

Foto: Eloisa Salmeron.



Metodologias para Instalação de Bioensaios para o Monitoramento da Resistência de *Bonagota salubricola* e *Grapholita molesta* a Inseticidas

Oscar Arnaldo Batista Neto e Silva¹
Marcos Botton²
Daniel Bernardi¹
Celso Omoto³

Introdução

A lagarta-enroladeira *Bonagota salubricola* (Meyrick, 1937) e a mariposa oriental *Grapholita molesta* (Busck, 1916) (Lepidoptera: Tortricidae) são duas importantes pragas da macieira e do pessegueiro no Brasil (KOVALESKI; RIBEIRO, 2003; BOTTON et al., 2011). Uma das principais estratégias para o manejo desses tortricídeos tem sido o emprego de inseticidas organofosforados, com destaque para o clorpirifós e o phosmet, respectivamente (KOVALESKI; RIBEIRO, 2002; ARIOLI et al., 2004; SIQUEIRA; GRÜTZMACHER, 2005; ARIOLI et al., 2007), além de novos ingredientes ativos, como o chlorantraniliprole, piriproxifem, lufenuron e novaluron (ARIOLI et al., 2004; BOTTON et al., 2005; ARIOLI et al., 2007; MONTEIRO et al., 2008; AGROFIT, 2013). É sabido que o emprego frequente de uma única estratégia de controle pode selecionar populações de insetos resistentes, resultando em

falhas no controle (GEORGHIU; TAYLOR, 1977b). A combinação de fatores como a alta pressão de seleção, a ausência de áreas de refúgios e o ciclo biológico curto das espécies pragas contribui para uma rápida seleção de indivíduos resistentes (GEORGHIU; TAYLOR, 1977a; TAYLOR et al., 1983).

A resistência de insetos consiste na habilidade dos indivíduos de uma espécie em suportar doses de substâncias tóxicas que seriam letais para a maioria dos indivíduos da população normal, ou seja, indivíduos de insetos anteriormente suscetíveis não são mais controlados por um determinado inseticida na dose normalmente recomendada ou, mesmo com o incremento na dose, o controle não é satisfatório (GEORGHIU, 1972). A resistência deve ser vista como um fenômeno de pré-adaptação em que o

¹ Doutorando do Departamento de Entomologia e Acarologia ESALQ/USP, Piracicaba, SP. E-mail: oscar.neto@ibest.com.br; dbernardi2004@yahoo.com.br.

² Eng. Agron., Doutor em Entomologia, Pesquisador da Embrapa Uva e Vinho, Bento Gonçalves, RS. E-mail: marcos.botton@embrapa.br.

³ Professor, Doutor em Entomologia, Departamento de Entomologia e Acarologia ESALQ/USP, Piracicaba, SP. E-mail: celso.omoto@usp.br.

inseticida somente seleciona, em cada geração, os genes responsáveis pela resistência encontrados em poucos indivíduos (BROWN, 1978).

Nesse sentido, a aplicação constante de inseticidas nas culturas da macieira e do pessegueiro é uma grande preocupação do setor produtivo, visto que essa prática agrícola ainda é a principal estratégia para o manejo das diferentes espécies fitófagas. Esse cenário também pode agravar-se diante do baixo número de inseticidas autorizados para uso em determinados cultivos, o que dificulta a rotação de produtos químicos durante a safra (Tabela 1) (AGROFIT, 2013). Até o momento, não foram detectados casos de resistência de *B. salubricola* e *G. molesta* que resultassem em falhas no controle em pomares comerciais. No entanto, foi verificada uma maior sobrevivência de lagartas de *B. salubricola* ao inseticida novaluron (3,3%) e *G. molesta* aos inseticidas phosmet (2,5%) e tebufenozide (4,5%), quando comparadas a lagartas suscetíveis de referência (SILVA, 2013). No caso do Clorpirifós, também foi registrada, para *G. molesta*, uma razão de resistência de 2,98 (SIEGWART et al., 2011). A partir desses estudos, é possível inferir que há indicativos de seleção de populações de *B. salubricola* e *G. molesta* resistentes a esses inseticidas. No entanto, a frequência de indivíduos resistentes ainda é baixa.

A utilização frequente de inseticidas pode selecionar populações resistentes e ocasionar falhas no controle do inseto (GEORGHIOU; TAYLOR, 1977b). Entre as consequências da seleção de populações resistentes, está o aumento no número de aplicações de inseticidas, o emprego de doses maiores e a substituição do produto por outro inseticida, geralmente mais tóxico ou mais caro (GEORGHIOU,

1983), o que compromete diretamente os princípios do Manejo Integrado de Pragas (MIP).

Neste comunicado técnico, são apresentadas metodologias de bioensaios que podem ser empregadas para mensurar a suscetibilidade de *Bonagota salubricola* e *Grapholita molesta* a inseticidas, visando a disponibilizar técnicas para implementar um programa pró-ativo de manejo da resistência.

