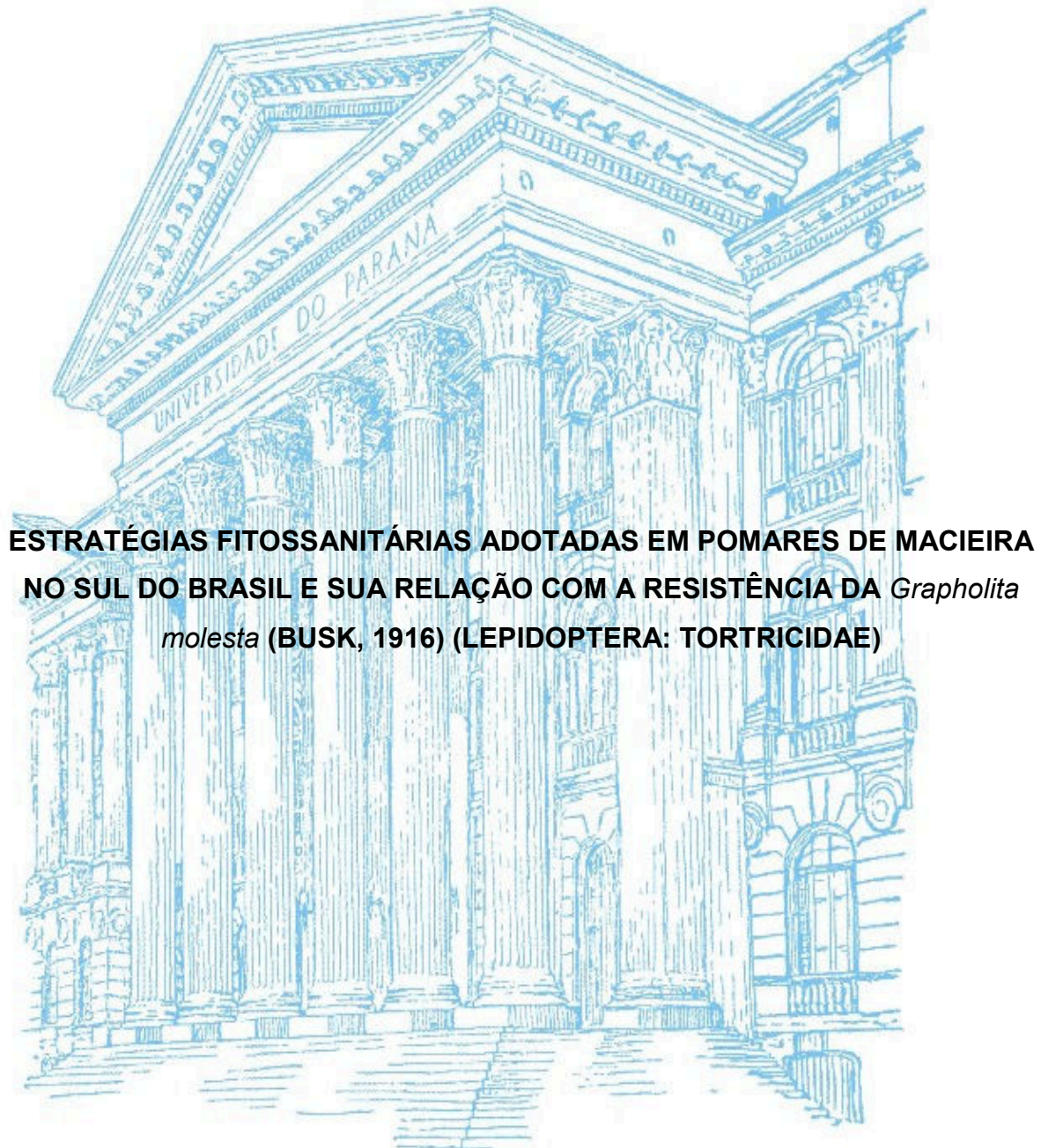


UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

LUÍS GUSTAVO WITT



**ESTRATÉGIAS FITOSSANITÁRIAS ADOTADAS EM POMARES DE MACIEIRA
NO SUL DO BRASIL E SUA RELAÇÃO COM A RESISTÊNCIA DA *Grapholita
molesta* (BUSK, 1916) (LEPIDOPTERA: TORTRICIDAE)**

CURITIBA, 2016

LUÍS GUSTAVO WITT

**ESTRATÉGIAS FITOSSANITÁRIAS ADOTADAS EM POMARES DE MACIEIRA
NO SUL DO BRASIL E SUA RELAÇÃO COM A RESISTÊNCIA DA *Grapholita
molesta* (BUSK, 1916) (LEPIDOPTERA: TORTRICIDAE)**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia, Área de Concentração em Produção Vegetal, Departamento de Fitotecnia e Fitossanitarismo, Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná, como parte das exigências para obtenção do título de Mestre em Ciências.

Orientador: Prof. Dr. Lino Bittencourt Monteiro

CURITIBA, 2016



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
SETOR DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
AGRONOMIA - PRODUÇÃO VEGETAL

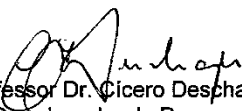


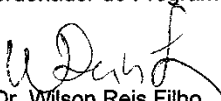
PARECER


Os membros da Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em Agronomia - Produção Vegetal, reuniram-se para realizar a arguição da Dissertação de MESTRADO, apresentada pelo candidato **LUIS GUSTAVO WITT**, sob o título **“ESTRATÉGIAS FITOSSANITÁRIAS ADOTADAS EM POMARES DE MACIEIRA NO SUL DO BRASIL E SUA RELAÇÃO COM A RESISTÊNCIA DA *Grapholita Molesta* (BUSK, 1916) (LEPIDOPTERA: TORTRICIDAE)”**, para obtenção do grau de Mestre em Ciências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia - Produção Vegetal do Setor de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Paraná.

Após haver analisado o referido trabalho e argüido o candidato são de parecer pela **"APROVAÇÃO"** da Dissertação.

Curitiba, 19 de Agosto de 2016.


Professor Dr. Cicero Deschamps
Coordenador do Programa


Dr. Wilson Reis Filho
Primeiro Examinador


Professor Dr. Afonso Takao Murata
Segundo Examinador


Professor Dr. Lino Bittençourt Monteiro
Presidente da Banca e Orientador

DEDICO

À Deus

Aos meus pais Luiz e Regina

À minha noiva Kelyn

Aos meus familiares

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus, agradecendo toda esta trajetória.

À minha família, pelo apoio e por tudo que fizeram por mim e nunca mediram esforços para que chegasse aqui.

À minha noiva pelo companheirismo e compreensão pela minha ausência nos dois anos da Pós-Graduação.

À Universidade Federal do Paraná e ao Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal, pela oportunidade de concluir mais uma etapa na instituição.

A CAPES pela concessão da bolsa durante o curso

Ao colegiado do Curso de pós-graduação em Agronomia do Setor de Ciências Agrárias, da Universidade Federal do Paraná.

A meu orientador, Prof. Dr. Lino B. Monteiro pelo acompanhamento, orientação e pela oportunidade da realização deste trabalho. Tenho só a agradecer.

A Dra. Rosangela Teixeira, que desde o início dos estudos me auxiliou na elaboração do pré-projeto, na realização dos testes toxicológicos e análises enzimáticas.

Ao Dr. Régis Sivori Silva dos Santos, pesquisador da EFCT da Embrapa Uva e Vinho, pela parceria e disponibilização de recursos para viagens a campo.

A Dra. Helena Cristina da Silva Assis, pela disponibilidade de laboratório, equipe para realização de avaliações enzimáticas, grande parceira em nosso laboratório.

A Dra. Izonete Cristina Guiloski, pela disponibilidade de tempo, pelas colaborações nas análises enzimáticas, sua participação foi essencial para o desenvolvimento do trabalho e aprimoramento do meu conhecimento sobre atividades enzimáticas.

Ao Dr. Mario Antônio Navarro, pela colaboração e disponibilização de reagentes para realização de avaliações enzimáticas, sem a sua colaboração o trabalho estaria comprometido.

As empresas de fruticultura de maçã do Sul do Brasil, pela cessão de áreas de pesquisas e auxílio no levantamento de dados e pela confiança que depositaram a mim e a minha orientação pelo sigilo das informações disponibilizadas.

A equipe do Laboratório de Manejo Integrado de Pragas (LAMIP), José Antônio da Silva Tomba pela ajuda em formatação de planilhas. Rodrigo S. Monteiro, Denis Alves, Guilherme Nishimura e Tainara Campos de Lara pela colaboração nas capturas de insetos.

Ao Edson Chappuis pelo auxílio na criação de insetos e pela amizade.

Ao Helio Cezar de Oliveira Mayer pela ajuda na informatização de dados, auxílio na criação de insetos, colaboração na realização dos testes toxicológicos, os quais muitas vezes realizados nos finais de semana, por sua amizade e companheirismo. Sua participação foi fundamental para o andamento do trabalho.

Ao meu irmão Leonardo Witt, que sem medir esforços auxiliou nos trabalhos em nossa propriedade rural quando minha presença não era possível.

Ao Willian Sampaio, muitas vezes deixando seus compromissos para vir ao laboratório - LAMIP, ajudar no teste toxicológico.

As minhas tias Cirléia Hirt e Eliane Hirt, que desde o primeiro dia em Curitiba, estiveram ao meu lado dando o apoio necessário.

A todas as pessoas que de alguma forma, me auxiliaram ou incentivaram à minha carreira e a realização deste estudo.

RESUMO

Os primeiros pomares comerciais de maçã no Brasil surgiram na década de 70. No fim da década de 80 a cultura passou a encontrar problemas fitossanitários, sendo o ácaro vermelho da macieira, *Panonychus ulmi* (Acari: Tetranychidae), o primeiro de importância comercial. Na década de 90, a mariposa oriental, *Grapholita molesta* (Busk, 1916) (Lepidoptera: Tortricidae), praga primária em pessegueiro, passou a ser praga primária na macieira. Com o aumento dos problemas fitossanitários, o monitoramento de pragas se tornou indispensável. O controle químico ainda é a estratégia mais utilizada para controle de pragas, mas nas últimas décadas, métodos alternativos vêm sendo implantados visando à redução no número de pulverizações de inseticidas. O objetivo do estudo foi relacionar a influência das estratégias culturais e fitossanitárias adotadas em pomares de macieira do Sul do Brasil e sua relação com a resistência da *G. molesta* através de Bioensaio Toxicológico com 4 ingredientes ativos (clorpirifós, fenitrotiona, clorantroliprole e lufenuron), e análise enzimática de acetilcolinesterase, Glutathione-S-Transferase e (α e β esterase). O estudo foi realizado em 28 pomares de macieira no Sul do Brasil, no Estado do Paraná, nos municípios de Campo do Tenente, Lapa e Porto Amazonas, Santa Catarina, em Fraiburgo, São Joaquim e Urupema e Rio Grande do Sul, em Vacaria. Foi realizado um levantamento de informações culturais e fitossanitárias para análise da eficiência tecnológica dos pomares, através de doze Componentes que receberam notas de -3, -1, +1 e +3, denominados de Coeficientes de Alteração. Foram coletadas larvas de *Grapholita molesta* em nove pomares de macieira para serem utilizadas em Bioensaio Toxicológico e Análise Enzimática, sendo uma em cultivo orgânico para referência positiva. A análise dos Componentes apresentou três pomares em Manejo Integrado de pragas (MIP), dezessete pomares em Boas Práticas Agrícolas (BPA), sete como Manejo Convencional (MC) e um como Manejo Inadequado (MI). Os pomares de MIP e BPA apresentaram o melhor uso das estratégias culturais e fitossanitárias quando comparados aos de MC e MI, sendo que a idade do pomar influenciou negativamente a caracterização em quatro níveis de eficiência tecnológica. Os bioensaios indicaram as populações B6, B7, B16, B17 e C27 como sendo mais tolerantes ao clorpirifós e lufenuron, sendo observada uma relação com manejo fitossanitário dos pomares, enquanto que B5 e I28 não apresentaram alteração em

relação a referência positiva. A análise enzimática da GST foi alterada para as populações B7, B16 e B17, enquanto que (α e β esterase) foi alterada apenas para B19. Pomares que fizeram uso de confusão sexual foram melhores caracterizados na análise de eficiência tecnológica, os quais apresentaram redução na média da captura da *Grapholita molesta* e menor número de pulverizações de inseticidas acima de treze por ciclo. A população do pomar B5 foi considerada a com o melhor manejo fitossanitário dentre as estudadas, fato que foi confirmado pelos testes. .

Palavras-Chave: manejo de pragas, mariposa oriental, inseticidas, fruticultura, pomicultura

ABSTRACT

The first commercial apple orchards in Brazil were implemented in the 70s. By the end of the 80's, the culture began to face difficulties in pest control, as the red mite of the apple tree, *Panonychus ulmi* (Acari: Tetranychidae) became the first pest of economic importance. In the 90s, the oriental fruit moth, *Grapholita molesta* (Busk, 1916) (Lepidoptera: Tortricidae), until that moment a primary pest in peach orchards, began to be considered as the primary pest in apple orchards. With the increase of phytosanitary problems, monitoring pests has become an indispensable practice. Chemical control is still the most widely used strategy for pest control, but in recent decades, alternative methods have been implemented in order to reduce the number of pesticides. The aim of this study was to point out the influence of cultural and phytosanitary strategies adopted in apple orchards in southern Brazil and its relation to the resistance of *G. molesta* using Bioassay Toxicology for four insecticide molecules (chlorpyrifos, fenitrothion, cloranthraniliprole and lufenuron) and acetylcholinesterase enzyme analysis, glutathione-S-transferase and (α and β) esterase. The study was conducted in 28 apple orchards in three different states of southern Brazil. In the state of Paraná, in the municipalities of Campo do Tenente, Lapa and Porto Amazonas, in the state of Santa Catarina, in Fraiburgo, São Joaquim and Urupema and in the state of Rio Grande do Sul, in Vacaria. A survey of cultural and phytosanitary information for analysis of technological efficiency of orchards through twelve components was conducted receiving notes of -3, -1, +1 and +3, called Change Coefficients. Larvae were collected in nine orchards that were used in bioassay Toxicology and enzymatic analysis, one in organic farming used as positive reference. The analysis of the components presented three orchards in Integrated Pest Management (IPM), seventeen orchards in Good Agricultural Practices (GAP), seven as conventional management (CM) and one as Mismanagement (MI). The IPM orchards and BPA presented greater use of cultural and phytosanitary strategies when compared to MC and MI. Bioassays indicated populations B6, B7, B16, B17 and C27 to be more tolerant to chlorpyrifos and lufenuron, and was observed a relation between the sprayed insecticides, while B5 and I28 did not show any change from the positive reference. Enzymatic analysis of GST was changed to populations B7, B16 and B17, while (α and β esterase) was changed only for B19. The orchards used in the tests that used sexual confusion were the best classified in technological

efficiency analysis and showed a reduction in the average *Grapholita molesta* captures and fewer insecticide sprays over thirteen per cycle. The population of the orchard B5 was considered to have the best phytosanitary management among those studied, a fact that was confirmed by the tests.

