas chlorpyrifos e lufenuron;
- 9- Populações que receberam o inseticida chlorantraniliprole anualmente mostraram-se mais tolerantes do que a população tolerante (R2);
- 10- A rotação de inseticidas deve levar em consideração os mecanismos de resistência ou sítios de ação dos inseticidas de cada grupo químico.

## 5. REFERÊNCIAS

- ABDOURAHIME, H. et al. Review of the existing maximum residue levels for imidacloprid according to Article 12 of Regulation (EC) No 396/2005. Approved by European Food Safety Authority (EFSA): 12 December 2018, doi: 10.2903/j.efsa.2019.5570.
- ALTIERI, M.A.; LIEBMAN, M. Insect, weed, and plant disease management in multiple cropping system. In: C. A. Francis (Ed.), Multiple cropping systems. New York, MacMillan Publishing, 1986.
- ARAÚJO, E.S., TARGÃO, D.P., PASTORI, P.L., MONTEIRO, L.B. Selectivity of phytosanitary products to *Trichogramma pretiosum* collected in apple leafroller eggs, *Bonagota salubricola* (Meyrick, 1937) (Lepidoptera: Tortricidae) in Fraiburgo, Santa Catarina State, Brazil. *Scientia Agraria*, 14: 35-39, 2013.
- ARAÚJO, E.S., MONTEIRO, L.B., MONTEIRO, R.S., NISHIMURA, G., FRANCK, P., LAVIGNE, C. Impact of native forest remnants and wild host plants on the abundance of the South American fruit fly, *Anastrepha fraterculus* in Brazilian apple orchards. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 275: 93–99, 2019.
- AVILA, A.F.D., MAGALHÃES, M.C., VEDOVOTO, G.L., IRIAS, L.J.M., RODRIGUES, G.S. Impactos econômicos sociais e ambientais dos investimentos na Embrapa. *Revista de Política Agrícola*, 14: 86-101, 2005
- BERNARDI, D., BOTTON, M., ANDREAZZA, F., NETO E SILVA, B.A.O., ARIOLI, J.C., OMOTO, C. Suscetibility of *Bonagota salubricola* (Lepidoptera: Tortricidae) to insecticides in Brazilian apple orchards: implication for resistance management. *Journal of Economic Entomology*, 1: 1881-1886, 2016.
- BISOGNIN, M., ZANARDI, O.Z., NAVA, D.E., ARIOLI, C.J., BOTTON, M., GARCIA, M.S., CABEZAS, M.F. Burrknots as food source for larval development of *Grapholita molesta* (Lepidoptera: Tortricidae) on apple trees. *Environment Entomology*, 41: 849-854, 2012. doi <http://dx.doi.org/10.1603/EN11119>.
- BRASIL. Ministério da Saúde. 2006. Metodologia para quantificação de atividade de enzimas relacionadas a resistência a inseticidas em *Aedes aegypti*. 1 ed. Brasília.
- CAMPOS, M.R., SILVA, T.B.M., SILVA, W.M., SILVA, J.E., SIGUEIRA, H.A.A. Spinosyn resistance in the tomato borer *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae). *Journal Pesticide Science*, 88: 405–412, 2015.
- CHARMILLOT, P.J., PASQUIER, D., SALAMIN, CH., BRIAND, F. Détection de la résistance du carpocapsa *Cydia pomonella*. *Revue Suisse Viticulture Arboriculture Horticulture*, 39: 385–389, 2007.
- COLLIER, K.F.S., ALBUQUERQUE, G.S., EIRAS, Á.E., BLACKMER, J. L., ARAÚJO, M.C., MONTEIRO, L.B. Estímulos Olfativos Envolvidos na Localização de Presas pelo Ácaro Predador *Neoseiulus californicus* (McGregor)

- (Acari: Phytoseiidae) em Macieiras e Plantas Hospedeiras Alternativas. *Neotropical Entomology*, 30: 631-639, 2001.