Monitoramento da Resistência de Tortricídeos a Inseticidas

Uma das etapas fundamentais para a implantação de uma estratégia de Manejo de Resistência a Insetos (MRI) está relacionada à observação da suscetibilidade das pragas a um determinado produto, pois isso permite mensurar as mudanças na frequência de indivíduos resistentes e detectar o problema no início da evolução da resistência (ROUSH; MILLER, 1986). Para tanto, é necessária a realização de bioensaios para acompanhar continuamente a suscetibilidade da população da praga no campo. Através dos bioensaios, é possível estimar as linhas básicas de suscetibilidade das pragas e determinar as concentrações letais (CLs) de cada produto testado, estimando com precisão as concentrações diagnósticas para o monitoramento da suscetibilidade. No entanto, para que ocorra a detecção, o monitoramento e o MRI, um dos passos fundamentais é a definição do método de bioensaio a ser empregado para determinada espécie praga. De maneira geral, um bioensaio deve ser rápido (de fácil realização), confiável, barato, prático e realístico (ROUSH; MILLER, 1986; BUSH et al., 1993).

Tabela 1. Inseticidas autorizados para uso em macieira e pessegueiro para o manejo de lagartas (AGROFIT, 2013).

Ingrediente Ativo	Grupo Químico	Cultura	
		Macieira	Pessegueiro
Fenitrotiona, Fosmete, Malationa, Clorpirifós	Organofosforados	R	R
Deltametrina, Fenpropratrina	Piretroides	R	R e NR
Piriproxifem	Análogo do hormônio juvenil biológico	R	NR
<i>Bacillus thuringiensis</i>	<i>Bacillus thuringiensis</i>	R	NR
Lufenurom, Novalurom	Benzoilureias	R	R
Tebufenozide	Diacilhidrazinas	R	NR
Clorantraniliprole	Diamidas	R	R

R: Registrado para a cultura.

NR: Não registrado para a cultura.

As técnicas mais utilizadas para avaliar a suscetibilidade de tortricídeos a inseticidas são conduzidas com insetos nas fases de lagarta ou adulta. Para a fase de lagarta, o bioensaio de ingestão, com o tratamento da superfície da dieta artificial, é um dos mais utilizados (SIEGWART et al., 2011). Além desse, a incorporação do inseticida na dieta (JONES, 2010) e a aplicação tópica do inseticida sobre lagartas de terceiro instar utilizando microaplicadores também pode ser empregada (USMANI; SHEARER, 2001). Na fase adulta, as técnicas mais utilizadas são a aplicação em Torre de Potter (PREE et al., 2005), o contato residual com superfícies tratadas (KANGA et al., 2003; PREE et al., 2005) e a aplicação tópica sobre os adultos, com a utilização de microaplicadores (JONES, 2010).

Coleta de Populações de *B. salubricola* e *G. molesta* em Pomares

A criação e a multiplicação de insetos em laboratório constituem algo de extrema importância para avaliar a suscetibilidade de pragas aos inseticidas. A amostragem de insetos deve ser realizada diretamente em pomares comerciais previamente

selecionados com base em históricos de falhas de controle, sendo os pontos de coleta referenciados geograficamente utilizando-se o aparelho de GPS (Global Position System). A quantidade de insetos coletados por ponto de amostragem depende da infestação da praga no campo; no entanto, recomenda-se coletar uma quantidade de indivíduos que permita assegurar a variabilidade genética da população. A literatura não reporta um número ideal de insetos que devem ser coletados nesses casos. No entanto, sabe-se que ocorrem perdas significativas dessa variabilidade quando a população avaliada é oriunda de pequenas amostras de campo, geralmente de menos do que cinquenta indivíduos por coleta (KIM et al., 2007).

***Bonagota salubricola* (Meyrick, 1937)**

A coleta pode ser realizada a partir de posturas, lagartas ou pupas presentes nas folhas da cultura ou nos frutos de maçã (Figura 1). Também pode ser feita durante todos os meses do ano, uma vez que a praga também ocorre durante o período de dormência da macieira (BOTTON et al., 2000), abrigando-se em hospedeiros alternativos presentes no pomar (trevo, serralha e nabo), assim como



Fig. 1. *Bonagota salubricola*. (A) Postura; (B) lagarta; (C) Pupa em folha de macieira; (D) Lagarta alimentando-se em fruto de maçã (seta). Fotos: (A) Fabiana Fonseca; (B, C e D) Jardel Talamini de Abreu.

de maneira externa ao cultivo, em plantas como videira, pereira e ameixeira (KOVALESKI et al., 1998). O material deve ser coletado e armazenado em tubos (2,5 cm de diâmetro × 8,5 cm de altura) ou em caixas de isopor e transportado para o laboratório.

***Grapholita molesta* (Busck, 1916)**

Devido ao hábito da *G. molesta* de atacar a brotação da cultura (macieira e pessegueiro),

as coletas devem ser direcionadas para órgãos vegetativos que apresentarem sintomas de danos, principalmente murchamento dos ponteiros (Figura 2A e 2B). Caso a coleta seja realizada durante a fase de frutificação, deve-se coletar frutos com sintomas de ataque da praga (Figura 2). O material biológico coletado (ponteiros ou frutos) deve ser ensacado ou armazenado em caixas de isopor e transportado para o laboratório para triagem.