Keywords: pest management, oriental fruit moth, insecticides, fruit, pomiculture.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1- Atividade Enzimática da Glutathione-S-Transferase – GST expressa em $\text{nmol. min}^{-1}.\text{mg prote\i na}^{-1}$ em populações de *Grapholita molesta* coletadas em pomares de macieira no Sul do Brasil. Médias seguidas por letras iguais não diferem entre si de acordo com o teste de Tukey 5%.....39
- Figura 2- Atividade Enzimática da acetilcolinesterase – AchE expressa em $\text{nmol. min}^{-1}.\text{mg prote\i na}^{-1}$ em populações de *Grapholita molesta* coletadas em pomares de macieira no Sul do Brasil. Médias seguidas por letras iguais não diferem entre si de acordo com o teste de Tukey 5%.....40
- Figura 3- Atividade Enzimática da α Esterase expressa em $\text{nmol. min}^{-1}.\text{mg prote\i na}^{-1}$ em populações de *Grapholita molesta* coletadas em pomares de macieira no Sul do Brasil. Médias seguidas por letras iguais não diferem entre si de acordo com o teste de Tukey 5%.....40
- Figura 4- Atividade Enzimática da β Esterase expressa em $\text{nmol. min}^{-1}.\text{mg prote\i na}^{-1}$ em populações de *Grapholita molesta* coletadas em pomares de macieira no Sul do Brasil. Médias seguidas por letras iguais não diferem entre si de acordo com o teste de Tukey 5%.....41

LISTA DE TABELAS

Tabela 1.	Componentes de avaliação das estratégias culturais e fitossanitárias para caracterizar o perfil fitossanitário de pomares de macieira do Sul do Brasil.....	31
Tabela 2.	Análise de 12 Componentes culturais e fitossanitários em vinte e oito pomares de macieira do Sul do Brasil, avaliados em três ciclos produtivos entre 2012 e 2015.....	35
Tabela 3.	Número de ingredientes ativos por grupos químicos pulverizados em pomares de macieira do Sul do Brasil, em três ciclos reprodutivos e um ciclo entre 2012-2015. Nomenclatura dos pomares de acordo com classificação fitossanitária.....	37
Tabela 4.	CL ₅₀ e CL ₉₅ de neonatas de <i>Grapholita molesta</i> exposta a quatro inseticidas.....	38

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	14
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	17
2.1 Histórico	17
2.2 Problemas fitossanitários	18
2.3 Manejo fitossanitário	20
2.3.1 Monitoramento de pragas	20
2.3.2 Influência de fatores intrínsecos ao pomar	22
2.3.3 Técnicas de controle de pragas	23
2.3.3.1 Controle químico em cobertura	23
2.3.3.2 Controle biológico	24
2.3.3.2.1 Controle biológico de <i>Panonychus ulmi</i> com <i>Neoseiulus californicus</i>	24
2.3.3.2.2 Controle de larva de lepidópteros com <i>Bacillus thuringiensis</i>	25
2.3.3.3 Confusão sexual para <i>Grapholita molesta</i>	25
2.3.3.4 Isca tóxica para <i>Anastrepha fraterculus</i>	26
2.4 Manejo da resistência em artrópodes	27
3. Materiais e métodos	28
3.1 Local de estudo	28
3.2 Impacto cultural e fitossanitário sobre o manejo dos pomares	29
3.3 Populações de <i>Grapholita molesta</i>	31
3.4 Bioensaio Toxicológico	33
3.5 Análise Enzimática	34
3.6 Resultados	35
3.6.1 Impacto cultural e fitossanitário sobre o manejo dos pomares	35
3.6.2 Bioensaio Toxicológico	37
3.6.3 Análise Enzimática	40
3.7 Discussão	42
CONCLUSÃO	47
REFERÊNCIAS	48

INTRODUÇÃO

A cultura da maçã se desenvolveu no Brasil a partir da década de 70 (PETRI et al., 2011). Todavia, as condições edafoclimáticas não eram as ideais para as cultivares da época, visto que as principais zonas de cultivo (Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul) se situam em latitudes mais ao norte daquelas das regiões produtoras de maçã no Hemisfério Sul. Dentre as dificuldades, a questão fitossanitária sempre necessitou especial atenção pela falta de conhecimento sobre as pragas nativas e exóticas.

No início dos anos 90, as noções do manejo de pragas foram sendo implantadas para manter a produtividade e reduzir os prejuízos econômicos. Neste período, o ácaro vermelho da macieira, *Panonychus ulmi* (Acari: Tetranychidae) era considerado praga chave e, no final da década a mariposa oriental, *Grapholita molesta* (Busck, 1916) (Lepidoptera: Tortricidae) se definiu como praga primária. A ocorrência destas pragas fez com que os produtores intensificassem o uso do monitoramento, que até o momento ocorria de forma esporádica e ineficiente.

Além desses artrópodes, outros dois insetos-praga se associaram à entomofauna nos pomares de macieira: a lagarta enroladeira, *Bonagota salubricola* (Lepidoptera: Tortricidae) e a mosca-das-frutas Sul americana, *Anastrepha fraterculus* (Diptera: Tephritidae). Os danos causados pela lagarta enroladeira são mais representativos nos pomares de Vacaria-RS e a *A. fraterculus* sendo a espécie mais representativa nos pomares do Sul do Brasil (KOVALESKI e RIBEIRO, 2002; BOTTON et al., 2003; MONTEIRO e HICKEL, 2004a; HICKEL, 2008; NAVA e BOTTON, 2010).

O manejo de pragas era baseado principalmente no controle químico com organofosforados e piretróides (SALLES, 1998) e a repercussão destas sobre a entomofauna e no desequilíbrio entre as populações não era conhecida. Com isso novas estratégias foram pesquisadas e adaptadas, entre elas o controle biológico de ácaros (MONTEIRO, 1994) e o uso da técnica da confusão sexual (PASTORI et al., 2008; MONTEIRO et al., 2008; HÄRTER, et al., 2010), ambas proporcionaram uma redução no uso de produtos químicos (MONTEIRO, 2002c; MONTEIRO et al., 2008)

As estratégias de controle não evoluíram na mesma proporção para mosca-das-frutas, pois o controle químico ainda é o único método disponível no mercado, já

para *Bonagota salubricola* existem formulações de confusão sexual, mais que não apresentaram bons resultados (PASTORI et al., 2008). Há uma preocupação dos produtores de frutas em relação à limitação das estratégias, pois para a mosca-das-frutas o grupo químico mais eficiente para o controle é organofosforados (SALLES e KOVALESKI, 1990a; REIS FILHO, 1994; SALLES, 1995; KOVALESKI e RIBEIRO, 2003), os quais estão sendo restringidos e seus registros não renovados.

Para o setor frutícola é importante que haja novos ingredientes ativos mais seletivos e que estes sejam utilizados de maneira racional, a restrição de ingrediente ativo menos seletivo pode beneficiar áreas de controle biológico (MONTEIRO et al., 2004b) e a intensificação no uso dos agroquímicos pode promover implicações na eficiência do controle pela redução da fauna benéfica pelo mau uso (GEORGHIOU e TAYLOR, 1977a,b). O monitoramento se constitui uma ferramenta do manejo integrado de pragas essencial para o melhor momento do uso de inseticidas (HICKEL e DUCROQUET, 1998; PINEDA, 2005).

O uso do monitoramento pode promover menor frequência de aplicações, reduzindo a seleção de indivíduos pré-adaptados (OMOTO et al., 2016), como ocorre com os organofosforados (SIEGWART et al., 2011). Estes são registrados para todas as pragas, sendo os mais utilizados no Sul do Brasil. Para a *G. molesta*, Teixeira (2014) observou uma tendência de resistência aos organofosforados em pomares do Rio Grande do Sul e Santa Catarina quando comparadas ao Paraná. Neste último estado, há a influência de fatores que minimizam o potencial das pragas de causarem danos, como é o caso do cultivo de variedades precoces, que necessitando entre 300 e 450 horas de frio (HAUAGGE e TSUNETTA, 1999).

A melhor maneira de evitar a seleção de indivíduos é preventivamente (GEORGHIOU, 1983; ROUSH e DALY, 1990), o que nem sempre ocorre. A utilização correta dos inseticidas respeitando o intervalo entre as aplicações, a rotatividade dos mesmos ingredientes ativos (KANGA et al., 2003) e o uso de outras estratégias como a confusão sexual (KOVANCI e WALGENBACH, 2005) poderiam contribuir na redução de alelos resistentes (OMOTO et al., 2016). Para averiguação do nível de resistência das populações utiliza-se bioensaios clássicos de concentração-mortalidade para determinar a tolerância das populações aos inseticidas, no entanto a expressão do status de resistência é limitada somente com

o bioensaio, então através de análise bioquímica é possível identificar variações nas enzimas associadas com resistência na praga de interesse.

No Sul do Brasil o uso de estratégias para interromper o processo de resistência da *Grapholita molesta* nos pomares de macieira não ocorre em unanimidade pelos produtores da fruta e conhecer o perfil fitossanitário contribuirá para verificar o grau de avanço no manejo de pragas e quais são os principais gargalos para direcionar a pesquisa. A metodologia de caracterização do perfil cultural e fitossanitário pode servir como ferramenta para auxiliar na escolha das melhores estratégias evitando o surgimento de populações resistentes.

O objetivo do estudo foi relacionar a influência das estratégias culturais e fitossanitárias adotadas em pomares de macieira do Sul do Brasil e sua relação com a resistência da *G. molesta* através de Bioensaio Toxicológico com 4 ingredientes ativos (clorpirifós, fenitrotiona, clorantraniliprole e lufenuron) e análise enzimática de acetilcolinesterase, Glutathione-S-Transferase e (α e β esterase).

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 HISTÓRICO

O primeiro pomar comercial de macieira foi implementado na cidade de Fraiburgo-SC em 1969. Outros foram favorecidos pela lei de incentivos fiscal, que possibilitava utilizar até 50% do imposto de renda devido em plantio de árvores frutíferas. Assim, a cultura começou a se expandir principalmente em Fraiburgo e São Joaquim em Santa Catarina-SC e Vacaria no Rio Grande do Sul-RS (PETRI et. al., 2011). Nessa fase inicial, ainda não estavam definidas as variedades que apresentavam o melhor potencial para as condições edafoclimáticas das regiões. As primeiras cultivares foram Golden Delicious, Starkinson, Blackjon e Melrose (PETRI et. al., 2011).

Em busca por novas variedades, a Empresa de Pesquisa Agropecuária de Santa Catarina (EMPASC) e da sua sucessora, Empresa de Pesquisa e Extensão Rural de Santa Catarina (Epagri), estabeleceram um programa de melhoramento genético, o qual lançou inúmeros cultivares com destaque para a Fuji Suprema, Catarina, Daiane, Monalisa e Condessa (PETRI et. al., 2011). A cultivar Gala é a mais produzida nos três estados do Sul, enquanto que 'Fuji' é a segunda mais produzida em Santa Catarina e Rio Grande do Sul. No Paraná, o IAPAR desenvolveu a cultivar 'Eva', menos exigente em unidades de frio (300 e 450 horas) e é a segunda mais produzida (HAUAGGE e TSUNETTA, 1999).

Com o incremento de tecnologia e a vinda de consultores para as regiões, foram implantados novos clones de Galaxy, Mundial e Imperial e Fuji Suprema. A produtividade, qualidade e coloração da fruta melhoraram, tornando-se possível a competição desses cultivares com as maçãs importadas da Argentina e Chile. Neste período, a cultura ocupava grandes áreas e as cultivares mais produtivas eram adaptadas as características edafoclimáticas das regiões.

O segundo ciclo de investimento foi na capacidade de armazenamento por um longo período, o que motivou também estudos de nutrição de planta e melhora na qualidade do fruto. A área de fitossanidade acompanhou essa evolução, embora os problemas tenham se intensificado devido ao aumento da área plantada da cultura da macieira.

2.2 PROBLEMAS FITOSSANITÁRIOS

A primeira praga de importância na cultura da macieira foi o ácaro vermelho, *Panonychus ulmi* (Acari: Tetranychidae). No final da década de 80, os problemas causados pelo ácaro se intensificaram de tal modo que os acaricidas não apresentavam a mesma eficiência, visto que eram necessárias de 3 a 4 aplicações durante o ciclo (MONTEIRO, 1994). O alto número de aplicações estava associado ao manejo inadequado, pois o monitoramento não representava a população de uma área e, com isso, o controle químico era a única ferramenta no início dos anos 90. Novas moléculas, como os acaricidas ovicidas não persistiram por mais de duas safras (MONTEIRO, 1994).

A mariposa oriental, *Grapholita molesta* (Busck, 1916) (Lepidoptera: Tortricidae) era caracterizada por ser praga primária em pessegueiro e secundária em macieira. No entanto, devido à sua adaptação em macieira, este inseto-praga passou a ser praga primária nas regiões produtoras de maçã do Sul do Brasil (SALLES, 2001). Os fatores que contribuíram para a elevação de *G. molesta* para o status de praga primária se devem à falta de monitoramento da praga pelos produtores e o pouco conhecimento dos dados bioecológicos desse inseto. Atualmente sabe-se que esta praga reside no interior de pomares durante o ano todo, sendo que, no inverno ela hiberna na forma de larva nos *burrknots* de macieira (ARIOLI, 2007).

Com a necessidade do controle e sem o conhecimento necessário sobre a praga, os produtores começaram a realizar a aplicação de inseticidas juntamente com a calda utilizada para a quebra de dormência. Na sequência, durante a floração da macieira, são realizadas três pulverizações consecutivas de um inseticida hormonal e não com inseticidas neurotóxicos, devido à presença de abelhas para a polinização. Essa estratégia em sequência fez com que este inseticida tebufenozide fosse inviabilizado para os próximos anos, provavelmente pelo processo de seleção de resistência (KANGA et al., 2003; SIEGWART et al., 2011).

Dois outros problemas de insetos persistem: Lagarta enroladeira da macieira, *Bonagota salubricola* (Lepidoptera: Tortricidae), e mosca-das-frutas Sul americana, *Anastrepha fraterculus* (Diptera: Tephritidae). A ocorrência da lagarta enroladeira é mais importante em Vacaria-RS, do que em outras regiões e tem causado prejuízos

esporádicos em Fraiburgo e São Joaquim (SC), assim como Lapa e Porto Amazonas (PR). A lagarta-enroladeira tem o hábito de se proteger entre folhas e cachopas de frutos para se alimentar e se abrigar contra seus inimigos naturais, sendo de fundamental importância a realização do raleio de frutos para diminuir a incidência de danos desse inseto (BOTTON et al., 2000b). Para o seu controle a aplicação de inseticidas químicos ainda continua sendo a melhor estratégia (BOTTON et al., 2000a; KOVALESKI e RIBEIRO, 2003; KOVALESKI, 2004; BOTTON et al., 2009). *Anastrepha fraterculus* é a espécie mais representativa entre as moscas em pomares de maçã e a de maior importância econômica nos pomares (KOVALESKI e RIBEIRO, 2002; BOTTON et al., 2003; MONTEIRO e HICKEL, 2004; HICKEL, 2008; NAVA e BOTTON, 2010). Sua frequência de capturas em frascos caça-moscas chega a 96% dos indivíduos (SALLES e KOVALESKI, 1990a) e está sujeita às condições de clima, interação com fatores bióticos e com o meio (CALKINS e MALAVASI, 1995; SALLES, 1995). Os danos devido a oviposição de ovos ocorrem em fruto de aproximadamente 2 cm de diâmetro (MAGNABOSCO, 1994; SUGAYAMA et al., 1997). A principal forma de controle é a pulverização por cobertura com inseticidas organofosforados (SALLES e KOVALESKI, 1990b; SALLES, 1991), embora alguns inseticidas deste grupo estão tendo seus registros de uso cancelados. Isso limita bastante as opções de inseticidas, fazendo com que o produtor use um mesmo ingrediente ativo em sequência. Novas técnicas de monitoramento e controle foram introduzidas nos últimos anos, entretanto ainda estão em fase de desenvolvimento.