- COLLIER, K.F.S., EIRAS, Á.E., ALBUQUERQUE, G.S., BLACKMER, J. L., ARAÚJO, M.C., MONTEIRO, L.B. Localização de presas à curta distância por *Neoseiulus californicus* (McGregor) (Acari: Phytoseiidae): o papel dos aleloquímicos dos ácaros fitófagos *Panonychus ulmi* (Koch) e *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae) e da planta hospedeira, *Malus domestica* (Borkham). *Anais da Sociedade Entomológica do Brasil (Cessou em 2000)*, 29: 705-713, 2000.
- DEVILLIERS J., FARRET R., GIRARDIN P., RIVIERE J.-L., SOULAS G. Indicateurs pour évaluer les risques liés à l'utilisation des pesticides. LAVOISIER. Editions TEC & DOC, 278 pp., 2005.
- ELLMAN, G.L., COUTNEY, K.O., ANDRES, V., FEATHERSTONE, R.M.A. New and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochemical Pharmacology*, 7, p. 88- 95, 1961.
- ELDEFRAWI, M.E., ELDEFRAWI, A.T. 1990. Nervous-system- based insecticides, pp. 155–207. In E. Hodgson and R. J. Kuhr (eds.), *Safer insecticides: development and use*. Marcel Dekker, New York, NY.
- EMBRAPA. PIM - Produção Integrada de maçã: normas para solicitação de inclusão de agrotóxicos e agroquímicos na grade de produção - safra 2021/2022. Bento Gonçalves, RS: Embrapa Uva e Vinho, 2020. <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/215382/1/COMUNICADO-TECNICO-215-Publica-605-Grade-PIM-versao-2020-08-12.pdf>. Acesso em 06 maio 2021.
- FLEBA, B., MARSCHALL. P. 2009. Socio-economic impact of antiviral intervention. In H.-G. Krau'sslich, and R. Bartenschlager, eds. *Handbook of Experimental Pharmacology: Antiviral Strategies*, pp. 347–374. Springer, Berlin.
- GALLIVAN, G.J., SURGEONER, G.A., KOVACH, J. Pesticide Risk Reduction on Crops in the Province of Ontario, *Journal Environment Quality*, 30: 798-813, 2001. doi: 10.2134/jeq2001.303798x.
- GIANNINI, T.C., CORDEIRO, G.D., FREITAS, B.M., SARAIVA, A.M., IMPERATRIZ-FONSECA, V.L. The dependence of crops for pollinators and the economic value of pollination in Brazil. *Journal of Economic Entomology*, 1–9, 2015. DOI: 10.1093/jee/tov093.
- GIRI, G.S., BHATT, B., MALL, P., PANDEY, R. Effect of thiamethoxam on foraging activity and mortality of *Apis mellifera* (L.) *Indian Journal Agriculture Research*, 52: 215-217, 2018.
- GONRING, A.H.R., PICANÇO, M., DE MOURA, M.F., BACCI. L., BRUCKNER, C.H. Seletividade de inseticidas, utilizados no controle de *Grapholita molesta* (Busck) (Lepidoptera: Olethreutidae) em pêssego, a Vespidae predadores. *Anais da Sociedade Entomológica do Brasil*, 28: 301-306, 1999.
- GRÁVALOS, C., FERNÁNDEZ, E., BELANDO, A., MORENO, I., ROS, C., BIELZA, P. Cross-resistance and baseline susceptibility of Mediterranean

- strains of *Bemisia tabaci* to cyantraniliprole. *Pest Management Science*, 71: 1030–1036, 2015.
- GREITENS, T.J., DAY, E. An alternative way to evaluate the environmental effects of integrated pest management: Pesticide risk indicators. *Renewable Agriculture and Food Systems*, 22:213–222, 2007.
- GRIFFITH P., GIRARDIN P., SOING P. L'indicateur phytosanitaire I-PHYarbo: Mode de construction (non publié – não publicado), 2003.
- GRÜTZMACHER, A.D., LOECK, A.E., FACHINELLO, J.C., GRÜTZMACHER, D.D., GARCIA, M.S. Eficiência dos inseticidas fisiológicos Mimic 240 SC (tebufenozide) e Intrepid 240 SC (methoxifenozide) no controle da mariposa oriental *Grapholita molesta* (Busck, 1916) (Lepidoptera: Tortricidae) na cultura da pereira. *Revista Brasileira de Agrociência*, 5: 211-215, 1999.