Fig. 2. *Grapholita molesta*. (A) Ponteiro de pessegueiro com excrementos da lagarta indicando a infestação; (B) Ponteiro de macieira com excrementos da lagarta; (C e D) Pêssego e maçã com lagartas de *G. molesta*; (E) Fruto de macieira com excrementos indicando a presença da praga; (F) Frutos de macieira danificados armazenados em bins de madeira no interior do pomar. Fotos: Cindy C. Chaves e Oscar A. B. Neto-Silva.

Criação e Manutenção de *B. salubricola* e *G. molesta* em Laboratório

Bonagota salubricola (Meyrick, 1937)

Em laboratório (temperatura de $25 \pm 1^\circ\text{C}$, umidade relativa de $70 \pm 10\%$ e fotofase de 14 horas), as lagartas devem ser transferidas para tubos de vidro (2,5 cm de diâmetro \times 8,5 cm de altura) contendo dieta artificial (Tabela 2), os quais devem ser fechados com algodão hidrófobo até que elas atinjam a fase de pupa (Figura 3A). Caso sejam coletadas posturas, essas devem ser colocadas em placas de Petri (9,0 cm de diâmetro \times 1,5 cm de altura) revestidas internamente com papel-filtro e vedadas com filme plástico até a eclosão das lagartas. Depois disso, as lagartas devem ser inoculadas em dieta artificial, colocando-se de cinco a oito lagartas por tubo de vidro (PARRA et al., 1995).

As pupas devem ser transferidas para placas de Petri, permanecendo ali até a emergência dos adultos (Figura 3B). Em seguida, os adultos são transferidos para gaiolas de madeira revestidas com tecido voile (40,0 \times 40,0 \times 40,0 cm) (Figura 3C) e alimentados com uma solução aquosa de mel a 10%, fornecida por capilaridade em rolos dentais colocados no interior de frascos plásticos. Quando poucos adultos

são obtidos, recomenda-se utilizar garrafas de polietileno transparente (PET) de 2,0 L. As garrafas têm o fundo cortado, o qual será substituído por tecido de voile, preso às mesmas por um elástico (Figura 3D). O alimento é renovado a cada dois dias para evitar a fermentação.

Tabela 2. Ingredientes para confecção da dieta artificial utilizada para criação de *Bonagota salubricola* (PARRA et al., 1995).

Ingrediente	Quantidade
Feijão carioca	52 g
Levedura de cerveja	4,9 g
Ácido ascórbico	1,6 g
Ácido sórbico	3,3 g
Nipagim	0,8 mg
Ácido propiônico	1,2 mL
Formaldeído	3,2 mL
Solução vitamínica	40,6 mL
Ágar	21g
Água destilada	1000 mL



Fig. 3. Representação esquemática da criação de *Bonagota salubricola* em laboratório: (A) Lagartas em tubo de vidro contendo dieta artificial; (B) Pupas no interior da placa de Petri revestida com papel filtro; (C e D) Gaiolas de oviposição confeccionadas com garrafa PET e madeira revestida com tecido voile; (E) Fitas plásticas (seta) servindo como substrato de oviposição. Fotos: Daniel Bernardi.

***Grapholita molesta* (Busck, 1916)**

O material coletado a campo (lagartas) deve ser triado e acondicionado em dieta artificial (Tabela 3) à base de farinha de milho sendo mantida à temperatura de $25 \pm 1^\circ\text{C}$, umidade relativa do ar de $70 \pm 10\%$ e fotofase de 16 horas (ARIOLI et al., 2007). Após a emergência dos adultos estes são colocados no interior de gaiolas de oviposição, confeccionadas com garrafas de polietileno transparente (PET) de 2,0 L. As garrafas possuem o fundo cortado, o qual é substituído por tecido de voile, preso às mesmas por um elástico (Figura 4A). Os adultos são alimentados com uma solução de mel a 30%, adicionada de 0,3 g de Nipagin® (metil parahidroxibenzoato) para 200 mL de solução, fornecida por capilaridade com algodão hidrófilo colocado no gargalo da garrafa. A troca dos adultos e a coleta dos ovos são realizadas diariamente (Figura 4B). Após a retirada dos adultos, as gaiolas serão recortadas em tiras e colocadas sobre a dieta

artificial contida em potes plásticos transparentes ($15,0 \times 11,5 \times 5,0$ cm de comprimento, largura e altura, respectivamente), com aproximadamente

Tabela 3. Ingredientes para a confecção da dieta artificial utilizada para criação de *Grapholita molesta* em laboratório (ARIOLI et al., 2007).

Ingrediente	Quantidade
Farinha de milho	224 g
Germe de trigo	56 g
Fermento biológico	60 g
Ácido ascórbico	8,0 g
Ácido benzóico	3,6 g
Nipagin	2,8 g
Formaldeído	1,0 mL
Ágar	32 g
Água destilada	900 mL



Fig. 4. Criação de *Grapholita molesta* em laboratório. (A) Gaiolas de oviposição confeccionadas com garrafa PET com adultos; (B) Garrafa PET com ovos; (C) Caixas de plásticos com dieta artificial com pedaços de garrafa PET com ovos distribuídos na dieta; (D) Caixa plástica fechada após a inoculação das lagartas; (E) Caixas tampadas com tecido de gaze para formação das pupas e lagartas fixando-se no tecido gaze para transformar em pupa (seta); (F) Pupas no interior de placas de Petri revestida com papel filtro. (Fonte: ARIOLI et al., 2007 modificado). Fotos: Cindy C. Chaves e Daniel Bernardi.