Os problemas fitossanitários não se limitam aos artrópodos, pois a cultura enfrenta dificuldades com o manejo de patógenos. Este agente representa o maior número de entradas no pomar, acarretando o maior custo de produção. Dentre as principais doenças encontradas nos pomares a sarna-da-maçã causada pelo fungo *Venturia inaequalis* é a mais relevante (BONETI et al., 2002). Entretanto, em determinadas condições climáticas a mancha-das-folhas, *Glomerella cingulata*, tem se propagado rapidamente e proporcionando queda de folhas. A podridão amarga (*Glomerella cingulata* / *Colletotrichum* spp.), a podridão branca (*Botryosphaeria dothidea*, sin. *B. berengeriana*) e a podridão-olho-de-boi (*Pezizulamali corticis*) tem ocorrido com frequência (VALDEBENITO SANHUEZA, 2001). Diferente do que ocorre com artrópodos, não há uma técnica de monitoramento prática e adotada

pela maioria dos produtores, os quais ficam à mercê das condições de clima e o controle por calendário de pulverizações.

2.3 MANEJO FITOSSANITÁRIO

Nos anos 90, o monitoramento de pragas e patógenos se tornaram um item indispensável com o aumento dos problemas fitossanitários. Em tese, esta ferramenta possibilita a tomada de decisão no momento mais coerente (HICKEL e DUCROQUET, 1998) da flutuação populacional de uma determinada praga. Existem técnicas de amostragem para as pragas primárias da macieira, entretanto, pelo simples fato de serem coletadas não é o suficiente para que os produtores tenham a segurança necessária para apostarem nas informações coletadas. É necessário organizar os registros de monitoramento em planilhas eletrônicas para melhor análise por meio de gráficos e ao mesmo tempo verificar se os picos de ocorrência ocorrem nos mesmos locais todos os anos.

2.3.1 MONITORAMENTO DE PRAGAS

O primeiro monitoramento estabelecido para o acompanhamento populacional do ácaro vermelho *P. ulmi* no Brasil consistia da contagem de formas móveis sobre as folhas. Este tipo de amostragem gera erros, os quais são mais acentuados quando o amostrador não recebe treinamento. Com isso, era frequente a obtenção de dados com amostragem tendenciosa, sem refletir a potencialidade de prejuízos e superestimação do número de ácaros. Para melhorar essa técnica foi implantado o modelo binominal, isto é, presença/ausência de ácaros sobre a folha (BAILLOD e SCHLAEPFER, 1982).

Nos anos 90 foram realizados cursos para o treinamento de monitores nas mais importantes empresas de fruticultura em maçã e citros, no Estado de São Paulo. Com isso, houve uma melhoria na metodologia, baseada em: i) definição de traçado padrão, o que permite uma melhor coleta na unidade amostral; ii) definição do local da folha na planta a ser amostrada; iii) considerar a evolução da colonização do ácaro nas macieiras a partir da eclosão das larvas dos ovos de inverno. Estabeleceu-se uma metodologia de amostragem para acompanhar o

desenvolvimento do ácaro vermelho em primeira geração associando com o crescimento dos ramos do ano, de modo que, de outubro a meados de novembro a amostragem é realizada no terço inferior do ramo, de meados de novembro a meados de dezembro no terço médio e a partir de meados de dezembro no terço superior. Com isso, foi possível evitar pulverizações precoces, com repercussões na capacidade do fitófagos tolerarem os acaricidas (MONTEIRO, 2001).

Para a *G. molesta* o monitoramento chegou a ser realizado por armadilhas McPhail com suco de frutas como atrativo alimentar (CAMPOS e GARCIA, 2000), entretanto, no final dos anos 90, passou a ser realizado por armadilha Delta com feromônio sexual sintético (SALLES, 1998). O uso de feromônios sexuais sintéticos tem sido recomendado em programas de manejo integrado em muitos países devido à facilidade de emprego e especificidade de ação (BENTO, 2000), permitindo identificar a presença deste inseto-praga em diferentes ambientes.

O monitoramento com feromônios se baseia em um septo de borracha ou silicone, depositado sobre um piso com cola situado no interior da armadilha do tipo Delta. A duração da liberação do feromônio varia de 30 a 60 dias e o piso deve ser trocado quando houver um grande número de insetos (RIBEIRO, 1999). O número de armadilhas varia de acordo com o tamanho da área do pomar sendo usada uma armadilha a cada cinco hectares para pomares de grandes áreas e uma a duas armadilhas para pomares pequenos. A distribuição das armadilhas é realizada de forma que permita a melhor abrangência da área total e a instalação feita logo após a queda das pétalas, sendo verificada de uma a duas vezes semanalmente para remoção e contagem do número de insetos capturados (RIBEIRO, 1999). As armadilhas são posicionadas a uma altura de 1,6 a 1,8 metros do solo (HICKEL e DUCROQUET 1998; SALLES, 1998).

Para *A. fraterculus* o suco de uva na proporção de 25% foi o atrativo alimentar mais utilizado no Sul do Brasil para o monitoramento até o final dos anos 90 (KOVALESKI, 2004). Atualmente a proteína hidrolizada é a mais empregada em programas de monitoramento (LORENZATO, 1984; NASCIMENTO et al., 2000; MONTEIRO et. al., 2007), entretanto, a eficiência de captura está condicionada à temperatura. Resultados preliminares mostram que as capturas até o mês dezembro são maiores nas armadilhas utilizando o suco de uva e a partir de janeiro a proteína hidrolisada é a mais atrativa (LBM, dados não publicados). Outro método importante

para melhorar o monitoramento é o uso de um único tipo de armadilha no pomar, como a McPhail. A armadilha que mais captura é a transparente, modelo USP, depois as que apresentam o fundo amarelo, fabricado pela Biocontrole, seguido pela Isca. Em um grande pomar, às vezes se encontra as três armadilhas diferentes em uma mesma área, o que pode gerar um erro amostral.

As armadilhas devem ser instaladas logo após a queda das pétalas, a uma altura aproximada de 1,80 m do solo e abrigada dos raios solares para evitar a rápida evaporação dos atrativos e a queimadura e escurecimento dos frascos (RIBEIRO, 1999), de preferência na periferia dos pomares a uma distância 150 a 200 metros entre as armadilhas. O número de armadilhas por pomar varia conforme a área do plantio, Salles (1995) recomenda duas a quatro armadilhas por hectare, variando de acordo com a topografia do terreno. Se houver a presença de barreiras naturais eleva-se para quatro armadilhas/hectare.

2.3.2 INFLUÊNCIA DE FATORES INTRÍNSECOS AO POMAR

Fatores intrínsecos aos pomares são definidos como sendo a idade do pomar, disposição das variedades polinizadoras, quantia de cultivares comerciais na mesma parcela de plantio, realização de raleio de frutos e limpeza dos restos culturais após a colheita. Todos estes fatores podem influenciar os níveis populacionais dos artrópodes, embora ainda faltem estudos para quantificá-los. É sabido pela prática de produtores e técnicos envolvidos na cultura que plantas velhas de Gala possuem muitas calosidades nos ramos, os chamados *burrknots*, os quais abrigam larvas de grafolita no inverno. De acordo com a quantidade dos *burrknots* teremos altas populações da mariposa durante todo o ano (SANTOS e LEOLATO, 2011). Na implantação do pomar, o plantio com duas linhas de polinizadoras e quatro da variedade comercial promove uma aberração fitossanitária, pois após a colheita da variedade comercial é necessário ainda a realização de pulverizações totais de produtos fitossanitários, embora a área com frutas seja apenas de 33% do pomar.

2.3.3 TÉCNICAS DE CONTROLE DE PRAGAS

2.3.3.1 CONTROLE QUÍMICO EM COBERTURA

O controle químico está entre as estratégias mais utilizadas em macieira para controle de pragas (KOGAN, 1998). Nos anos 90, os inseticidas mais utilizados eram do grupo dos organofosforados, em função das alternativas presentes no mercado, mas também por possuírem ação sobre os adultos da maioria das pragas presentes em um pomar, assim como em os ovos e larvas de moscas-das-frutas no interior de frutos (SALLES e KOVALESKI, 1990b). Normalmente eram realizadas de quatro a seis aplicações por safra, entretanto, esse número foi gradativamente aumentando devido ao desequilíbrio entre artrópodos, surgimentos de pragas secundárias com potencial de dano em determinadas condições de clima, uso de inseticidas tóxicos aos inimigos naturais e possíveis perdas de eficiência devido a seleção de populações resistentes (KOVALESKI et al., 2000).

Nos últimos 20 anos, houve o registro de novos grupos químicos, dentre eles os Benzoiluréias, Diacilhidrazidas e mais recentemente das Diamidas (BOTTON et al., 2005; PASTORI et al., 2012), cujos grupos, são utilizados para o controle de larvas de lepidópteros sobre a macieira, em frutos ou no solo. Com um maior número de inseticidas de diferentes grupos químicos, houve uma evolução no conceito de produto fitossanitário. Estes passaram a serem avaliados por consultores e por grupos envolvidos com o programa Produção Integrada de Frutas (PIF), de modo que estes não bastam estar registrados na cultura, mas precisam serem analisados quanto ao impacto sobre inimigos naturais e ao ambiente.

Muitos inseticidas foram eliminados da grade de produtos fitossanitários pelo elevado impacto comprovado pela literatura nacional e internacional ou autorizado com restrições. Assim, tivemos a oportunidade de contabilizar a ocorrência de inimigos naturais ainda não referendados em macieira (MONTEIRO et al., 2004). Levando a necessidade de serem pesquisados novos ingredientes ativos (NONDILLO et al., 2007) e estratégias alternativas de controle de pragas.

A necessidade de pulverização com produtos fitossanitários está relacionada com a eficiência da técnica de amostragem, de modo que esta possa indicar a real capacidade da praga em provocar danos. Após esta avaliação, os dados do

monitoramento são confrontados com dados pré-estabelecidos de níveis de danos. O Nível de dano econômico estabelece os limites do tamanho da população para que o produtor faça uma intervenção. Para o monitoramento de mosca-das-frutas, os dados estabelecidos são de 0,5 mosca/frascos/dia (RIBEIRO, 1999), embora Nora e Hickel (2002) recomendam 0,8 moscas/frascos/dia. Para a *G. molesta* recomenda-se pulverizar com inseticidas quando a densidade populacional ultrapassa 20/armadilha/semana (SALLES, 1991). Uma parte dos produtores realiza o monitoramento, entretanto, este não é utilizado para estabelecer a decisão de pulverização, pois utilizam o modelo de pulverização por calendário. Quando a captura atinge o nível de controle os agricultores costumam aplicar inseticidas de largo espectro, principalmente fosforados e piretróides (GONRING et al., 1999).

2.3.3.2 CONTROLE BIOLÓGICO

3.3.3.2.1 CONTROLE BIOLÓGICO DE *Panonychus ulmi* COM *Neoseiulus californicus*

Na cultura da maçã, o controle biológico do ácaro vermelho *P. ulmi* foi implantado no início dos anos 90. O aperfeiçoamento das técnicas de monitoramento foi o principal fator que contribuiu para a implantação do controle aplicado de ácaro vermelho. Em 1992 em Vacaria-RS foi construída a primeira biofábrica de ácaros predadores, *Neoseiulus californicus* (MONTEIRO, 2002a). Esta espécie foi a que melhor se adaptou as condições de criação e climáticas do Sul do Brasil, dentre as demais espécies testadas, tais como: *Typhlodromus pyri*, *Amblyseius andersoni* e *Amblyseius fallacis* (MONTEIRO, 1994). Quando liberado, a migração natural dos fitoseídeos ocorre em função da redução do ácaro fitófago nos pomares, entretanto, a porcentagem de ressurgimento do fitoseídeo no ano seguinte no mesmo pomar de liberação está condicionada ao manejo de ervas daninhas (MONTEIRO, 2002b) e o uso de herbicidas (MONTEIRO et al., 2006). A importância do manejo de ervas daninha é essencial para a manutenção de inimigos naturais nos pomares, de modo que estes contribuíssem para o aumento de outros artrópodos benéficos.

Associado ao controle biológico está à capacidade de previsão da capacidade de predação ou redução da população do ácaro fitófago. As amostragens dos ovos de hibernação do ácaro vermelho, realizadas em julho ao redor das gemas em ramos de dois anos, permitem estimar a população de verão e recomendar estratégias de controle mais sustentáveis, ora liberando o fitoseídeo em áreas em que ocorre um desequilíbrio, ora realizando pulverizações de acaricidas seletivos e/ou com concentração abaixo do recomendado para a cultura, visando restabelecer o equilíbrio entre ambas as populações.

O uso de *N. californicus* foi utilizado como um bioindicador para o impacto dos tratamentos fitossanitários realizados em macieira. Foram testados os inseticidas e acaricidas para verificar os mais seletivos quanto ao fitoseídeo (MONTEIRO, 2001), o que resultou na recomendação de não uso em áreas de controle biológico para os ingredientes ativos vamidothion, azinphosmethyl, parathion, fention e deltametrina. A eliminação destes inseticidas teve repercussão positiva sobre outros agentes de controle biológico, como foi para a *Aphelinus mali* (Hymenoptera: Aphelinidae) e *Trichogramma pretiosum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) (MONTEIRO, 2001).

2.3.3.2.2 CONTROLE DE LARVA DE LEPIDÓPTEROS COM *Bacillus thuringiensis*

O controle com formulações a base de *Bacillus thuringiensis* foi por muito tempo utilizado em macieira para controle de lagartas mastigadoras e tortricídeos. Este inseticida biológico não se mostrou eficiente para *G. molesta* em função da dificuldade de ingestão da bactéria pela neonata ao penetrar no fruto (PAIXÃO, 2012). O uso das diferentes formulações para larvas sobre as folhas de macieira e no solo se constitui uma ação eficiente e positiva em preservação aos inimigos naturais de um pomar.

2.3.3.3 CONFUSÃO SEXUAL PARA *Grapholita molesta*

A técnica de confusão sexual foi utilizada pela primeira vez em macieira nos anos 80 na Europa e Estados Unidos da América Monteiro (2006, apud SANTANA, 2012, p.42), no Brasil, foi testado por Sales e Marini (1989) e Monteiro et al. (2008) na década de 90. O controle de *G. molesta* baseada no confundimento de machos

pela alta concentração de feromônio se revelou interessante para o manejo integrado, porque reduz o número de aplicações de inseticidas para *G. molesta* no período de colheita, pois a flutuação de mariposas é praticamente nula.

Muitos produtores acreditam que a redução de inseticidas pelo uso de formulação de confusão sexual não é relevante, pois neste mesmo período há a ocorrência de outras pragas, tais como, moscas-das-frutas, e com isso, é necessário a pulverização de inseticidas no período de validade do feromônio (RIBEIRO, 1999). No entanto, esse argumento não é suficiente para não utilizar a técnica, pois: i) a flutuação de moscas-das-frutas é dependente do clima, havendo anos em que a ocorrência é bastante baixa e o número de inseticidas é limitado a uma pulverização; ii) a confusão sexual exerce um efeito na manutenção de indivíduos suscetíveis; iii) o não uso de certos inseticidas faz com que os mesmos não percam a eficiência e sejam a melhor escolha quando houver necessidade devido às condições favoráveis para o inseto ou desfavorável para a confusão sexual, como é o caso de anos de El Niño; iv) a longo prazo, o uso da confusão sexual contribui na redução do impacto no ambiente, em particular sobre inimigos naturais como, ácaros predadores e parasitoides de ovos de lepidópteros.

Atualmente há várias formulações com feromônios utilizadas para o controle de tortricídeos. A formulação atrai-mata (PASTORI et al., 2008) é uma formulação que tem o feromônio associado a um inseticida, para o controle de *Bonagota salubricola* e *G. molesta*.