- GU, H., HUGHES, J., DORN, S. Trade-off between mobility and fitness in *Cydia pomonella* L. (Lepidoptera: Tortricidae). *Journal of Economic Entomology*, 31: 68–74, 2003.
- GUENNELON, G., AUDEMARD, H., FREMOND, J.C., EL IDRISSE AMMARI M.A. Progress achieved in permanent rearing of the codling moth (*Laspeyresia pomonella* L.) on an artificial medium. *Agronomia*, 1: 59-64, 1981.
- HENRY, M., BÉGUIN, M., REQUIER, F., ROLLIN, O., ODOUX, J.F., AUPINEL, P., APTEL, J., TCHAMITCHIAN, S., DECOURTYE, A. A Common Pesticide Decreases Foraging Success and Survival in Honey Bees. *Science*, 336: 348-350, 2012. doi: 10.1126/science.1215039
- JIANG, X., ZHENGWEIWANG, HE, Q., LIU, Q., LI, X., YU, L., CAO, H. The Effect of Neonicotinoid Insecticide and Fungicide on Sugar Responsiveness and Orientation Behavior of Honey Bee (*Apis mellifera*) in Semi-Field Conditions. *Insects*, 9: 130, 2018. doi:10.3390/insects9040130.
- JONES, M.M., ROBERTSON, J.L., WEINZIERL, R.A. Susceptibility of oriental fruit moth (Lepidoptera: Tortricidae) to two pyrethroids and a proposed diagnostic dose of esfenvalerate for field detection of resistance. *Journal Economic Entomology*, 104: 1031-1037, 2011.
- KANGA, L.H.B., PREE, D.J., VAN LIER, J.L L., WHITTY, K.J. Mechanisms of Resistance to Organophosphorus and Carbamate Insecticides in Oriental Fruit Moth Populations (*Grapholita Molesta* Busck). *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 59: 11–23, 1997.
- KANGA, L.H.B., PREE, D.J., PLAPP, F.W.JR., VAN LIER, J.L. Sex-Linked Altered Acetylcholinesterase Resistance to Carbamate Insecticides in Adults of the Oriental Fruit Moth, *Grapholita molesta* (Lepidoptera: Tortricidae) *Pesticide Biochemistry and Physiology* 71: 29–39, 2001. doi:10.1006/pest.2001.2562.
- KANGA, L.H.B., PREE, D.J.P., LIER, J.L.VAN., WALKER, G.M. Management of insecticide resistance in Oriental fruit moth (*Grapholita molesta*; Lepidoptera: Tortricidae) populations from Ontario. *Pest Manag Sci*, 59: 921–927 online, 2003.

- KEEN, J.H., HABIG, W.H., JAKOBY, W.B. Mechanism for several activities of the glutathione S-transferase. *J. Biol. Chem.* 251, 6183- 6188, 1976.
- KOVACH, J., PERZOLDT, C., DEGNI, J., TETTE, J. A method to measure the environmental impact of pesticides. *New York's Food and Life Sciences Bulletin*, 139: 1-8, 1992.
- KOVANCI, O., WALGENBACH, J. Monitoring the Oriental fruit moth with pheromone and bait traps in apple orchards under different management regimes. *International Journal Pest Management*, 24: 273- 279, 2005.
- de LAME, F.M., HONG, J.J., SHEARER, P.W., BRATTSTEN, L.B. Sex-related differences in the tolerance of Oriental fruit moth (*Grapholita molesta*) to organophosphate insecticides. *Pest Management Science*, 57: 827–832, 2001.
- LEVIN, B.R., PERROT, V., WALKER, N. Compensatory mutations, antibiotic resistance and the population genetics of adaptive evolution in bacteria. *Genetics*, 154: 985–997, 2000.