300 g de dieta (Figura 4C). Após cinco dias, os fragmentos da garrafa devem ser retirados dos potes de criação, observando-se diariamente o momento em que as lagartas se movimentariam sob a tampa (Figura 4D). Nesse momento, as tampas são eliminadas e as caixas, contendo as lagartas, transferidas para bandejas de plástico (59,0 x 38,0 x 8,5 cm de comprimento, largura e altura, respectivamente), tampadas em bloco único com cinco a sete camadas de tecido de gaze para ocorrer à transformação das lagartas em pupa (Figura 4E). No momento em que são observadas as primeiras câmaras pupais escuras, aproximadamente 5-7 dias após a colocação do tecido de gaze, a cobertura de tecido será manipulada para a retirada das pupas (Figura 4E). Em seguida, as pupas (Figura 4F) são colocadas em novas gaiolas e acondicionadas em câmara climatizada ($25 \pm 1^\circ\text{C}$, umidade relativa $70 \pm 10\%$ e fotofase de 16 horas) para a emergência dos adultos e recomeço do novo ciclo biológico.

Técnicas de Bioensaio para Monitorar a Resistência de *Bonagota salubricola* e *Grapholita molesta* a Inseticidas

Bioensaios de ingestão

Essa técnica consiste na aplicação superficial de inseticidas em dieta artificial para avaliar a suscetibilidade de lagartas neonatas (< 24 horas) e é recomendada para inseticidas que atuam por ingestão. A dieta artificial utilizada nos bioensaios com *B. salubricola* e *G. molesta* deve ser modificada em relação à dieta utilizada para a criação de manutenção de populações em laboratório (PARRA et al., 1995; ARIOLI et al., 2007). Para bioensaios com lagartas neonatas de *B. salubricola*, recomenda-se aumentar a quantidade de água para 2.000 mL e a de ágar

para 55 g. No caso de *G. molesta*, a água deve ser aumentada para 2.400 mL e o ágar para 65 g. Os demais ingredientes da dieta devem ser mantidos na mesma proporção proposta por Parra et al. (1995) e Arioli et al. (2007). Esse procedimento é necessário porque permite verter a dieta nos poços das placas de bioensaio. Após a preparação, a dieta deve ser mantida em banho-maria (50°C), para que permaneça no estado líquido. Com o auxílio de uma micropipeta, são depositados 1,25 mL de dieta artificial em cada célula da placa plástica (ex: placa com vinte e quatro células COSTAR® de 2,5 cm de diâmetro x 8,5 cm de altura) (Figura 5A), as quais são mantidas em câmara de fluxo laminar na presença de luz ultravioleta até a sua gelificação para a deposição do inseticida (Figura 5B). As diferentes concentrações dos inseticidas são obtidas mediante a diluição em água destilada, com a adição de 0,1% (v/v) do surfactante Triton® a cada concentração testada (Figura 5C). Com uma micropipeta, são transferidos 30 μL da solução inseticida para cada célula da placa (Figura 5D). As placas do tratamento testemunha recebem apenas surfactante a 0,1% (v/v). Após a secagem, duas lagartas de primeiro ínstar (< 24 horas de idade) de *B. salubricola* ou de *G. molesta* são inoculadas por células “poços”, fechadas com sua respectiva tampa e acondicionadas em câmara climatizada à temperatura de $25 \pm 1^\circ\text{C}$, umidade relativa de $70 \pm 10\%$ e fotofase de 16 horas.

A avaliação da sobrevivência dos insetos é baseada no modo de ação do produto. A partir da curva de concentração resposta, são determinadas as concentrações diagnósticas utilizadas para o monitoramento da suscetibilidade das pragas para as culturas de macieira e pessegueiro (NETO-SILVA, 2013) (Tabela 4).

Tabela 4. Concentrações diagnósticas baseadas nas CL99 para o monitoramento da suscetibilidade de *Bonagota salubricola* e *Grapholita molesta* a inseticidas com bioensaio de tratamento superficial da dieta (NETO-SILVA, 2013).

Ingrediente Ativo	Produto Comercial	<i>Bonagota salubricola</i>	<i>Grapholita molesta</i>
		CL ₉₉ ppm (IC 95%) ¹	CL ₉₉ ppm (IC 95%) ²
Chlorantraniliprole	Altacor 350 WG	19,13 (11,94 - 42,85)	5,58 (4,83 - 6,69)
Novaluron	Rimon 100 EC	509,8 (396,3 - 696,3)	37,82 (27,51 - 61,68)
Phosmet	Imidan 500 WP	72,28 (43,83 - 184,9)	37,40 (32,56 - 44,70)
Spinetoram	Delegate 250 WG	4,09 (3,06 - 5,99)	0,62 (0,47 - 0,90)
Tebufenozide	Mimic 240 SC	110,08 (78,30 - 190,5)	19,65 (16,74 - 24,28)
Pyriproxyfen	Tiger 100 EC	*	2011 (1,531 - 3,179)

* Dados não obtidos.