2.3.3.4 ISCA TÓXICA PARA *Anastrepha fraterculus*

A isca tóxica é uma mistura de proteína hidrolisada ou melado de cana-de-açúcar com inseticida, geralmente organofosforados (HÄRTER et al., 2010). A pulverização de isca-tóxica deve ser em bordadura do pomar, de modo que as fêmeas que entram no pomar possam ingerir a substância alimentar com inseticida. A técnica baseia-se no fato de que as fêmeas necessitam maturar o aparelho reprodutor se alimentando de substâncias ricas em proteínas e carboidrato. Embora pareça eficiente (MONTEIRO e FABBRIN, 2007), a técnica ainda não foi devidamente comprovada.

2.4 MANEJO DA RESISTÊNCIA EM ARTRÓPODES

As falhas de eficiência ocorridas no controle de artrópodes nem sempre estão diretamente com processos de seleção de populações, visto que vários fatores podem comprometer a eficácia da aplicação de pesticidas no controle de pragas. Muitos dos problemas estão associados ao estado de conservação e calibragem de pulverizadores, aplicação em condições climáticas desfavoráveis, produto e concentração inadequado, pH da calda, efeito do produto aos organismos benéficos e a densidade populacional (OMOTO et al., 2016). Apesar disso, o uso indiscriminado de inseticidas em qualquer cultura leva a efeitos não desejáveis, tais como, desequilíbrio entre fauna benéfica e pragas ou seleção de populações fisiologicamente diferentes daquelas em que não ocorrem pulverizações. Entre os efeitos mais prejudiciais para os produtores é a ineficiência dos produtos fitossanitários por seleção de populações resistentes aos inseticidas, relacionados a fatores genéticos e bioecológicos (GEORGHIOU e TAYLOR, 1977a,b). Com isso, a frequência das pulverizações se intensifica e, via de regra, o inseticida mais recentemente lançado no mercado é utilizado neste quadro de urgência, prejudicando a sua vida útil no mercado. Isso aconteceu com o tebufenozide, quando foi recomendado três pulverizações em sequência na floração.

O reconhecimento do processo de seleção à resistência não é fácil no dia a dia, visto que esta é gradual e se caracteriza pela tolerância de uma população a concentrações que seriam letais para a maioria dos indivíduos de uma população da mesma espécie (OMOTO et al., 2016). A pressão contínua de seleção e a frequência do uso de uma determinada molécula de inseticida podem aumentar a frequência de indivíduos pré-adaptados (OMOTO et al., 2016). Neste processo, existem alguns mecanismos fisiológicos dos insetos que estão envolvidos, entre eles, a redução da penetração de inseticidas pela cutícula do inseto, a detoxificação ou metabolização do inseticida por enzimas e redução de sensibilidade de sítios de ação do inseticida pelo sistema nervoso (LORINI, 1999).

Por outro lado, os insetos resistentes apresentam um custo adaptativo, tornando-os menos aptos que os indivíduos suscetíveis. Quando o inseticida a que eles expressam a resistência deixa de ser utilizado, há influências fisiológicas, como menor viabilidade de ovos, menor fecundidade, maior período de desenvolvimento,

menor competitividade ao acasalamento e maior suscetibilidade aos inimigos naturais (ROUSH e MCKENZIE, 1987). O uso de confusão sexual como estratégia de controle alternativa pode influenciar nestas questões fisiológicas e favorecer os indivíduos suscetíveis (GEORGHIOU, 1983), os quais poderiam contribuir com a redução de alelos resistentes a partir da migração de indivíduos suscetíveis (OMOTO et al., 2016). Contudo, é possível restabelecer a suscetibilidade das populações com um manejo correto dos inseticidas, respeitando um intervalo de tempo entre aplicações com o mesmo ingrediente ativo e fazendo a rotação com inseticidas com ação tóxica em diferentes sítios de ação (KANGA et al., 2003). Uma estratégia fitossanitária preventiva poderia ser empregada visando o manejo da resistência na prática (GEORGHIOU, 1983; ROUSH e DALY, 1990) associada a estudos de laboratório, verificando a atividade das enzimas relacionadas com processo de resistência, tais como: Glutathione-S-Transferase-GST, acetilcolinesterase -AChE e alfa- α e beta- β) esterase.

No Brasil existem poucos estudos que relacionam a influência das estratégias fitossanitárias em pomares de macieira e sua relação com a resistência da *G. molesta*, o que é necessário para manter a competitividade do setor frente às exigências sobre a qualidade dos frutos no mercado nacional e internacional. A metodologia de caracterização do perfil cultural e fitossanitário pode servir como ferramenta para auxiliar na escolha das melhores estratégias evitando o surgimento de populações resistentes.

O objetivo do estudo foi relacionar a influência das estratégias culturais e fitossanitárias adotadas em pomares de macieira do Sul do Brasil e sua relação com a resistência da *G. molesta* através de Bioensaio Toxicológico com 4 ingredientes ativos (clorpirifós, fenitrotiona, clorantraniliprole e lufenuron) e análise enzimática de acetilcolinesterase, Glutathione-S-Transferase e (α e β esterase).

MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 LOCAL DO ESTUDO

O estudo foi realizado em 28 pomares de macieira no Sul do Brasil. Destes, seis se situavam no Estado do Paraná, nos municípios de Campo do Tenente (25°58'41" S, 49°40'58" W, 798m), na Lapa (25°46'11" S, 49°42'57" W, 908 m) e

Porto Amazonas (25°32'41" S, 49°53'25" W, 793m); dez pomares em Santa Catarina, em Fraiburgo (27°01'34" S, 50°55'17" W, 1048m), São Joaquim (28°17'38" S, 49°55'54" W, 1353m) e Urupema (28°17'38"S, 49°55'54, 1335m) e doze no Rio Grande do Sul, em Vacaria (28°30'44" S, 50°56'02" W, 971m). Um pomar em cultivo orgânico localizado em São Joaquim foi utilizado como referência positiva.

A seleção dos pomares ocorreu de forma aleatória e teve como objetivo representar os pomares mais tradicionais de cada região. Estes possuíam áreas de plantio variando de 30 a 300 ha. Seis pomares entregam sua produção a empresas especializadas na comercialização da fruta, os demais comercializam os seus próprios frutos. A variedade mais cultivada é a 'Gala' nos três Estados, seguida da 'Fuji' em Santa Catarina e Rio Grande do Sul e 'Eva' no Paraná.

3.2 IMPACTO CULTURAL E FITOSSANITÁRIO SOBRE O MANEJO DOS POMARES

A caracterização cultural e fitossanitária dos pomares foi organizada pelo sistema de Avaliação de Impacto Ambiental da Inovação Tecnológica Agropecuária (AMBITEC-AGRO), proposta por Rodrigues et al., (2003). Este propõe determinar o impacto de fatores culturais e fitossanitários sobre o manejo dos pomares, coletados em três ciclos vegetativos entre 2012 e 2015 e representativos destes fatores, denominados de Componentes. Estes receberam notas de -3, -1, +1 e +3, denominados de Coeficientes de Alteração. Baseados nas atividades agrícolas realizadas nos pomares de macieira foram definidos os seguintes Componentes:

- I. MONITORAMENTO. É a atividade de amostragem de *Grapholita molesta* e *Anastrepha* sp., por meio de armadilha Delta e McPhail respectivamente. Monitoramento de ambos os insetos é positivo (+3), de apenas um é (+1), enquanto que amostragens realizadas em poucas semanas durante o ciclo de produção são parciais (-1). Sem monitoramento é (-3).
- II. CONFUSÃO SEXUAL. Uso de formulação a base de feromônio para o controle de *G. molesta*. Pomares que utilizam esta estratégia por três ciclos produtivos têm Coeficiente de Alteração positivo (+3). Não usar a técnica de confusão sexual é negativo (-3).

- III. CONTROLE BIOLÓGICO. Controle biológico aplicado de *Panonychus ulmi* (MONTEIRO, 1993) sem o uso de acaricidas tem fator positivo (+3), controle biológico associado a um acaricida em área parcial é (+1), sem controle biológico e uso de um acaricida é (-1) e com 2 acaricidas é (-3).
- IV. HERBICIDA. Pulverizações com um herbicida é positivo (+3) e acima de quatro é negativo (-3).
- V. FREQUÊNCIA DE INSETICIDAS. A realização de até seis pulverizações é positivo (+3), valor acima deste são gradativamente negativos, sendo acima de 13 inseticidas é (-3).
- VI. ROTAÇÃO DE INSETICIDAS. Uso regular de inseticidas de diferentes grupos químicos é positivo desde que utilize 4 grupos químicos no mesmo ciclo produtivos para diferentes pragas (+3), enquanto que, negativo quando se usa inseticida de um grupo químico (-3).
- VII. ISCA TÓXICA. Realizar pulverizações seletivas com substância alimentares associada à inseticida para *A. fraterculus* nos últimos 2 ciclo é positivo (+3), enquanto que não realizar é negativo (-3). Adotar a técnica sem levar em consideração os dados de monitoramento é (-1).
- VIII. ELIMINAÇÃO DE FRUTOS NA PÓS-COLHEITA. Eliminação total dos frutos após a colheita é positivo (+3). Permanência de frutos exclusivamente nas macieiras polinizadoras é (+1) (distribuição das polinizadoras em 10% das macieiras), enquanto que, não colher a totalidade das maçãs comerciais é negativo (-1), assim como, deixar frutos comerciais e de polinizadoras distribuídas em 2 por 4 linhas de plantio ou em 10% das macieiras é negativo (-3).
- IV. IDADE DO POMAR. Pomares com menos do que cinco anos de implantação apresentam um impacto positivo sobre a flutuação de *G. molesta* (+3), enquanto que com mais de 13 anos será negativo (-3).
- X. INFLUÊNCIA DE CULTIVARES. Pomares que tem apenas uma cultivar comercial associado à macieiras polinizadoras (10%) não comercializadas têm Coeficiente de Alteração positivo (+3). Pomares com duas cultivares comerciais, sendo que a polinizadora é comercial, distribuídas 2 por 4 linhas de plantio e colhida precocemente é (+1); polinizadora é comercial (2 por 4 linhas de plantio) colhida posteriormente a cultivar principal é (-1); as duas

cultivares são comercializadas, sendo que a polinizadora é comercial (distribuída em 10% da área) o Coeficiente de Alteração é (-3).

- XI. CAPTURA DE *G. MOLESTA* APÓS PULVERIZAÇÃO. O número médio de captura de *G. molesta* por pulverização, contabilizada no monitoramento do 10º dia após pulverização com inseticidas, é menor do que cinco mariposas constitui um fator positivo (+3) e gradualmente negativo até ser superior a quinze mariposas (-3).
- XII. GESTÃO DE DADOS FITOSSANITÁRIOS. Preenchimento de caderno de campo ou registro informatizado de produtos fitossanitários e monitoramento é positivo (+3), enquanto que é negativo se não houver registros (-3). Arquivos incompletos, sem anotações de produtos fitossanitários ou monitoramento, têm Coeficiente de Alteração (+1) e arquivos incoerentes, aqueles que contêm margem de erro impossibilitando de serem utilizados, é (-1).

As médias dos Coeficientes de Alteração (CA) nos três ciclos vegetativos determina uma escala que define o impacto cultural e fitossanitário sobre o manejo dos pomares, representado pelos seguintes tipos de eficiência tecnológica: 1. Manejo Integrado de Pragas (MIP) entre (soma dos Coeficientes de Alteração de 18 a 36); 2. Boas Práticas Agrícolas (BPA) (0 a 17); 3. Manejo Convencional (MC) (-0 a -17); 4. Manejo Inadequado (MI) (-18 a -36).

3.3 POPULAÇÕES DE *Grapholita molesta*

Foram estabelecidas oito populações de *G. molesta* para realização de teste Toxicológico e Enzimático. As coletas das populações ocorreram em 2014 e 2015 com trinta e cinco idas a campo com duração de três dias quinzenalmente nos pomares de Santa Catarina e Rio Grande do Sul e trinta coletas com duração de dois dias nos pomares do Paraná. A captura da mariposa foi realizada através da coleta em frutos com danos da praga, captura em burknot e armadilhas McPhail adaptadas com tela para captura da mariposa viva. Os indivíduos capturados foram levados para multiplicação em laboratório (Laboratório de Manejo Integrado de Pragas-LAMIP, do Setor de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Paraná) e mantidos em potes com dieta artificial (GUENNELON et al., 1981) em sua fase

larval, na sua fase adulta em garrafas pet 2L com uma bucha de algodão embebido em (água + açúcar 25%). Três populações (B5, B6 e B7) foram capturadas em

Tabela 1. Componentes de avaliação das estratégias culturais e fitossanitárias para caracterizar o perfil fitossanitário de pomares de macieira do Sul do Brasil.

Componentes	Coeficientes de Alteração (CA)			
	3	1	-1	-3
Monitoramento ¹	<i>G. molesta</i> e <i>A. fraterculus</i>	<i>G. molesta</i> ou <i>A. fraterculus</i>	Parcial	Ausência
Confusão sexual ²	3 ciclos	2 ciclos	1 ciclos	Ausência
Controle biológico do ácaro <i>P. ulmi</i> ³	Ácaro fitoseídeo/ nenhum acaricida	Ácaro fitoseídeo / 1 acaricida em área parcial	Não utiliza fitoseídeo / 1 acaricida total	Não utiliza fitoseídeo / > 2 acaricida
Herbicida ⁴	1	2	3	>4
Inseticida ⁵	4 a 6	7 a 9	10 a 12	>13
Rotação de Inseticida ⁶	4	3	2	1
Isca Tóxica ⁷	2 ciclos	1 ciclos	Sem base em monitoramento	Ausente
Eliminação de frutos na pós-colheita ⁸	Eliminação total de frutos	Permanência de frutos somente nas polinizadoras distribuídas em 10%	Permanência de frutos nas Comerciais	Permanência de frutos nas comerciais e polinizadoras distribuídas em 2x4
Idade do pomar ⁹	5 anos	6 a 9 anos	10 a 12 anos	>13 anos
Cultivares pomar ¹⁰	no 1 cultivar comercial/ 10% polinizadora	2 cultivares comerciais; primeira colheita da polinizadora 2x4	2 cultivares comerciais; polinizadora colhida após a principal 2x4	2 cultivares comerciais/ 10% polinizadoras na área, colhida após a principal
Flutuação de <i>G. molesta</i> após tratamento ¹¹	0 a 5	5 a 10	10 a 15	>15
Gestão de dados fitossanitários ¹²	Completo	Incompleto	Incoerentes	Ausente

Coeficientes de Alteração de acordo com Rodrigues et al. (2003).