- LEVITAN L, MERWIN I, KOVACH J. Assessing the relative environmental impacts of agricultural pesticides: the quest for a holistic method. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 55: 153-168, 1995.
- LI, Y., MAO, M., LI, Y., XIONG, L., LI, Z., XU, J. Modulations of highvoltage activated Ca<sup>2+</sup> channels in the central neurones of *Spodoptera exigua* by chlorantraniliprole. *Physiological Entomology*, 36: 230–234, 2011. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3032.2011.00788.x>
- MAGALHÃES, L.C., WALGENBACH J.F. Life Stage Toxicity and Residual Activity of Insecticides to Codling Moth and Oriental Fruit Moth (Lepidoptera: Tortricidae). *Journal of Economic Entomology*, 104: 1950-1959, 2011. URL: <http://www.bioone.org/doi/full/10.1603/EC11070>
- MAICON B., ZANARDI, O.Z., NAVA, D.N., ARIOLI, C., BOTTON, M., GARCIA, M., CABEZAS, M.F. Burrknots as Food Source for Larval Development of *Grapholita molesta* (Lepidoptera: Tortricidae) on Apple Trees *Environmental Entomology*, 41: 849-854, 2012.
- MANGAN, R.L., MORENO, D.S. Development of Bait Stations for Fruit Fly Population Suppression. *Journal of Economic Entomology*, 100: 440-450, 2007. [doi.org/10.1603/0022-0493\(2007\)100\[440:DOBSFF\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1603/0022-0493(2007)100[440:DOBSFF]2.0.CO;2)
- MONTEIRO, L.B. Controle biologique de *Panonychus ulmi* (Koch) (Acari: Tetranychidae) en fonction du programme de traitement contre la mouche des fruits dans la région de Vacaria (Brésil). In: *Conférence internationale ravagers en agriculture*, 3, Montpellier, Anais..., v. 2: 611-619, 1993.
- MONTEIRO, L.B. Efeito de inseticida utilizado para o controle de mosca-das-frutas em pomares de macieira sobre *Neoseiulus californicus* (Acari: Phytoseiidae). *Scientia Agraria*, 2: 81-85, 2001a.
- MONTEIRO, L.B. Seletividade de inseticidas a *Neoseiulus californicus* McGregor (Acari: Phytoseiidae) em macieira, no Rio Grande do Sul, *Revista Brasileira de Fruticultura*, 23: 589-592, 2001b.

- MONTEIRO, L.B. Manejo integrado de pragas em macieira no Rio Grande do Sul II. Uso de *Neoseiulus californicus* para o controle de *Panonychus ulmi*. Revista Brasileira de Fruticultura, 24: 395-405, 2002a.
- MONTEIRO, L.B. Criação de ácaros fitófagos e predadores: um caso de produção de *Neoseiulus californicus* em produtores de maçã. In: PARRA, J.R.P; Botelho, P.S.M; Correa-Ferreira, B.S.; Bento, J.M.S. (Org.). Controle biológico no Brasil: parasitóides e predadores. 1ed. Barueri - SP: Editora Manole Ltda. p. 351-365, 2002b.
- MONTEIRO, L.B., BELLI, L., SOUZA, A., WERNER, A.L. Efeito do manejo de ervas daninhas sobre *Neoseiulus californicus* (Acari: *Phytoseiidae*) em pomar de macieira. Revista Brasileira de Fruticultura, 24: 680-682, 2002c.
- MONTEIRO, L.B., SOUZA A., BELLI, L. Parasitism on *Eriosoma lanigerum* (Homoptera: Aphididae) by *Aphelinus mali* (Hymenoptera: Aphelinidae) on apple orchards, in Fraiburgo country, State Santa Catarina. Revista Brasileira de Fruticultura, 26: 550-551, 2004a.
- MONTEIRO, L.B., SOUZA, A., BELLI, L., QUERINO, R.B., ZUCCHI, R.A. Ocorrência de *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae) em ovos de *Bonagota cranaodes* (Meyrick) (Lepidoptera: Tortricidae) em macieira. Revista Brasileira de Fruticultura, 26: 171-172, 2004b.