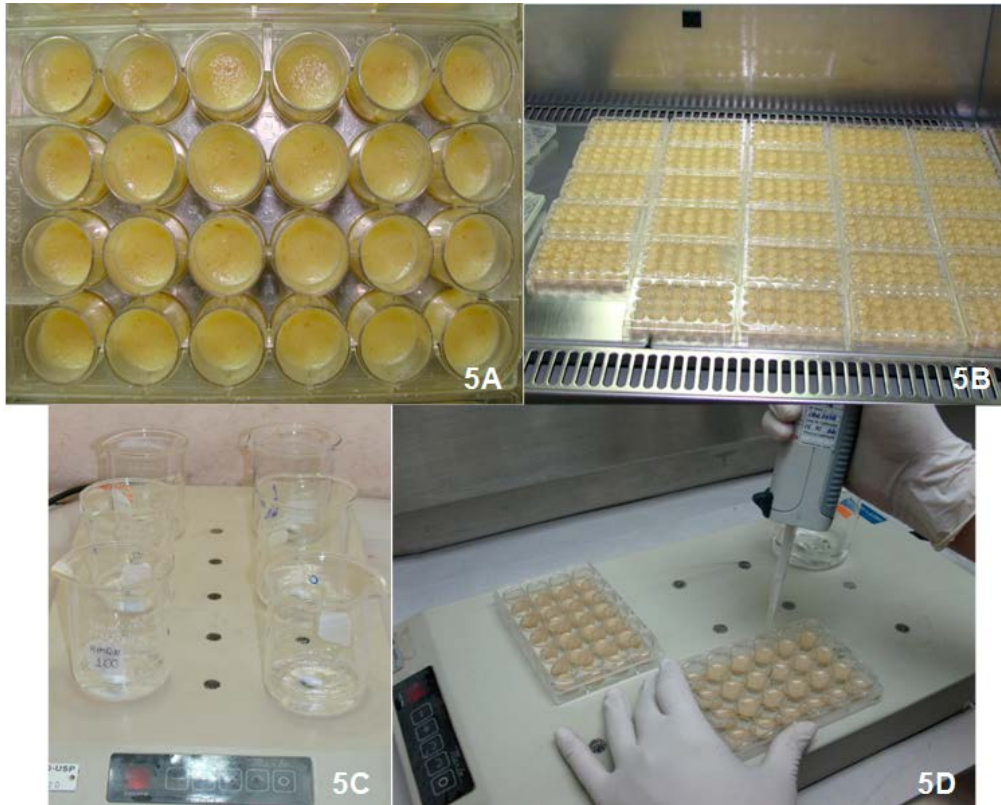


Fig. 5. Preparação do material para a condução do experimento de ingestão. (A) Placas de vinte e quatro células com dieta artificial; (B) Placas com dieta artificial secando em câmara de fluxo laminar; (C) Becker com soluções de inseticidas em mesa agitadora; (D) Aplicação da solução de inseticida (30 μ L) com auxílio da micropipeta de repetição. Fotos: Oscar A. B. Neto e Silva.

Bioensaios de aplicação tópica

Consistem na aplicação de solução de inseticida de contato em lagartas de 3^o ínstar larval, distribuindo 1 mL de solução do inseticida técnico diluído em acetona. Para tanto, as lagartas são criadas em dieta artificial até o terceiro ínstar larval. A aplicação do produto deve ser feita com o auxílio de um microaplicador automático, na região protorácica da lagarta (Figura 6A e B). Em seguida, as lagartas devem ser transferidas para placas plásticas com vinte e quatro células (COSTAR[®]), de 2,5 cm de diâmetro \times 8,5 cm de altura, contendo “pedaços” da dieta artificial (Figura 6C). Posteriormente, as placas devem ser mantidas em câmara climatizada à temperatura de $25 \pm 1^\circ\text{C}$ e fotofase de 14 h até o momento da avaliação. O período de avaliação é baseado no modo de ação do produto, sendo considerados mortos os indivíduos que, quando tocados, não apresentarem movimentos coordenados. A partir dos dados de sobrevivência, são determinadas as concentrações diagnósticas para cada produto para o monitoramento da suscetibilidade da praga no campo.

Bioensaios com Torre de Potter

Esse método de bioensaio visa a verificar a suscetibilidade de adultos machos a inseticidas através da utilização de Torre de Potter, recomendada para inseticidas de contato. A torre de pulverização deve estar localizada em uma infraestrutura adequada para auxiliar na condução desse tipo de bioensaio, com o objetivo de evitar a contaminação ambiental e a intoxicação de produtos químicos no momento da aplicação (SGANZERLA et al., 2011). Os insetos adultos são coletados com o auxílio de armadilha delta contendo septos com feromônio sexual (Figura 7A). As armadilhas devem ser instaladas a campo no período da manhã e retiradas após 24 horas, sendo, em seguida, levadas ao laboratório para proceder ao recorte dos pisos de cola, estabelecendo-se cartões com aproximadamente dez adultos cada (Figura 7B). Quando os insetos são oriundos de criação de laboratório, os adultos machos, com um a quatro dias de idade, devem ser aprisionados em pisos de cola de armadilhas do tipo delta, 24 horas antes da aplicação do inseticida (Figura 7B). No momento da aplicação, o piso de cola deve ser