¹Monitoramento regular para *G. molesta* e *A. fraterculus* durante o ano é considerado positivo e quando realizado em algumas semanas no ciclo produtivo (-1) ou ausente (-3) é negativo; ²Número de ciclos produtivos usando confusão sexual; ³Controle biológico de ácaro vermelho associado com número de pulverização com acaricida, quanto maior é negativo; ⁴Número de herbicidas pulverizados por ciclo produtivo, quanto maior é negativo; ⁵Número de inseticidas pulverizados por ciclo produtivo; ⁶Número de inseticidas de diferentes grupos químicos pulverizados para controle de diferentes pragas por ciclo produtivo; ⁷Uso de isca tóxica para controle da *A. fraterculus*, de acordo com os ciclos produtivos e o monitoramento; ⁸Eliminação de maçãs após a colheita, considerando que há maior número de polinizadoras distribuídas em 10% da área do que plantadas em 2 linhas em 4; ⁹Idade das macieiras, quanto mais velhas maior o número de burknot e fonte de larvas; ¹⁰Disponibilidade de frutas para pragas em relação as cultivares; ¹¹Número médio de captura de *G. Molesta* por pulverização capturada no monitoramento no 10º dia após pulverização com inseticidas; ¹²O preenchimento das ambas informações fitossanitárias e de monitoramento de pragas é positivo (3), sendo preenchido um dos itens é +1, quando margem de erro impossibilita o seu uso esta é negativo (-1).

pomares que utilizavam confusão sexual para *Grapholita molesta*; quatro (I28, B16, B17 e B19) em pomares que não utilizavam, sendo que, I28 em um pomar que não realizou atividades agrícolas em dois ciclos reprodutivos 2011-2012 e 2012-2013. Foram utilizadas outras três como testemunha, sendo (R1) população de cultivo Orgânico com a finalidade de servir como referência positiva e duas formadas a partir da aplicação de Organofosforados (R3) por sete gerações e ao Clorantraniliprole (R2) por cinco gerações para servir de controle negativo;

3.4 BIOENSAIO TOXICOLÓGICO

Para avaliação da resistência foi utilizado quatro inseticidas selecionados a partir do levantamento de dados fitossanitário dos pomares, sendo aqueles mais representativos. Foi realizada análise dos dados e definida a utilização de inseticidas de três grupos químicos de diferentes ingredientes ativo, sendo: Organofosforados (clorpirifós e fenitrotiona), Antranilamida (clorantraniliprole) e Benzoiluréia (lufenuron).

O bioensaio toxicológico foi realizado em microplaca Elisa 96 poços. Os poços foram preenchidos com dieta especial para lepidópteros (Ward's – Stonefly/Heliothis diet, industries, TX, EUA), uma quantia de 150 µl foi injetada em cada poço com auxílio de uma seringa e compactada, evitando espaços vazios. Foram efetuados pré-testes para determinar as seis concentrações testadas. Uma quantia de 1 µl de solução foi aplicada por poço e permaneceu por 1 hora na sala de teste com temperatura 22 ± 2 °C, antes da colocação das neonatas de *Grapholita molesta*. Foi depositada uma neonata que apresentava boa movimentação com o auxílio de um pincel ponta fina por poço. Os poços foram vedados com parafilme para evitar a fuga das neonatas e ressecamento da dieta. As placas foram mantidas em BOD, com temperatura de 22 ± 1 °C e fotoperíodo de 16 horas. As avaliações foram realizadas dez dias após a montagem para Lufenuron (quando avaliadas com sete dias as larvas encontravam-se moribundas, já nos dez dias tinha uma definição clara do seu estado vital) e sete dias para Clorpirifós, Fenitrotiona e Clorantraniliprole. Foi considerada como morta as lagartas que não responderam ao toque do pincel.

3.5 ANÁLISE ENZIMÁTICA

Foi realizada análise enzimática para AchE, GST, α e β - esterase. Foram utilizadas 50 larvas de terceira geração de cada população no seu quarto e quinto instar, formando 10 *pools* com cinco larvas cada. As amostras foram homogeneizadas na proporção 1:10 (peso:volume), com média de peso de 82 μ g, em tampão fosfato pH 7,0. As amostras foram homogeneizadas com auxílio de micro-homogeneizador. O homogeneizado foi centrifugado por 20 minutos a 10.000 x g a 4°C, o sobrenadante foi separados em microtubos (Ache 200 μ L, GST 200 μ L, α - β esterase 60 μ L e Proteína 60 μ L) e mantidos em freezer a -80 °C até as análises.

A atividade da acetilcolinesterase foi medida por Ellman et al., (1961) modificado para microplaca por Silva de Assis (1998). O substrato acetiltiocolina é hidrolisado pela AChE (presente no homogenato do tecido) em tiocolina e acetato. A tiocolina resultante reage com o DTNB gerando o ânion 5-Tio-2-nitrobenzoato responsável pelo aparecimento de coloração amarela. Em microplaca foi adicionado 25 μ L do sobrenadante em triplicata, e seguidamente adicionado 200 μ L o DTNB (5,5 – Ditio-bis-2-nitrobenzoato) a 0,75 mM e 50 μ L do substrato acetiltiocolina a 10 mM foi adicionado imediatamente antes da leitura realizada em espectrofotômetro de microplaca TECAN A-5082 a 405 nm durante 5 minutos a cada 30 segundos. Os resultados foram expressos em nmol.min⁻¹.mg proteína proteína⁻¹.

A atividade de Glutathione-S-Transferase – GST, foi medida pelo método proposto por Keen et. al., (1976), e seu princípio é a conjugação do CDNB (1-cloro-2,4- dinitrobenzeno) com a GSH (glutathione reduzida) pela ação da GST, formando um tioéter que pode ser monitorado pelo aumento da absorbância a 340 nm. Na microplaca foi adicionado 20 μ L do sobrenadante, 180 μ L de solução reação composta por CDNB (1-cloro, 2,4 dinitrobenzeno) a 0,5mM e GSH a 6 mM adicionada imediatamente antes da leitura. A absorbância monitorada a 340 nm em espectrofotômetro TECAN A- 5082 durante 5 minutos a cada 30 segundos. Os resultados foram expressos em nmol. min⁻¹.mg proteína⁻¹.

A atividade α e β Esterase (Padrão utilizado para *Aedes aegypti* pelo Ministério da Saúde e Fundação Osvaldo Cruz, 2006), com modificações. Foram pipetados 10 μ L do sobrenadante após diluição 1:100 (v/v) e acrescentado 200 μ L alfa-naftil acetato/Na fosfato e mantido em repouso em temperatura ambiente por 15

minutos, após foi adicionado 50 μL de Fast Blue e após cinco minutos procedeu-se a leitura a 570 nm em espectrofotômetro TECAN A- 508. O branco foi elaborado somente com água, e ao controle positivo foram adicionados 10 μl de solução de alfa-naftol a 0,5 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ ($\sim 3,5$ nmoles/ μL) para cada um (total: 5 μg ou ~ 35 nmoles). Para β -esterase o mesmo protocolo foi utilizado os reagentes β -naftil acetato/Na fosfato e o controle positivo β -naftol. Os resultados foram expressos em $\text{nmol. min}^{-1}.\text{mg}$ proteína $^{-1}$.

3.6 RESULTADOS

3.6.1 IMPACTO CULTURAL E FITOSSANITÁRIO SOBRE O MANEJO DOS POMARES

A análise dos Componentes de vinte e oito pomares é apresentada na Tabela 2. Três pomares se enquadram em Manejo Integrado de Pragas (MIP), dezessete pomares em Boas Práticas Agrícolas (BPA), sete como Manejo Convencional (MC) e um como Manejo Inadequado (MI). O Pomar de referência teve Coeficiente de Alteração calculado superior aos demais.

O monitoramento da *G. molesta* e *A. fraterculus* ocorreram nos três ciclos reprodutivos para pomares de MIP e BPA, enquanto que 50% para pomares de MC e MI. A técnica de confusão sexual foi realizada em 60% dos pomares de MIP e BPA, enquanto os pomares em MC e MI não utilizaram. O controle biológico sem pulverização de acaricida foi verificado em 58% dos pomares MIP e BPA, 24% a mais do que nos pomares MC e MI. No primeiro ciclo, não foram realizadas pulverizações para controle do ácaro vermelho em 45% dos pomares de MIP e BPA passando para 65% nos dois últimos ciclos, enquanto que o controle exclusivamente com ácaro *Fitosseideo* não passou dos 37% nos pomares de MC. A frequência de pulverização de herbicidas ocorreu em torno de 15% a menos nos pomares MIP e BPA.

A pulverização de isca tóxica para controle de *A. fraterculus* ocorreu em 76% dos pomares de MIP e BPA, enquanto que apenas 30% dos pomares de MC e MI utilizaram a técnica com base no monitoramento da praga. Proporções parecidas ocorrem para a eliminação de frutos na pós-colheita, sendo que a eliminação total ocorreu em 75% dos pomares de MIP e BPA e apenas em 39% nos pomares

Tabela 2. Análise de 12 componentes culturais e fitossanitários em vinte e nove pomares de macieira do Sul do Brasil, avaliados em três ciclos produtivos entre 2012 e 2015.

Ciclo	Componentes	Coeficientes de Alteração																													
		Pomares																													
		P1 ¹	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8	P9	P10	P11	P12	P13	P14	P15	P16	P17	P18	P19	P20	P21	P22	P23	P24	P25	P26	P27	P28	P29 ²	
2012/13	Monitoramento	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	-1	
	Confusão sexual	n	-1	3	3	3	3	-3	3	3	3	3	3	3	3	-3	-3	-3	-3	3	3	3	-3	-3	-3	-3	-3	-3	-3	-3	
	Controle Biológico de ácaro	3	3	1	3	1	3	3	3	3	-3	1	1	3	1	3	3	3	3	-3	1	3	-3	3	-3	-3	3	1	3	-1	
	Herbicida	n	3	1	3	1	-1	-1	-1	3	1	3	-3	-1	1	1	3	-3	-1	1	1	-1	-3	-3	-1	3	-1	3	-1	-1	
	Inseticida	n	1	-3	-1	-1	1	-1	-1	-1	-1	-1	-3	3	1	1	-3	-1	-1	-3	-1	-3	-1	3	-3	-3	-1	-1	-3	-1	-3
	Relação de Inseticida Isca Tóxica	n	-3	3	1	3	-1	1	1	-1	1	1	1	-3	-3	1	-1	-1	3	3	-1	3	-1	1	1	-1	1	3	-1	1	
	Eliminação de frutos	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	-1	
	Idade do pomar	1	1	-1	1	-3	-3	-1	1	-1	-3	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-3	-1	-1	-3	-3	-3	-1	1	3	3	-3	-3	-3	
	Cultivares no pomar	1	1	-1	-1	3	3	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-3	-3	1	3	3	3	-1	3	3	3	3	-1	-1	-1	-1	1	-1	
	Flutuação de G. molesta	n	3	3	3	3	3	-1	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	-1	1	3	-3	1	1	-3	-3	-3	-3	3	-3	
	Gestão de informações	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
	Coeficientes Alteração	29,1	20	18	24	18	18	12	18	14	16	16	12	16	12	6	6	6	4	4	2	4	2	4	2	-6	-2	-8	-10	-18	-15
2013/14	Monitoramento	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	-1	
	Confusão sexual	n	1	3	3	3	3	-1	3	3	3	3	3	3	3	3	-3	-3	-3	-3	3	-3	-3	-3	-3	-3	-3	-3	-3	-3	
	Controle Biológico de ácaro	3	3	3	3	1	3	3	3	-3	1	3	3	1	1	3	3	3	3	3	1	3	-3	3	-3	3	3	3	3	-1	-3
	Herbicida	n	3	1	1	-1	-1	-1	-1	3	1	1	1	-3	-1	1	3	-3	-3	-3	1	-3	-3	-3	-3	-1	1	-1	3	-3	n
	Inseticida	n	1	-3	1	-1	1	-1	-3	1	-1	-1	-1	3	-1	3	3	1	1	-3	1	-3	-1	-3	-3	-3	-3	-3	-1	-3	n
	Relação de Inseticida Isca Tóxica	n	-1	3	-1	3	-1	3	-1	3	-1	1	1	-3	-1	3	3	-3	-3	3	-3	3	-1	-3	1	-1	3	1	-1	-1	n
	Eliminação de frutos	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	-1	-3
	Idade do pomar	1	-1	-1	-3	-3	-3	-1	-3	-1	-3	-3	-1	-1	-1	-3	-3	-3	-3	-3	-3	-3	-3	-3	1	3	3	-1	-3	-3	
	Cultivares no pomar	1	1	-1	-1	3	3	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-3	-3	1	3	3	3	-1	3	3	3	3	-1	-1	-1	-1	1	-1	1
	Flutuação de G. molesta	n	3	3	3	3	3	-1	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	-1	1	3	-3	1	1	-3	-3	-3	-3	3	-3	
	Gestão de informações	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
	Coeficientes Alteração	29,1	22	20	20	16	18	18	12	18	14	16	18	14	12	12	12	10	2	0	4	2	4	-2	-2	-8	-6	0	-10	-18	-21
2014/15	Monitoramento	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	-1	
	Confusão sexual	n	3	3	3	3	3	1	3	3	3	3	3	3	3	3	-3	-3	-3	-3	3	-3	-3	-3	-3	-3	-3	-3	-3	-3	
	Controle Biológico de ácaro	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	1	1	3	1	1	3	3	1	3	1	1	-3	3	3	1	3	1	1	-1	-3
	Herbicida	n	3	3	-1	3	-1	-1	-1	3	1	-1	-1	-1	-1	1	3	-3	-3	-3	1	-3	3	-3	-3	-1	3	-1	3	1	n
	Inseticida	n	1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	3	1	1	1	1	1	1	-3	-1	-3	-1	-3	-3	-3	-3	-1	3	-1	n
	Relação de Inseticida Isca Tóxica	n	-3	3	1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-3	-3	-3	-1	3	-3	3	-1	-3	1	-1	1	-1	-1	n	
	Eliminação de frutos	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	-1	-3
	Idade do pomar	1	-1	-1	-3	-3	-3	-1	-3	-1	-3	-3	-1	-1	-1	-3	-3	-3	-3	-3	-3	-3	-3	-3	-3	-1	3	-1	-3	-3	
	Cultivares no pomar	1	1	-1	-1	3	3	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-3	-3	1	3	3	3	-1	3	3	3	3	-1	-1	-1	-1	1	-1	1
	Flutuação de G. molesta	n	3	3	3	3	3	-1	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	-1	1	3	-3	1	-1	-3	-3	-3	-3	3	-3
	Gestão de informações	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
	Coeficientes Alteração	29,1	22	24	18	18	16	18	14	14	14	16	18	14	12	12	10	6	6	6	4	4	-2	-2	-8	-6	0	-10	-18	-21	
Monitoramento	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	-1	
Confusão sexual	n	3	3	3	3	3	3	1	3	3	3	3	3	3	3	3	-3	-3	-3	-3	3	-3	-3	-3	-3	-3	-3	-3	-3	-3	
Controle Biológico de ácaro	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	1	1	3	1	1	3	3	1	3	1	1	-3	3	3	1	3	1	1	-1	-3
Herbicida	n	3	3	-1	3	-1	-1	-1	3	1	-1	-1	-1	-1	1	3	-3	-3	-3	1	-3	3	-3	-3	-1	3	-1	3	1	n	
Inseticida	n	1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	3	1	1	1	1	1	-3	-1	-3	-1	-3	-3	-3	-3	-1	3	-1	n	
Relação de Inseticida Isca Tóxica	n	-3	3	1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-3	-3	-3	-1	3	-3	3	-1	-3	1	-1	1	-1	-1	n		
Eliminação de frutos	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	-1	-3
Idade do pomar	1	-1	-1	-3	-3	-3	-1	-3	-1	-3	-3	-1	-1	-1	-3	-3	-3	-3	-3	-3	-3	-3	-3	-3	-1	3	-1	-3	-3	-3	
Cultivares no pomar	1	1	-1	-1	3	3	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-3	-3	1	3	3	3	-1	3	3	3	3	3	-1	-1	-1	1	-1	1	
Flutuação de G. molesta	n	3	3	3	3	3	-1	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	-1	1	3	-3	1	-1	-3	-3	-3	-3	3	-3	
Gestão de informações	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	
Coeficientes Alteração	29,1	22	24	18	18	16	18	14	14	14	16	18	14	12	12	10	6	6	6	4	4	-2	-2	-8	-6	0	-10	-18	-21		
Monitoramento	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	-1	
Confusão sexual	n	3	3	3	3	3	3	1	3	3	3	3	3	3	3	3	-3	-3	-3	-3	3	-3	-3	-3	-3	-3	-3	-3	-3	-3	
Controle Biológico de ácaro	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	1	1	3	1	1	3	3	1	3	1	1	-3	3	3	1	3	1	1	-1	-3
Herbicida	n	3	3	-1	3	-1	-1	-1	3	1	-1	-1	-1	-1	1	3	-3	-3	-3	1	-3	3	-3	-3	-1	3	-1	3	1	n	
Inseticida	n	1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	3	1	1	1	1	1	-3	-1	-3	-1	-3	-3	-3	-3	-1	3	-1	n	
Relação de Inseticida Isca Tóxica	n	-3	3	1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-3	-3	-3	-1	3	-3	3	-1	-3	1	-1	1	-1	-1	n		
Eliminação de frutos	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	-1	-3
Idade do pomar	1	-1	-1	-3	-3	-3	-1	-3	-1	-3	-3	-1	-1	-1	-3	-3	-3	-3	-3	-3	-3	-3	-3	-3	-1	3	-1	-3	-3	-3	
Cultivares no pomar	1	1	-1	-1	3	3	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-3	-3	1	3	3	3	-1	3	3	3	3	3	-1	-1	-1	1	-1	1	
Flutuação de G. molesta	n	3	3	3	3	3	-1	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	-1	1	3	-3	1	-1	-3	-3	-3	-3	3	-3	
Gestão de informações	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	
Coeficientes Alteração	29,1	22																													

de MC e MI. A idade do pomar foi o Componente que mais influenciou negativamente a média dos pomares, sendo que 84% dos plantios de macieira têm mais de 10 anos. Para o componente cultivares nos pomares, 60% tem a distribuição de 2 cultivares comerciais, sendo a polinizadora colhida após a principal.