- MONTEIRO, L.B., SOUZA, A., PASTORI, P.L. Comparação econômica entre controle biológico e químico para o manejo de ácaro-vermelho em macieira. Revista Brasileira de Fruticultura, 28: 314-317, 2006.
- MONTEIRO, L.B., MIO, L.L.M., MOTTA, A.C.V., SERRAT, B.M., CUQUEL, F.L. Avaliação de atrativos alimentares utilizados no monitoramento de mosca-das-frutas em pessegueiro na Lapa-PR. Revista Brasileira de Fruticultura, 29: 072-074, 2007a.
- MONTEIRO, L.B., FABBRIN, E. Controle de *Anastrepha fraterculus* com isca tóxica em pomares com confusão sexual de *Grapholita molesta*. In: Monteiro, L. B. Confusão sexual mais isca tóxica no controle de grafolita. 10º Encontro Nacional de Fruticultura de Clima Temperado (ENFRUTE). Fraiburgo, 2007b.
- MONTEIRO, L.B., SOUZA, A. DE., BELLI, L. Mating disruption for the control of *Grapholita molesta* (Lepidoptera: Tortricidae), in Fraiburgo, Santa Catarina, Brazil. Bragantia, 67: 191-196, 2008.
- MONTEIRO, L.B., TEIXEIRA, R., GUILOSKI, I.C., CHAPPUIS, E., SILVA DE ASSIS, H.C. Resistance of oriental fruit moth (Lepidoptera: Tortricidae) to insecticides in apple orchards in southern Brazil. Revista Brasileira de Fruticultura, 2018: (e-608). DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/0100-29452018608>.
- MONTEIRO, L.B., WITT, L.G., GUILOSKI, I.C., SANTOS, R.S.S., SILVA DE ASSIS, H.C. Evaluation of Resistance Management for the Oriental Fruit Moth (Lepidoptera: Tortricidae) to Insecticides in Brazilian Apple Orchards. Journal of Economic Entomology, 113: 1411–1418, 2020. doi.org/10.1093/jee/toaa023.
- NARIO, A., CAPRI, E., BALDERACCHI, M., PINO, I., PARADA, A.M., VIDELA, X., LUZIO, W., CASANOVA, M., SEGUEL, O. Pesticide risk management

- using indicators for vineyards in the central valley of Chile. *Integrated Environmental Assessment Management*, 5: 476–482, 2009.
- MOURON, P., NEMECEK, T., SCHOLZA, R.W., WEBERA, O. Management influence on environmental impacts in an apple production system on Swiss fruit farms: Combining life cycle assessment with statistical risk assessment. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 14: 311-322, 2006. doi.org/10.1016/j.agee.2005.11.020.
- NINSIN, K.D., TANAKA, T. Synergism and stability of acetamiprid resistance in a laboratory colony of *Plutella xylostella*. *Pest Management Science*, 61: 723–727, 2005.
- OJIAMBO, P.S., SCHERM, H., BRANNEN, P.M. Septoria leaf spot intensity, defoliation, and yield loss relationships in southern blueberries. *Phytopathology*, 92: S1025, 2002.
- PAIXÃO, M.G. Efeitos de formulações e métodos de aplicação de *Bacillus thuringiensis* (Berliner, 1915) sobre *Grapholita molesta* (Busck, 1916) (Lepidoptera: Tortricidae) em maçã. 2012. p. 66 Dissertação. Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2012.
- PASTORI P.L., ARIOLI, C.J., BOTTON M., MONTEIRO, L.B., MAFRA N.A. Avaliação da técnica de disrupção sexual utilizando emissores Splat® visando ao controle de *Bonagota salubricola* (Meyrick) e *Grapholita molesta* (Busck) (Lepidoptera: Tortricidae) na pré-colheita de maçãs da cultivar ‘Fuji’. *BioAssay*, 3: 1-8, 2008.
- PASTORI, P.L., ARIOLI, C.J., BOTTON, M., MONTEIRO, L.B., STOLTMAN, L., MAFRA NETO, A. Integrated control of two tortricid (Lepidoptera) pests in apple orchards with sex pheromones and insecticides. *Revista Colombiana de Entomologia*, 38: 224-230, 2012.