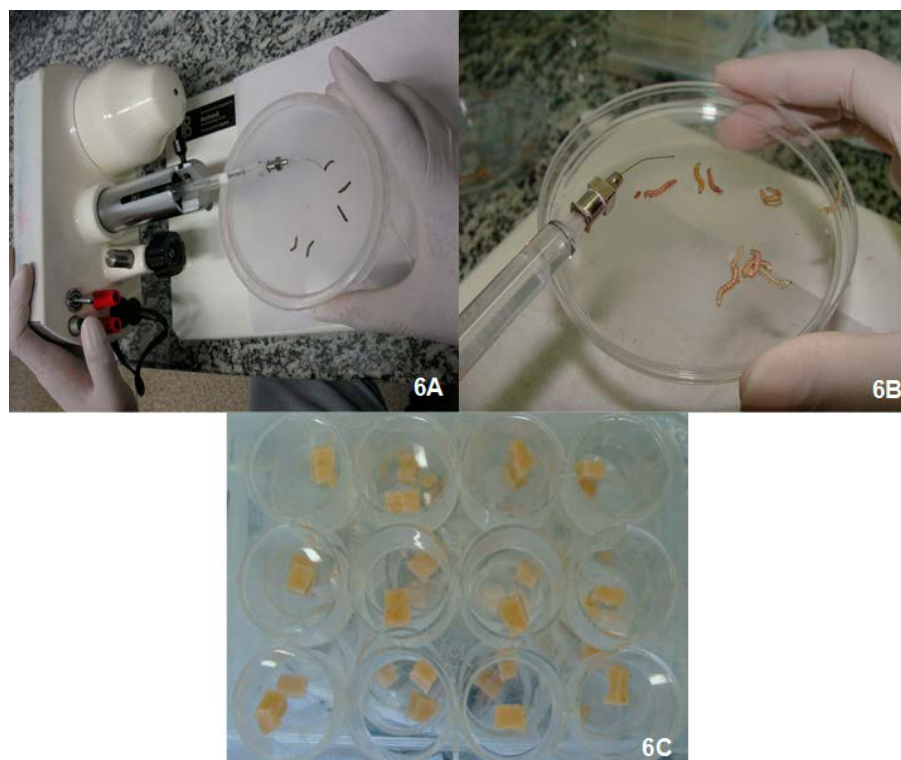


Fig. 6. Procedimentos para bioensaios de aplicação tópica em lagartas de 3º ínstar larval. (A) Microaplicador automático; (B) Aplicação tópica – “região protorácica” em lagartas de 3º ínstar; (C) Lagartas após a aplicação em placas de vinte e quatro células com “pedaços” de dieta artificial. Fotos: Antônio R. Nascimento.



Fig. 7. Procedimentos para bioensaios com aplicação em torre de Potter. (A) Coleta de adultos machos com armadilhas de feromônio; (B) Piso de cola recordado e confeccionado em cartões com adultos machos; (C) Aplicação em torre de Potter e (D) Cartões após a aplicação dos inseticidas sobre adultos machos de *G. molesta*. Fotos: Oscar A. B. Neto-Silva.

recortado e confeccionado em cartões contendo aproximadamente dez adultos cada. Em seguida, o inseticida deve ser aplicado utilizando-se Torre de Potter (Burkard Manufacturing Rickmansworth Herts Reino Unido) calibrada à pressão de 10 psi (68,95 kPa), com um volume de 2 mL de solução em cada pulverização, o que leva à obtenção de uma deposição média de resíduo úmido de 1,56 mg/cm² sobre os cartões (Figura 7C). Após a aplicação do inseticida, os cartões devem ser acondicionados à temperatura de 25°C e fotofase de 14 horas (Figura 7D). A avaliação da mortalidade deve ser realizada um, dois e três dias após a aplicação (DAA), sendo considerados mortos os indivíduos que não reagirem ao toque do pincel e vivos quando capazes de mover suas antenas, pernas, asas ou cabeça, sempre que tocados. Para a determinação das linhas básicas de suscetibilidade, recomenda-se a utilização de seis a sete concentrações do inseticida espaçadas logaritmicamente, com doze repetições (uma cartela por repetição) para cada concentração, totalizando, em média, cento e vinte adultos por concentração. A partir da curva de concentração resposta, serão estimadas as concentrações diagnósticas para o monitoramento da suscetibilidade de adultos a inseticidas. A metodologia de avaliação dos inseticidas sobre os adultos deve ser conduzida com inseticidas que apresentem ação de contato.

Considerações Finais

A adoção de estratégias de manejo e o monitoramento da resistência de insetos a inseticidas constituem uma forma cada vez mais importante de se preservar, por maior período de tempo, os novos e tradicionais inseticidas empregados para o controle de pragas. Nesse sentido, os métodos convencionais de monitoramento e detecção de resistência de artrópodes-pragas a inseticidas ainda são indispensáveis, visto que a utilização de técnicas bioquímicas e moleculares são pouco usadas e difundidas nas condições brasileiras.