O menor número de pulverizações de inseticidas foi observado em pomares que utilizaram confusão sexual por três anos consecutivos, apenas 12% pulverizaram mais de 13 vezes no mesmo ciclo, enquanto que para os demais foram 45%, sendo apresentada na Tabela 3 a relação dos produtos utilizados. O valor que expressa a rotatividade dos ingredientes ativos foi similar entre os pomares com ou sem confusão sexual; o uso de quatro grupos químicos por ciclo reprodutivo em pomares com confusão sexual foi em torno de 16%, sendo que em torno de 67% usou inseticidas de dois ou três grupos químicos.

A captura média de *G. molesta* no 10º dia após pulverização abaixo de 5 indivíduos foi observada em 96% dos pomares que utilizaram confusão sexual, enquanto que 11,7% em pomares que não utilizaram.

3.6.2 BIOENSAIO TOXICOLÓGICO

As populações de *G. molesta* B6, B7, B16, B17 e C27 foram significativamente menos suscetíveis do que a referência positiva (R1) quando expostas ao clorpirifós. A população B5 se mostrou significativamente mais suscetível que B6, B7, B16, B17 e C27. A referência R3 tem uma relação maior que 74% com as populações B6 e C27. Para a CL₉₅ apenas a C27 apresentou menor suscetibilidade ao clorpirifós que a R1 (Tabela 4). As populações B5 e B7 foram significativamente mais suscetíveis do que a (R1) quando expostas a fenitrotiona. A R3 tem uma relação maior que 72% com as populações B6, B16, B17 e C27 sendo estatisticamente iguais. Para a CL₉₅ a população B5 apresentou-se significativamente mais suscetível a R1 quando exposta a fenitrotiona e as populações B19, I28, B6, B16, C27 e B17 tiveram uma relação superior a 50% com R3 (Tabela 4).

As populações C27 e B17 foram significativamente menos suscetíveis que R1 quando expostas ao clorantroliprole. As populações B7 e B19 foram significativamente mais suscetíveis que C27 e B17 qual apresentaram ^aTCL superior a 50%. A C27 e B17 tiveram uma relação de 20% superior com R2 (Tabela 4).

Tabela 3. Número de ingredientes ativos por grupos químicos pulverizados em pomares de macieira do Sul do Brasil, em três ciclos reprodutivos e um ciclo entre 2012-2015. Nomenclatura dos pomares de acordo com classificação fitossanitária.

Grupo químico	Pomares ordenados de acordo com classificação fitossanitária / Número ingredientes ativos (IA) em um ciclo reprodutivo (I) ou três ciclos (III)																												
	ORG ¹	M1	M2	M3	B4	B5	B6	B7	B8	B9	B10	B11	B12	B13	B14	B15	B16	B17	B18	B19	B20	C21	C22	C23	C24	C25	C26	C27	I28
	III	III	III	III	III	III	III	III	III	III	III	I	III	III	III	III	III	III	III	III	III	III	I	I	III	III	I	III	n ²
Organofosforado	0	23	18	23	20	23	20	31	23	17	24	4	28	21	18	23	15	44	24	35	30	8	20	13	17	22	10	38	
Antranilamida	0		4	5	8		1		1						3		4	9		4			3	1	3	6		2	
Benzoiluréia	0		5	3	3	3	2	2	5	1	5				9	2	5	2	1	4		1	1		3	3	1	2	
Neonicotinóide	0		12		2		3	1		2	3	1	2		1	2		1		5					2			1	
Biológico	0	1	2		1															2	4								
Éter difenílico	0						4				1									3									
Piretróide	0												1					1								1		3	
Fosforado + Piretroide	0																											3	
Média IA	0	8,0	13,7	10,3	11,3	8,7	10,0	11,3	9,7	6,7	11,0	5,0	10,3	7,0	10,3	9,0	8,0	19,0	8,3	17,7	11,3	3,0	24,0	14,0	8,3	10,7	11,0	16,3	0,0

¹ pomar orgânico; ² não possui registros fitossanitários

Tabela 4. CL₅₀ e CL₉₅ de neonatas de *Grapholita molesta* exposta a quatro inseticidas.

População	LC ₅₀ µg/g	95%	^a TCL	^b TCL	LC ₉₅ µg/g	95%	^c TCL	^d TCL	Slope ±SE
Clorpirifós									
R1	20,60	(17,34-24,09)		0,35	80,19	(60,33-125,41)		0,29	2,78±0,35
R3	59,47	(50,40-73,93)*	2,89		271,98	(180,89-528,76)*	3,39		2,49±0,31
B5	22,97	(19,94-26,05)	1,12	0,39	65,48	(52,64-92,27)	0,82	0,24	3,61±0,46
B19	27,59	(16,81-40,70)	1,34	0,46	123,78	(69,23-836,07)	1,54	0,46	2,52±0,33
I28	29,62	(21,74-38,27)	1,44	0,50	100,38	(67,07-262,68)	1,25	0,37	3,10±0,40
B7	32,52	(27,15-37,84)*	1,58	0,55	81,42	(64,94-119,64)	1,02	0,30	4,12±0,51
B17	37,77	(30,05-46,63)*	1,83	0,64	114,12	(82,03-217,95)	1,42	0,42	3,42±0,41
B16	39,69	(33,43-47,99)*	1,93	0,67	150,22	(106,89-262,74)	1,87	0,55	2,84±0,31
B6	44,20	(38,23-50,39)*	2,15	0,74	113,88	(90,65-168,20)	1,42	0,42	4,00±0,59
C27	52,54	(45,35-62,91)*	2,55	0,88	212,42	(149,74-371,27)*	2,65	0,78	2,71±0,33
Fenitrotiona									
R1	46,50	(40,59-54,55)		0,77	190,78	(135,48-333,71)		0,61	2,68±0,34
R3	60,78	(51,03-74,81)	1,31		310,52	(211,04-558,38)	1,63		2,32±0,26
B5	25,01	(21,71-28,70)*	0,54	0,41	85,35	(67,93-117,48)*	0,45	0,27	3,08±0,30
B7	29,46	(25,34-34,57)*	0,63	0,48	113,34	(84,13-178,44)	0,59	0,37	2,81±0,32
B19	31,51	(23,00-43,47)	0,68	0,52	218,28	(122,55-692,39)	1,14	0,70	1,95±0,23
I28	37,35	(31,90-43,96)	0,80	0,61	169,84	(125,79-261,65)	0,89	0,55	2,50±0,25
B6	43,60	(36,51-52,83)	0,94	0,72	173,11	(124,56-287,54)	0,91	0,56	2,74±0,27
B16	44,47	(37,50-53,43)	0,96	0,73	166,42	(122,14-265,82)	0,87	0,54	2,87±0,28
C27	48,91	(42,72-56,39)	1,05	0,80	158,89	(124,38-225,72)	0,83	0,51	3,21±0,33
B17	50,20	(42,84-59,82)	1,08	0,83	225,73	(163,33-362,61)	1,18	0,73	2,51±0,26
Clorantraniliprole									
R1	10,67	(8,95-12,67)		0,80	49,54	(35,99-80,54)		0,84	2,46±0,28
R2	13,29	(10,72-16,23)	1,25		59,22	(42,68-98,38)	1,20		2,53±0,29
B7	9,58	(7,88-11,50)	0,90	0,72	51,35	(36,24-88,38)	1,04	0,87	2,25±0,27
B19	9,58	(7,74-11,69)	0,90	0,72	61,24	(41,06-117,06)	1,24	1,03	2,04±0,26
B5	10,73	(8,19-13,65)	1,01	0,81	63,79	(42,30-126,04)	1,29	1,08	2,12±0,23
B6	12,84	(10,95-15,01)	1,20	0,97	52,41	(40,37-75,35)	1,06	0,89	2,69±0,26
B16	13,03	(11,03-15,39)	1,22	0,98	56,72	(42,57-85,39)	1,14	0,96	2,57±0,26
I28	13,19	(10,47-16,04)	1,24	0,99	60,27	(44,42-96,34)	1,22	1,02	2,49±0,31
C27	16,02	(13,49-18,77)*	1,50	1,21	55,22	(42,99-80,01)	1,11	0,93	3,06±0,35
B17	16,82	(14,04-19,84)*	1,58	1,27	62,94	(47,99-94,85)	1,27	1,06	2,87±0,34
Lufenurom									
R1	4,62	(3,07-6,91)		0,37	181,69	(91,60-474,90)		0,24	1,03±0,10
R2	12,47	(7,10-20,90)*	2,70		742,62	(303,73-3071,72)	4,09		0,92±0,12
I28	5,72	(3,49-9,04)	1,24	0,46	305,85	(141,28-953,80)	1,68	0,41	0,95±0,10
B5	7,52	(4,44-12,78)	1,63	0,60	1.149,62	(496,07-7371,07)*	6,33	1,55	0,72±0,08
B7	12,35	(7,72-18,91)*	2,67	0,99	282,72	(145,64-772,34)	1,56	0,38	1,21±0,14
B16	14,57	(8,23-26,08)*	3,15	1,17	1.210,30	(410,40-7336,63)**	6,66	1,63	0,85±0,11
B17	16,56	(10,37-27,34)*	3,58	1,33	1.620,00	(620,60-6686,33)*	8,92	2,18	0,82±0,08
B6	17,07	(11,22-26,50)*	3,69	1,37	801,00	(362,73-2526,00)*	4,41	1,08	0,98±0,10
C27	20,80	(12,90-35,37)*	4,50	1,67	2.246,83	(811,38-10245,45)*	12,37	3,03	0,80±0,08
B19	22,42	(11,80-47,86)*	4,85	1,80	4.407,09	(1051,25-52427,54)*	24,26	5,93	0,71±0,10

* diferem a 95% e ** 90% de probabilidade em relação a referência positiva (R1); ^a - ^c Taxa de concentração letal em relação a referência positiva R1; ^b - ^d Taxa de concentração letal em relação as populações de referências negativa (R2) diamidas e (R3) organofosforados.

As populações B6, B7, B16, B17, B19, C27 foram significativamente menos suscetíveis que R1 quando expostas ao lufenuron. A I28, B5 não se diferenciaram da R1, mas apresentaram ^aTCL 24% e 63% maior. As populações B19 e C27 apresentaram uma relação superior a 67% com R2. Para a CL₉₅ as populações B5, B6, B17, B19 e C27 foram menos suscetíveis que a R1, e todas as populações tiveram ^cTCL maior que 56% (Tabela 4).

3.6.3 ATIVIDADE ENZIMÁTICA

A atividade enzimática de GST da população B7, B16 e B17 foram as maiores entre as testadas. Elas foram significativamente maiores que a R1, com atividade superior a 45% ($F = 6.17$, $df = 10$, $P < 0.0001$) (Figura 1).

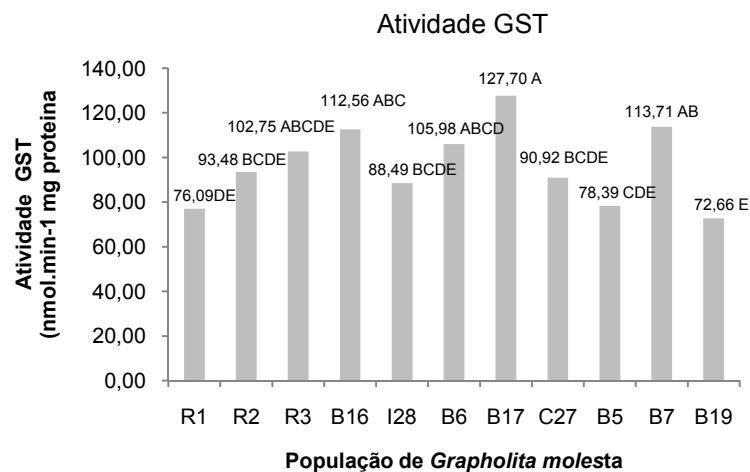


Figura 1. Atividade Enzimática da Glutathione-S-Transferase – GST expressa em $\text{nmol. min}^{-1} \cdot \text{mg proteína}^{-1}$ em populações de *Grapholita molesta* coletadas em pomares de macieira no Sul do Brasil. Médias seguidas por letras iguais não diferem entre si de acordo com o teste de Tukey 5%.

A atividade enzimática de AchE das populações não apresentou diferença estatística entre a R1. As populações B6, B16 e I28 tiveram significativamente menor atividade enzimática que a população B19, diferença superior a 68% ($F = 4.46$, $df = 10$, $P < 0.0001$) (Figura 2).

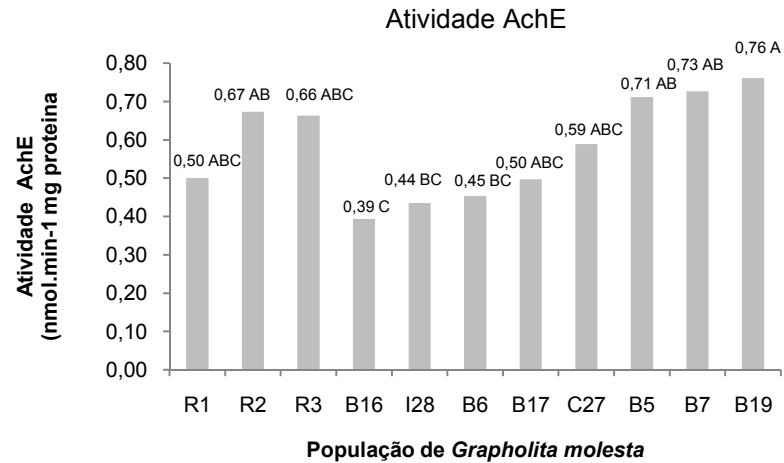


Figura 2. Atividade Enzimática da acetilcolinesterase – AchE expressa em $\text{nmol. min}^{-1}.\text{mg proteína}^{-1}$ em populações de *Grapholita molesta* coletadas em pomares de macieira no Sul do Brasil. Médias seguidas por letras iguais não diferem entre si de acordo com o teste de Tukey 5%.