- PESTANA, J.L., NOVAIS, S.C., LEMOS, M.F., SOARES, A.M. Cholinesterase activity in the caddisfly *Sericostoma vittatum*: Biochemical enzyme characterization and in vitro effects of insecticides and psychiatric drugs. *Ecotoxicology Environmental Safety*, 104: 263–268, 2014.
- PEREIRA, J., MONTEIRO, L.B., SOSA GÓMEZ, D.R. Mortality of apple leafroller exposed to different *Bacillus thuringiensis* subspecies in artificial diet, in three assessment periods. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 40: (e-732), 2018. doi: http://dx.doi.org/10.1590/0100-29452018732.
- POLTRONIERI, A.S., MONTEIRO, L.B., SCHUBER, J.M., CARDOSO, N.A. Conexidade populacional de *Grapholita molesta* (Busck, 1916) (Lepidoptera: Tortricidae) entre pomares de pessegueiro e macieira. *Scientia Agraria*, 9: 339-348, 2008.
- REYES, M., FRANCK, P., CHARMILLOT, P.J., IORIATTI, C.J., OLIVARES, J., PASQUALINI, E., SAUPHANOR, B. Diversity of insecticide resistance mechanisms and spectrum in European populations of the codling moth, *Cydia pomonella*. *Pest Management Science*, 63: 890–902, 2007.

- REYES, M., SAUPHANOR, B. Resistance monitoring in codling moth: a need for standardization. *Pest Management Science*, 64: 945–953, 2008.
- REX CONSORTIUM. The skill and style to model the evolution of resistance to pesticides and drugs. *Evolutionary Applications*, 3: 375–390, 2010.
- RODRIGUES, G.S., CAMPANHOLA C., KITAMURA, P.C. An environmental impact assessment system for agricultural R and D. *Environmental Impact Assessment Review*, 23: 219-244, 2003.
- RODRIGUES, G.S., RODRIGUES, I.A., BUSCHINELLI, C.C.A., BARROS, I. Integrated farm sustainability assessment for the environmental management of rural activities. *Environmental Impact Assessment Review*, 30: 229-239, 2010.
- RODRIGUES, A.C., GRAVATO, C., QUINTANEIRO, C., GOLOVKO, O., ŽLÁBEK, V., BARATA, C., SOARES, A.M., PESTANA, J.L. Life history and biochemical effects of chlorantraniliprole on *Chironomus riparius*. *Sci. Total Environ.* 508: 506–513, 2015.
- RODRIGUEZ, A.M., BOSCH, D., SAUPHANOR, B., AVILLA, J. Susceptibility to Organophosphate Insecticides and Activity of Detoxifying Enzymes in Spanish Populations of *Cydia pomonella* (Lepidoptera: Tortricidae). *Journal of Economic Entomology*, 103: 482-491, 2010.
- ROUSH, R.T., DALY, J.C. The role of population genetics in resistance research and management. In: ROUSH, R. T. E TABASHNIK, B. E. (eds.), *Pesticide resistance in arthropods*. Chapman and Hall, New York, p. 97-152, 1990.
- RUSSELL, R.M., ROBERTSON, J.L., SAVIN, N.E. POLO: A new computer program for probit analysis, *Bulletin of the Entomological Society of America*, 23: 209-213, 1977. doi.org/10.1093/besa/23.3.209.
- SANTOS, M.R.C., RODRIGUES, G.S. Socio-environmental and sustainability assessment for technology innovations at pectens production in Brazil. *Journal of technology Management and Innovation*, 3: 123-128, 2008.
- SATO, M.S., SILVA, M., GONÇALVES, L.R., DE SOUZA FILHO, M.F., RAGA, A. Toxicidade Diferencial de Agroquímicos a *Neoseiulus californicus* (McGregor) (Acari: Phytoseiidae) e *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae) em morangueiro. *Neotropical Entomology*, 31: 449-456, 2002.