Este Comunicado Técnico descreve as principais metodologias de bioensaios que podem ser adotadas para se avaliar a suscetibilidade de *B. salubricola* e *G. molesta* aos inseticidas, visando a promover um manejo fitossanitário adequado para a cultura da macieira e do pessegueiro. O

desenvolvimento e a padronização de métodos adequados de bioensaios que melhor reflitam a realidade no campo é fundamental para o monitoramento e o manejo da resistência de tortricidae a inseticidas, no tempo e no espaço, promovendo uma maior durabilidade das moléculas de inseticidas no campo.

Referências

- AGROFIT. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br/agrofit>>. Acesso em: 10 abr. 2013.
- ARIOLI, C. J.; BOTTON, M.; CARVALHO, G. A. Controle químico de *Grapholita molesta* (Busck) (Lepidoptera: Tortricidae) na cultura do pessegueiro. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 34, n. 6, p. 1695-1700, 2004.
- ARIOLI, C. J.; MOLINARI, F.; BOTTON, M.; GARCIA, M. S. **Técnica de criação de *Grapholita molesta* (Busck, 1916) (Lepidoptera: Tortricidae) em laboratório utilizando dieta artificial para a produção de insetos visando estudos de comportamento e controle**. Bento Gonçalves: Embrapa Uva e Vinho, 2007. p. 1-13. (Embrapa Uva e Vinho. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento 13, 2007).
- ARIOLI, C.; ZART, M.; GARCIA, M.; BOTTON, M. Avaliação de inseticidas neonicotinóides para o controle da mariposa-oriental *Grapholita molesta* (Busck) (Lepidoptera: Tortricidae) em laboratório e pomar comercial de maçã com infestações artificiais. **BioAssay**, Piracicaba, v. 2, n. 11, p. 1-6, 2007.
- BENTANCOURT, C. M., SCATONI, I. B., GONZALEZ, A., FRANCO, J. Biology of *Bonagota cranaodes* (Meyrick) (Lepidoptera: Tortricidae) on seven natural foods. **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 33, n. 3, p. 209-306, 2004.
- BOTTON, M.; NAKANO, O.; KOVALESKI, A. Exigências térmicas e estimativa do número de gerações de *Bonagota cranaodes* (Meyrick) (Lepidoptera: Tortricidae) em regiões produtoras de maçã do Sul do Brasil. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Jaboticabal, v. 4, n. 29, p. 633-637, 2000.
- BOTTON, M.; KULCHESKI, F.; COLLETTA, V. D.; ARIOLI, C. J.; PASTORI, P. L. Avaliação do uso

do feromônio de confundimento no controle de *Grapholita molesta* (Lepidoptera: Tortricidae) em pomares de pessegueiro. **Idesia**, Arica, v. 23, n. 1, p. 43-50, 2005.

BOTTON, M.; NAVA, D. E.; ARIOLI, C. J.; GRUTZMACHER, A. D.; GARCIA, M. S. **Bioecologia, monitoramento e controle da mariposa-oriental na cultura do pessegueiro no Rio Grande do Sul**. Bento Gonçalves: Embrapa Uva e Vinho, 2011. 11 p. (Embrapa Uva e Vinho. Circular Técnica, 86).

BROWN, W. M. The mitochondrial genome of animals. In: MACINTYRE, T. J. (Ed.). **Molecular evolutionary genetics**. New York: Plenus Press, 31 p., 1978.

BUSH, M. R.; ABDEL-AAL, Y. A. I.; SAITO, K.; ROCK, G. C. Azinphosmethyl resistance in the tufted apple bud moth (Lepidoptera: Tortricidae): reversion, diagnostic concentrations, associated esterases, and glutathione transferases. **Journal of Economic Entomology**, College Park, v. 86, p. 213-225, 1993.

GEORGHIOU, G. P. The evolution of resistance to pesticides. **Annual Review of Ecological Systematics**, Stanford, v. 3, n. 3, p. 133-168, 1972.

GEORGHIOU, G. P. Management of resistance in arthropods. In: GEORGHIOU, G. P.; SAITO, T. (Ed.). **Pest resistance to pesticides**. New York: Plenum, 1983. p. 769-792.

GEORGHIOU, G. P.; TAYLOR, C. E. Genetic and biological influences in the evolution of insecticide resistance. **Journal of Economic Entomology**, v. 70, n. 3, p. 319-323, 1977a.

GEORGHIOU, G. P.; TAYLOR, C. E. Operational influences in the evolution of insecticide resistance. **Journal of Economic Entomology**, College Park, v. 70, n. 5, p. 653-658, 1977b.

KANGA, L. H. B.; PREE, D. J.; Van LIER, J. L.; WALKER, G. M. Management of insecticide resistance in Oriental fruit moth (*Grapholita molesta*; Lepidoptera: Tortricidae) populations from Ontario. **Pest Management Science**, Sussex, v. 59, n. 8, p. 921-927, 2003.

KIM, K. S.; FRENCH, B. W.; SUMERFORD, D. V.; SAPPINGTON, T. W. Genetic diversity in laboratory Colonies of Western Corn Rootworm (Coleoptera: Chrysomelidae) including a Nondiapause Colony. **Environmental Entomology**, College Park, v. 3, n. 36, p. 637-645, 2007.