A maior atividade enzimática de α e β esterase ocorreu na população B19. Para a α -esterase ela foi 86% maior que a R1 ($F = 12.45$, $df = 10$, $P < 0.0001$) (Figura 3) e para β -esterase 120% ($F = 13.73$, $df = 10$, $P < 0.0001$) (Figura 4).

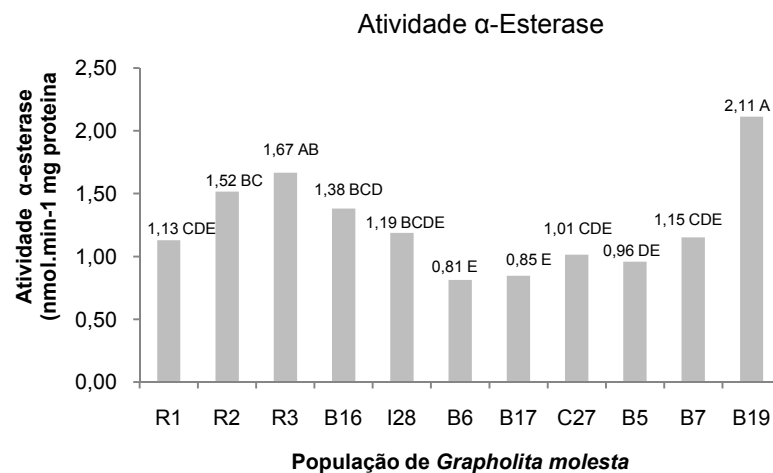


Figura 3. Atividade Enzimática da α -Esterase expressa em $\text{nmol. min}^{-1}.\text{mg proteína}^{-1}$ em populações de *Grapholita molesta* coletadas em pomares de macieira no Sul do Brasil. Médias seguidas por letras iguais não diferem entre si de acordo com o teste de Tukey 5%.

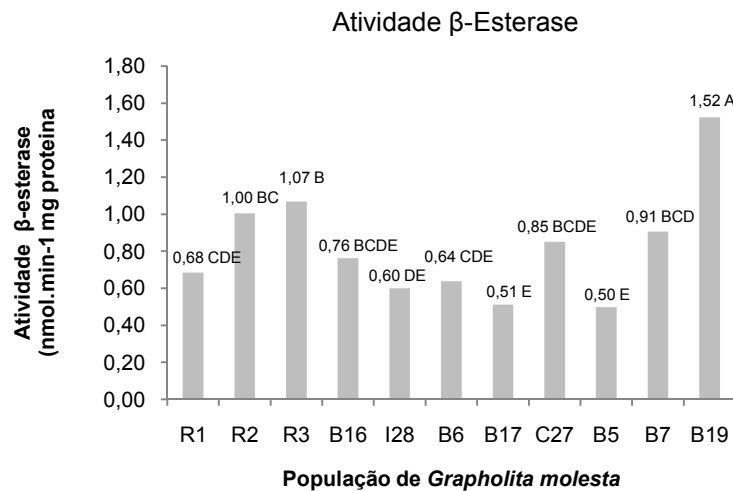


Figura 4. Atividade Enzimática da β -Esterase expressa em $\text{nmol. min}^{-1} \cdot \text{mg prote\u00edna}^{-1}$ em popula\u00e7\u00f5es de *Grapholita molesta* coletadas em pomares de macieira no Sul do Brasil. M\u00e9dias seguidas por letras iguais n\u00e3o diferem entre si de acordo com o teste de Tukey 5%.

3.7 DISCUSS\u00c3O

A frequ\u00eancia de pulveriza\u00e7\u00f5es de pesticidas, o aumento na dosagem do produto, o uso de misturas indevidas e a substitui\u00e7\u00e3o por outro produto mais t\u00f3xico est\u00e3o dentre as consequ\u00eancias mais dr\u00e1sticas da evolu\u00e7\u00e3o da resist\u00eancia (GEORGHIOU, 1983). Nos pomares de macieira do Sul do Brasil, caracterizados culturalmente e fitossanitariamente, a\u00e7\u00f5es para evitar a resist\u00eancia n\u00e3o s\u00e3o realizadas conforme deveriam, sendo observado que alguns pomares realizam pulveriza\u00e7\u00f5es com apenas um grupo qu\u00edmico em um mesmo ciclo, sendo mais frequente a pulveriza\u00e7\u00e3o com os organofosforados (Tabela 3), podendo estar ligado diretamente a resist\u00eancia.

Componentes culturais e fitossanit\u00e1rios como monitoramento, confus\u00e3o sexual, controle biol\u00f3gico de \u00e1caro, frequ\u00eancia e rotatividade de inseticida e flutua\u00e7\u00e3o de *G. molesta* t\u00eam maior liga\u00e7\u00e3o com a resist\u00eancia de pragas, a dificuldade \u00e9 mensur\u00e1-las. A defini\u00e7\u00e3o destes pode influenciar a caracteriza\u00e7\u00e3o dos pomares de acordo com a sua efici\u00eancia tecnol\u00f3gica e a sua rela\u00e7\u00e3o com a resist\u00eancia da *G. molesta*. A idade do pomar influenciou negativamente a caracteriza\u00e7\u00e3o, foi o principal componente que diferenciou os pomares de MIP em rela\u00e7\u00e3o a alguns de BPA, sendo que B4, B5 e B6 n\u00e3o se caracterizaram em MIP por serem mais velhos apresentando Coeficiente de Altera\u00e7\u00e3o (-3), enquanto que os de MIP apresentaram

(-1). Para os pomares de BPA, não teve um Componente pontual que os diferenciou em relação aos de MC, mais no geral estes usaram da melhor maneira as tecnologias disponíveis, enquanto que para MC, estas foram usadas de forma mais esporádica ou até mesmo ausente durante os ciclos, caso da confusão sexual. O pomar de MI ficou caracterizado por não registrar suas informações fitossanitárias, e realizar suas atividades sem critério técnico.

Algumas comparações podem ser realizadas entre os pomares de MIP e BPA, sendo que estes realizaram de forma mais eficiente as práticas culturais e fitossanitárias em relação aos de MC e MI, o uso conjunto dos componentes positivos pode influenciar positivamente a inibição da resistência nos insetos. Foram em pomares de MIP e BPA que se observou a menor frequência de pulverizações de herbicidas, o que pode ter proporcionado maior controle biológico do ácaro vermelho pelo *Fitoseideo* e redução nas pulverizações de acaricidas, visto que, o manejo de ervas promove maior equilíbrio do pomar e manutenção de inimigos naturais (ALTIERI e LIEBMAN 1986; MONTEIRO 2002b).

O uso da confusão sexual foi observado apenas em pomares caracterizados sendo MIP e BPA, componente que pode ter proporcionado redução no número de pulverizações de inseticidas, visto que estes tenderam a realizar menos que 13 por ciclo. Vilela e Lucia (2001) relataram que a técnica consiste em saturar o ambiente dos pomares com feromônio, impossibilitando o macho de encontrar a fêmea impedindo o acasalamento, o que pode ter contribuído para a redução do número de pulverizações e Monteiro et al., (2008) estudando os benefícios do uso mencionou que pode promover redução das pulverizações, confirmando o seu benefício.

Apesar da redução de pulverização não ser a ideal, sendo que nos pomares com uso da confusão sexual no Estado do Paraná é entre quatro e cinco pulverizações, Santa Catarina seis e sete e Rio Grande do Sul oito e nove, alguns casos de maior número de pulverizações podem ser justificados em função do controle da Bonagota. Monteiro et al., (2008) relatou o uso de três pulverizações no controle da praga no ciclo reprodutivo em Fraiburgo. Na tabela 3 é observado que pomares que utilizam a confusão sexual (M2, M3 e B4, ambos localizados nas regiões com maior incidência de bonagota) ainda pulverizam muito com inseticida Biológicos, Benzolureias e Antranilamida, comumente utilizados no controle de grapholita e bonagota (BOTTON et al., 2005; PASTORI et al., 2012), sendo que a

pulverização para *G. molesta* em pomares com uso da confusão sexual se justifica apenas no momento da sua instalação e nos pomares de cultivo de 'Fuji' uma segunda no término do efeito do feromônio, caso atingir nível de controle.

A rotatividade de grupos químicos de inseticidas aparentemente foi maior para pomares com uso da confusão sexual, visto que o tratamento foi realizado para duas pragas e os demais para as três; mosca-das-frutas, grafolita e lagarta enroladeira.

Seis das populações analisadas nos testes toxicológicos e enzimáticos foram caracterizadas BPA e formaram dois grupos dentro a caracterização, três (B5, B6 e B7) com melhores médias de eficiência tecnológica e três (B16, B17 e B19) com as piores, mais próximos ao MC, o uso da confusão sexual foi o principal Componente que os diferenciou, o qual pode ter repercutido no manejo, apresentando redução no uso de inseticida e baixa flutuação populacional da *G. molesta* e repercutido no controle do ácaro *Neoseiulus californicus* exclusivamente biológico devido ao menor impacto causado pelas pulverizações e melhor manejo de herbicidas.

As populações B5 e B6 em que os pomares fizeram uso de confusão sexual e as C27 e I28 que não fizeram, não apresentaram diferença estatística nas atividades enzimáticas em relação a R1. A população B6 teve menor suscetibilidade nos bioensaios, a qual apresentou valores positivos para rotatividade de grupos químicos e uma frequência de pulverização relativamente baixa quando comparado a outras populações testadas, tendo seu manejo de pomar muito próximo da B5 (Tabela 3). Jones et al. (2011) diz que nem sempre a sobrevivência em bioensaios está diretamente relacionada com provas de resistência, podendo ser o caso desta população, tendo que ela tem baixa média de captura no 10º dia após pulverização e menor frequência de pulverizações em relação a outras testadas como a B17 e C27. Nas populações B5 e I28 não ocorreram alteração nos bioensaios toxicológicos e análises enzimáticas em relação a R1, apesar da população B5 ter apresentado valores negativos para rotatividade de grupos químicos, provavelmente pelo uso exclusivo de organofosforados para controle da *A. fraterculus* e I28 ter se caracterizado pelo MI. A população I28 proporcionou uma peculiaridade, o pomar que da origem a ela não realizou atividades agrícolas nos ciclos 2011-12 / 2012-13 e mesmo mantendo um manejo inadequado nos dois últimos ciclos e provavelmente no período anterior ao intervalo pelo fato de não possuir registros, não ocorreu

alterações toxicológicas e enzimáticas em relação a R1, podendo indicar baixa capacidade de seleção da praga, sendo que insetos resistentes apresentam um custo adaptativo, tornando-os menos aptos que os indivíduos suscetíveis (ROUSH e MCKENZIE, 1987).

A população C27 apresentou as maiores alterações nos bioensaio em relação a R1, porém suas atividades enzimáticas não foram alteradas significativamente, apesar de terem sido 18% superiores para AchE, GST e β esterase. O pomar é o mais antigo do estudo, historicamente tem elevada frequência de pulverizações o que pode explicar a menor suscetibilidade nos bioensaios (SIEGWART et al., 2011), mas não ao clorantraniliprole, um ingrediente ativo recentemente lançado no mercado brasileiro, abrindo assim novas áreas de estudo em relação ao ingrediente.

As alterações da GST foram significativas para a população B7, podendo estar ligada ao uso de organofosforados e também a outros grupos químicos (RODRIGUEZ et al., 2010). Neste caso, pode ter relação ao manejo fitossanitário adotado pelo pomar, com baixa rotatividade de grupo químicos e alta frequência de pulverização dos organofosforados nos três ciclos (Tabela 3), o que é confirmado pela menor suscetibilidade no bioensaio toxicológico de clorpirifós.

As populações B16 e B17 apresentaram alterações na enzima de GST, estando de acordo com os resultados encontrados nos bioensaios do clorpirifós. A população B16 teve 1/3 do uso de organofosforados que a B17, o que não resultou em diferença nos resultados enzimáticos e toxicológicos entre ambas, indicando que o uso exclusivo de uma única estratégia pode promover a seleção dos indivíduos mesmo em proporções diferentes de pulverizações e para interromper o processo pode ser incluído o uso de estratégias alternativas (KOVANCI e WALGENBACH, 2005), como a confusão sexual. A eficiência do uso da técnica pode ser averiguada quando comparada a população B16 com a B5, que recebeu a mesma frequência de pulverização e menor rotatividade de grupos químicos e não sofreu alterações em relação a R1, já a B17 apresentou menor suscetibilidade ao clorantraniliprole, correspondendo ao número de pulverizações do ingrediente ativo, sendo ela pertencente ao pomar que mais realizou.

Os resultados toxicológicos do lufenuron para a população B19 foram corroborados pelos enzimáticos os quais apresentaram alterações para α e β esterase, esta tem histórico fitossanitário com elevada frequência de

organofosforados e reguladores de crescimento, mas nos últimos ciclos reprodutivos foi a que recebeu a maior rotatividade de grupos químicos o que pode ter promovido as menores alterações nos Bioensaio e nas atividades enzimáticas ligada aos organofosforados mais não para os reguladores de crescimento, podendo indicar que esta rotatividade proporcionou efeito nas mesmas enzimas que os reguladores ou o período de redução do uso do grupo químico ainda não foi suficiente para diminuir as atividades enzimáticas α e β esterase.

Apesar de alterações nos resultados dos bioensaios em populações nos quais os pomares fizeram uso da confusão sexual quando comparadas a R1, as médias de captura no 10º dia após pulverização foram menores, mostrando que métodos alternativos para o controle de pragas pode reduzir o processo de seleção de indivíduos (KOVANCI e WALGENBACH, 2005), enquanto que os pomares que não utilizaram tiveram mais frequência de pulverizações sem conseguir o controle eficaz da praga.

O uso de componentes foi capaz de ranquear os pomares conforme a sua eficiência tecnológica, mas alguns podem ter influenciado a classificação em quatro níveis. Para uma melhor classificação deve ser repensada a inclusão do Componente idade de pomar, visto que ele influenciou a classificação dos pomares B4, B5 e B6 para MIP. De acordo com as análises enzimáticas é notado que a população B5 e B6 diferenciam-se das B7, B16, B17 e B19 o que as coloca como mais suscetíveis e poderiam ser caracterizadas em MIP e quando comparado o Componente flutuação de *G. molesta* após tratamento é observado que ambas apresentam baixa persistência, colaborando com a ideia anterior. Dentre os 12 Componentes propostos na caracterização cultural e fitossanitária o uso da confusão sexual, frequência de inseticida associadas aos grupos químicos mais utilizados pelos pomares e a flutuação de *G. molesta* após tratamento podem ser citados como os principais, quais podem expressar a real situação da resistência da praga e tendem aos resultados obtidos nos Bioensaios e análise enzimática. Por mais que exista uma diferença na relação direta dos demais componentes com a resistência, estes não podem ser desconsiderados, visto que pomares mais suscetíveis nos teste como (B5) realizam da melhor maneira as estratégias propostas nos doze Componentes quando comparado com os piores (C27).

CONCLUSÃO

- 1- Componente idade do pomar influenciou negativamente a caracterização de pomares em quatro níveis de eficiência tecnológica.
- 2- Pomares que utilizaram a técnica de confusão sexual apresentaram redução na média da captura da *Grapholita molesta*.
- 3- Ocorreu menor número de pulverizações a cima de treze por ciclo em pomares que utilizaram a técnica da confusão sexual.
- 4- As populações mostraram-se menos suscetíveis ao clorpirifós e lufenuron quando relacionada ao manejo dos pomares.
- 5- O pomar B5 apresentou o melhor manejo cultural e fitossanitário entre os oito testados e sua população a mais suscetível.