- SAUPHANOR, B., BROSSE, V., BOUVIER, J.C., SPEICH, P., MICOUD, A., MARTINET, C. Monitoring resistance to diflubenzuron and deltamethrin in French codling moth populations (*Cydia pomonella*). *Pest Management Science*, 56: 74–82, 2000.
- SCHUBER, M.J., MONTEIRO, L.B., POLTRONIERI, A.S., CARDOSO, N.A., MAY DE MIO, L.L. Influência de sistemas de produção sobre a ocorrência de inimigos naturais de afídeos em pomares de pessegueiros em Araucária-PR. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 30: 336-342, 2008.
- SIAL, A.A., BRUNNER, J.F. Toxicity and residual efficacy of chlorantraniliprole, spinetoram, and emamectin benzoate to obliquebanded leafroller (Lepidoptera: Tortricidae). *Journal of Economic Entomology*, 103: 1277–1285, 2010a.

- SIAL, A.A., BRUNNER, J.F., DUNLEY, J.E., GARCZYNSKI, S.F. Obliquebanded leafroller (Lepidoptera: Tortricidae) resistance to novel chemistries: is it possible, stable, and manageable? In Proceedings of the 84th Annual Western Orchard Pest and Disease Conference, Washington State University, Pullman, WA., 2010b. doi: <http://entomology.tfrec.wsu.edu/wopdmc/Abstracts2010.pdf>.
- SIEGWART, M., MONTEIRO L.B., MAUGIN S., OLIVARES J., CARVALHO S.M., SAUPHANOR S. Tools for resistance monitoring in Oriental fruit moth (Lepidoptera:Tortricidae) and first assessment in brazilian populations. Journal of Economic Entomology, 104, 636-645, 2011. doi: 10.1603/EC10302.
- SILVA de ASSIS, H.C. Der einatz von biomarkern zur summarischen erfassung von Gewässerverschmutzungen. 1998. 99 f. Tese de Doutorado, Universidade Técnica de Berlim, Alemanha, 1998.
- SILVA, E.D.B., KUHN, T.M.A., MONTEIRO, L.B. Oviposição on behavior of *Grapholita molesta* Busck (Lepidoptera: Tortricidae) at different temperatures. Neotropical Entomology, 40: 415-420, 2011.
- STENROD M., HEGGEN, H.E., BOLLI, R.I., EKLO, O.M. Testing and comparison of three pesticide risk indicator models under Norwegian conditions—a case study in the Skuterud and Heiabekken catchments. Agriculture Ecosystems & Environment. 2008: 123:15–29, 2008. doi: 10.1016/j.agee.2007.03.003.
- STRAPASSON, P., MONTEIRO, L.B., ZARBIN, P.H.G. Electrophysiological and behavioral response of the oriental fruit moth *Grapholita molesta* (Busck, 1916) (Lepidoptera: Tortricidae) to the volatiles of apple fruits at different stages of development. Arthropod-Plant Interactions, 10: 517-524, 2016. doi: 10.1007/s11829-016-9457-5.
- STRASSEMAYER, J., DAEHMLOW, D., DOMINIC, A.R., LORENZ, S., GOLLA, B. SYNOPS-WEB, an online tool for environmental risk assessment to evaluate pesticide strategies on field level. Crop Protection, 97: 28-44, 1e17, 2017. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.cropro.2016.11.036>.
- TAVARES, D.A., DUSSAUBAT C., KRETZSCHMAR, A.E., CARVALHO, S.M., SILVA-ZACARIN, E.C.M., MALASPINA, O., BERAİL, G., BRUNET, J-L., BELZUNCES, L.P. Exposure of larvae to thiamethoxam affects the survival and physiology of the honey bee at post-embryonic stages. Environmental Pollution, 229: 386-393, 2017.
- TEIXEIRA, R., MONTEIRO, L.B., GUILOSKI, I.C., SILVA DE ASSIS, H.C., Zanatta, A.E. Laboratory populations: Is it representative for bioassays in relation to field population of oriental fruit moth? Journal of Agricultural Science, 8: 61-68, 2016. Doi: 10.5539/jas.v8n7p61.