KOVALESKI, A.; BOTTON, M.; EIRAS, A. E.; VILELA, E. F. **Lagarta-enroladeira da macieira: Bioecologia e controle**. Bento Gonçalves: Embrapa Uva e Vinho, 1998. 22 p. (Embrapa Uva e Vinho. Circular Técnica, 24).

KOVALESKI, A.; RIBEIRO, L. G. **Manejo de pragas na produção integrada de maçãs**. Bento Gonçalves: Embrapa Uva e Vinho, 2002. 8 p. (Embrapa Uva e Vinho. Circular Técnica, 34).

KOVALESKI, A.; RIBEIRO, L. G. Manejo de Pragas na Produção Integrada de Maçã. In: PROTAS, J. F. S.; VALDEBENITO SANHUEZA, R. M. (Ed.). **Produção Integrada de Frutas: o caso da maçã no Brasil**. Bento Gonçalves: Embrapa Uva e Vinho, 2003. p. 61-68.

JONES, M. M. Susceptibility of oriental fruit moth, (*Grapholita molesta* (Busck)) to selected insecticides and mixtures. 2010. 124 p. Tese (Ph.D.) - University of Illinois at Urbana, Champaign.

MONTEIRO, L. B.; SOUZA, A. de; BELLI, L. Confusão sexual para o controle de *Grapholita molesta* (Lepidoptera: Tortricidae), em pomares de macieira, em Fraiburgo (SC), Brasil. **Bragantia**, Campinas, v. 67, n. 1, p. 191-196, 2008.

NETO-SILVA, O. A. B. **Bases para o manejo da resistência de *Grapholita molesta* (Busck) e *Bonagota salubricola* (Lepidoptera: Tortricidae) a inseticidas no Brasil e variabilidade genética de *G. molesta* em populações coletadas em macieira e pessegueiro**. 2013. 99 f. Tese (Doutorado) - Escola Superior da Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba.

PREE, D. J.; WHITTY, K. J.; VAN DRIEL, L. Resistance to insecticides in oriental fruit moth populations (*Grapholita molesta*) from the Niagara peninsula of Ontario. **The Canadian Entomologist**, Ottawa, v. 130, n. 3, p. 245-256, 2005.

ROUSH, R. T.; MILLER, G. L. Considerations for design of insecticide resistance monitoring programs.

Journal of Economic Entomology, College Park, v. 79, p. 293-298, 1986.

SGANZERLA, V. M. A.; BOTTON, M.; GEBLER, L. **Proposta de construção de uma estrutura física aplicada a trabalhos com agrotóxicos em laboratórios de entomologia**. Bento Gonçalves: Embrapa Uva e Vinho, 2011. p. 1-14. (Embrapa Uva e Vinho. Circular Técnica, 2011).

SIEGWART, M.; MONTEIRO, L. B.; MAUGIN, S.; OLIVARES, J.; MALFITANO-CARVALHO, S.; SAUPHANOR, B. Tools for resistance monitoring in oriental fruit moth (Lepidoptera: Tortricidae) and first assessment in Brazilian populations. **Journal of Economic Entomology**, College Park, v. 104, n. 2, p. 636-645, 2011.

SIQUEIRA, P. R. E.; GRÜTZMACHER, A. D. Avaliação de inseticidas para controle da *Grapholita molesta* (Busck, 1916) (Lepidoptera: Tortricidae) em pomares de pessegueiro sob produção integrada

na região da campanha do RS. **Revista Brasileira de Agrobiologia**, Pelotas, v. 11, n. 2, p. 185-191, 2005.

PARRA, J. R. P.; EIRAS, A. E.; HADDAD, M. L.; VILELA, E. F.; KOVALESKI, A. Técnica de criação de *Phtheochroa cranaodes* Meyrick (Lepidoptera: Tortricidae) em dieta artificial. **Revista Brasileira de Biologia**, Rio de Janeiro, v. 55, n. 4, p. 537-543, 1995.

TAYLOR, C. E.; QUAGLIA, E. F.; GEORGHIOU, G. P. Evolution of resistance to insecticides: a case study on the influence of migration and insecticide decay rates. **Journal of Economic Entomology**, College Park, v. 76, n. 4, p. 704-707, 1983.

USMANI, K. A.; SHEARER, P. W. Susceptibility of male oriental fruit moth (Lepidoptera: Tortricidae) populations from New Jersey apple orchards to azinphosmethyl. **Journal Economic Entomologist**, College Park, v. 94, n. 1, p. 233-239, 2001.

Comunicado Técnico, 152

Exemplares desta edição podem ser adquiridos na:
Embrapa Uva e Vinho
 Rua Livramento, 515 - Caixa Postal 130
 95700-000 Bento Gonçalves, RS
Fone: (0xx) 54 3455-8000
Fax: (0xx) 54 3451-2792
<http://www.cnpuv.embrapa.br>

Ministério da Agricultura,
 Pecuária e Abastecimento



1ª edição

Comitê de Publicações

Presidente: Mauro Celso Zanus
Secretária-Executiva: Sandra de Souza Sebben
Membros: Alexandre Hoffmann, César Luís Girardi, Flávio Bello Fialho, Henrique Pessoa dos Santos, Kátia Midori Hiwatashi, Thor Vinícius Martins Fajardo e Viviane Maria Zanella Bello Fialho

Expediente

Editoração gráfica: Alessandra Russi