REFERÊNCIAS

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.

ARIOLI, C. J. **Técnica de criação e controle de *Grapholita molesta* (Busck, 1916) (Lepidoptera: Tortricidae) na cultura da macieira**. Pelotas, 2007. 100 f. Tese (Doutorado em Entomologia) – Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

BAILLOD, M.; SCHLAEPFER, R. Simplification des contrôles par l'utilisation de l'échantillonnage systématique pour l'acarien rouge (viticulture et arboriculture). **Def. V, g.**, 214: 1-15, 1982.

BENTO, M. J. Controle de insetos por comportamento: Feromônios. In: GUEDES, J. C.; COSTA, I. D.; CASTIGLIONI, E. Bases e técnicas do manejo de insetos. Santa Maria: **Editora Pallotti**, p. 85-98, 2000.

BONETI, J.I.S; KATSURAYAMA, Y.; BLEICHER, J. Doenças da macieira. In: EPAGRI. **A cultura da macieira**. Florianópolis: Epagri, 2002. p.527-608.

BOTTON, M.; NAKANO, O.; KOVALESKI, A. Controle químico da lagarta-enroladeira *Bonagota cranaodes* (Meyrick) na cultura da macieira. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 35, n. 11, p. 139- 2144, 2000a.

BOTTON, M.; NAKANO, O.; KOVALESKI, A. Efeito do raleio de frutos sobre o dano de *Bonagota cranaodes* (Meyrick, 1937) (Lepidoptera: Tortricidae) em cultivares de macieira. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 30, n. 4, p. 717-719, 2000b.

BOTTON, M.; SCOZ, P. L.; GARCIA, M. S.; COLLETTA, V. D. Novas alternativas para o monitoramento e controle de *Anastrepha fraterculus* (Wiedemann, 1830) (Diptera: Tephritidae) em fruteiras temperadas. In: **Encontro nacional sobre fruticultura de clima temperado**, 6., 2003, Fraiburgo. Anais... Caçador: EPAGRI. p. 163-172, 2003.

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.; ARIOLI, C. J.; RINGENBERG, R.; MORANDI-FILHO, W. J. Controle químico de *Bonagota salubricola* (Meyrick, 1937) (Lepidoptera: Tortricidae) em laboratório e pomar de macieira. **Arquivo Instituto Biológico**, São Paulo, v. 76, n. 2, p. 225-231, 2009.

Brasil. Ministério da Saúde. 2006. **Metodologia para quantificação de atividade de enzimas relacionadas a resistência a inseticidas em *Aedes aegypti***. 1 ed. Brasília.

CALKINS, C. O.; MALAVASI, A. Biology and control of fruit flies (*Anastrepha*) in Tropical and temperate fruit. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Cruz das Almas, v.17, p.36-45, 1995.

CAMPOS, J. V.; GARCIA, F. R. M. Avaliação de atrativos na captura de adultos de *Grapholita molesta* (Busck, 1916) (Lepidoptera: Olethreutidae). **Revista Faculdade Zootecnia, Veterinária e Agronomia**. v.7, n.1, p. 13-18, 2000.

ELLMAN, G. L.; COUTNEY, K. O.; ANDRES, V.; FEATHERSTONE, R. M. A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. **Biochemical Pharmacology**, 7: 88- 95, 1961.

GEORGHIOU, G. P.; TAYLOR, C. E. Genetic and biological influences in the evolution of insecticide resistance. **J. Econ. Entomol.** 70: 319-323, 1977a.

GEORGHIOU, G. P.; TAYLOR, C. E. Operational influences in the evolution of insecticide resistance. **J. Econ. Entomol.** 70: 653-658, 1977b.

GEORGHIOU, G. P. Management of resistance in arthropods. In: Georghiou, G. P. e Saito, T. (eds.), **Pest resistance to pesticides**. Plenum, New York, p. 769-792, 1983.

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**, Londrina, v.28, n.2, p.301-306, 1999.

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. **Agron.** 1,59-64, 1981.

HÄRTER, W. R.; GRÜTZMACHER, A. D.; NAVA, D. E.; GONÇALVES, R. DA S.; BOTTON, M. Isca tóxica e interrupção sexual no controle da mosca-das-frutas sulamericana e da mariposa-oriental em pessegueiro. **Pesq. Agrop. Bras.** 45:229-235, 2010.

HAUAGGE, R.; TSUNETTA, M. IAPAR 75 - 'Eva', IAPAR 76 - 'Anabela' e IAPAR 77 - 'Carícia' - Novas cultivares de macieira com baixa necessidade em frio. **Revista Brasileira de Fruticultura**. Jaboticabal, v.21, n.3, p.239-242, 1999.

HICKEL, E. R.; DUCROQUET, J. H. J. Monitoramento e controle da grafolita ou mariposa oriental no Alto Vale do Rio do Peixe. **Agropecuária Catarinense**. Florianópolis, 11: 8- 11, 1998.

HICKEL, E. Pragas das frutíferas de clima temperado no Brasil. **1 ed. Florianópolis**. Epagri: 170p, 2008.

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. **J. Econ. Entomol.** 104, p.1031-1037, 2011.

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.

KOGAN, M. Integrated pest management: historical perspectives and contemporary developments. **Annual Review of Entomology**, v. 43, p. 243-270, 1998.

KOVALESKI, A.; SUGAYAMA, R. L.; MALAVASI, A.; MALAVASI, A.; ZUCCHI, R. Controle químico em macieiras. Moscas-das-frutas de importância econômica no Brasil: conhecimento básico e aplicado. Ribeirão Preto: **Holos**, 135-141, 2000.

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

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

KOVALESKI, A. Pragas. In: Kovaleski, A. (Ed.). **Maçã: fitossanidade**. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, p. 10-33. (Frutas do Brasil, 38), 2004.

KOVANCI, O.; WALGENBACH, J. Monitoring the Oriental fruit moth with pheromone and bait traps in apple orchards under different management regimes. *Int. J. Pest Manag.* 24, 273- 279, 2005.

LORENZATO, D. Eficiência de frascos e atrativos no monitoramento e combate de mosca-das-frutas do gênero *Anastrepha* e *Ceratitis capitata*. **Agronomia Sulriograndense**, Porto Alegre, v. 20, n 2, p. 45-62, 1984.

LORINI, I. **Grãos armazenados resistência de pragas a inseticidas químicos**”. Comunicado técnico online. n. 45. 1999. Disponível em: <http://www.cnpt.embrapa.br/biblio/p_co45.htm> Acesso em 05 jun. 2016.

MAGNABOSCO, A. L. **Influência de fatores físicos e químicos de maçãs, c.v. Gala, no ataque e desenvolvimento larval de *Anastrepha fraterculus* (Wied., 1830) (Diptera:Tephritidae)**. Pelotas, 1994. Dissertação (Mestrado em Fitossanidade), Faculdade de Agronomia, Universidade Federal de Pelotas. 95p, 1994.

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, p. 611-619, 1993.

MONTEIRO, L. B. Tolerância de uma população de ovos de inverno e de verão de *Panonychus ulmi* Koch ao ovicida clofentezine, no sudeste e no sudoeste da França. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Piracicaba, v. 23, p. 461-466, 1994.

MONTEIRO, L. B. Efeito de inseticida utilizados para o controle de mosca-das-frutas em pomares de macieira sobre *Neoseiulus californicus* (Acari: Phytoseiidae). **Scientia Agraria (UFPR)**, Curitiba, v. 2, n.1,2, p. 81-85, 2001.

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: parasitoides e predadores**. 1ed.Barueri - SP: Editora Manole Ltda., v. , p. 351-365, 2002a.

MONTEIRO, L. B. Efeito do manejo de ervas daninhas sobre *Neoseiulus californicus* (Acari: *Phytoseiidae*) em pomar de macieira. **Revista Brasileira de Fruticultura** (Impresso), Cruz das Almas, v. 24, n.3, p. 680-682, 2002b.

MONTEIRO, L. B. Manejo integrado de pragas em macieira no Rio Grande do Sul II. Uso de *N. californicus* para o controle de *P. ulmi*. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 24, n. 2, p. 395-405, 2002c.

MONTEIRO, L. B.; HICKEL, E. Pragas de importância econômica em fruteiras de caroço. In: Monteiro, L. B., May De Mio, L. L., Monte Serrat, B., Motta, A. C. V., e Cuquel, F. L.(Org.). **Fruteiras de caroço: Uma visão ecológica**. 1º ed. Curitiba: Reproset Indústria Gráfica, v. único, p. 223-262, 2004.

MONTEIRO, L. B.; SOUZA A.; BELLI L. Parasitism on *Eriosoma lanigerum* (Homoptera: Aphididae) by *Aphelinus mali* (Hymenoptera: Aphelinidae) on apple orchards, in Fraiburgo counry, State Santa Catarina. **Revista Brasileira de Fruticultura** (Impresso), Jaboticabal, v. 26, n.3, p. 550-551. 2004.

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**. Jaboticabal, v. 28, n.3, p. 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**, Jaboticabal, São Paulo, v. 29, n. 1, p. 072-074, abril, 2007.

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, 2007.

MONTEIRO, L. B.; SOUZA, A. DE.; BELLI. L. Mating disruption for the control of *Grapholita molesta* (Lepidoptera: Tortricidae), in Fraiburgo, Santa Catarina, Brazil. **Bragant**. 67, 191-196, 2008.

MONTEIRO, L. B. Confusão sexual de *Grapholita* em fruteiras de clima temperado: Primeiro caso de registro no Brasil, 2006. In: SANTANA, J. E. **Flutuação populacional de adultos de *Grapholita molesta* (Busck, 1916) (Lepidoptera: Tortricidae) e índice de danos em pomar de macieira com uso de feromônio sexual para controle.** VIÇOSA: Monografia latu sensu, p.42, 2012.

NASCIMENTO, A. S.; CARVALHO, R. S.; MALAVASI, A. Monitoramento populacional. p. 109-112. In: MALAVASI, A.; ZUCCHI, R. A. (eds.). **Moscas-das-frutas de Importância Econômica no Brasil.** Conhecimento básico e aplicado. Ribeirão Preto: Holos, p.327, 2000.

NAVA, D. E.; BOTTON, M. **Bioecologia e controle de *Anastrepha fraterculus* e *Ceratitis capitata* em pessegueiro.** Pelotas: Embrapa Clima Temperado. 29 p. (Embrapa Clima Temperado. Documentos, 315), 2010.

NONDILLO, A.; ZANARDI, O. Z.; AFONSO, A. P. S.; BENEDETTI, A. J.; BOTTON, M. Efeito de inseticidas neonicotinóides sobre a mosca-das-frutas sul-americana *Anastrepha fraterculus* (Wiedemann) (Diptera: Tephritidae) na cultura da videira. **BioAssay**, v.2, n.1, p.1-9, 2007.

NORA, I.; HICKEL, R. E. Pragas da macieira". In: **A cultura da macieira.** Florianópolis: EPAGRI, cap.15, p. 463-525, 2002.

OMOTO, C.; RISCO, M, D, M.; SCHMIDT, J, B. **Manejo da resistência de pragas a inseticidas.** Disponível em: <<http://www.irac-br.org/>>. Acesso em 09 de jun.2016

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., E MAFRA N. A. Avaliação da técnica de interrupção 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** (Piracicaba), v. 3, p.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 inseticides. **Revista Colombiana de Entomologia**, Bogotá, v. 38, p. 224-230, 2012.

PETRI J. L.; LEITE G. B.; COUTO M.; FRANCESCATTO P. Avanços da cultura da macieira no Brasil. **Rev. Bras. Frutic.**, Jaboticabal - SP, Volume Especial, E. 048-056, Outubro, 2011.

PINEDA, A. S. V. **Se puede optimizar el monitoreo de (Cydia molesta) (Lepidoptera: Tortricidae) com tranpas de feromona?** 2005. Projeto de Conclusão de Curso (Engenheiro Agrônomo) – Universidade de Chile, Santiago, 2005.

REIS FILHO, W. Controle químico da mosca-das-frutas – *Anastrepha fraterculus* (Wied., 1830) (Diptera: Tephritidae) em macieira. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Cruz das Almas, v.16, p.64-69, 1994.

RIBEIRO, L. G. Principais pragas da macieira”. In: Bonetti, J. I. S. et al., (Ed.). **Manual de identificação de doenças e pragas da macieira**. Florianópolis: EPAGRI, p.97-149, 1999.

RODRIGUES, G. S.; CAMPANHOLA C.; KITAMURA, P. C. An environmental impact assessment system for agricultural R e D. **Environmental Impact Assessment Review**. 23(2), 219-244, 2003.

RODRÍGUEZ, 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). **J. Econ. Entomol.** 103(2): p. 482-491, 2010.

ROUSH, R. T.; MCKENZIE, J. A. Ecological genetics of insecticide and acaricide resistance. **Ann. Rev. Entomol.** 32: 361-380, 1987.

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.

SALLES, L. A. B.; MARINI, L. H. Avaliação de uma formulação de confundimento no controle de *Grapholita molesta* (Busck, 1916) (Lepidoptera: Tortricidae). **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v.18, n.2, pp.329-336, 1989

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

SALLES, L. A. B.; KOVALESKI, A. Inseticidas para o controle da mosca-das-frutas. **HortSul**, Pelotas, v. 1, p.10-11, 1990b.

SALLES, L. A. B. **Mosca das frutas (*Anastrepha spp.*): Bioecologia e controle**. Pelotas: EMBRAPA-CNPFT, p.16 (Documento 41),1991.

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

SALLES, L. A. B. Principais pragas e seu controle. In: Medeiros, C. A. B.; Raseira, M. do C. **A cultura do pessegueiro**. Brasília: EMBRAPA- CPACT, Cap.8, p.206-242, 1998.

SALLES, L. A. B. de. A Mariposa-oriental, *Grapholita molesta* (Lepidoptera: Tortricidae). In: VILELA, E. F.; ZUCCHI, R.A.; CANTOR, F. (Ed.). **Histórico e impacto das pragas introduzidas no Brasil**. Ribeirão Preto: Holos, p.42-45, 2001.

SANTOS R. S. S. dos; LEOLATO L. S. **Avaliação da Presença de Lagartas de *Grapholita molesta* (Lepidoptera: Tortricidae) em Burrknots de Macieira no Inverno**. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento ISSN 1981-1004 Novembro, 2011.

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. **J. Econ. Entomol.** 104, 636-645, 2011.

SILVA de ASSIS, H. C. Der einsatz von biomarkern zur summarischen erfassung von Gewässerverschmutzungen. 1998. 99 f. Tese de Doutorado apresentada na Universidade Técnica de Berlim, Alemanha, 1998.

SUGAYAMA, R. L.; BRANCO, E. S.; MALAVASI, A.; KOVALESKI, A.; NORA, I. Oviposition behavior and preference of *Anastrepha fraterculus* in apple and dial pattern of activity in an apple orchard in Brazil. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v. 83, p. 239-245, 1997.

TEIXEIRA, R. **Resistance of *Grapholita molesta* (Busk, 1916) (Lepidoptera: Tortricidae) to insecticide according to phytosanitary profile of apple orchards in the Southern Brazil**. 2014. 75 f. Tese de Doutorado apresentada na Universidade Federal do Paraná, Brasil, 2014.

VALDEBENITO SANHUEZA, R. M. **Podridão de frutos e cancos dos ramos causados por *Cryptosporiopsis perennans* nas macieiras**. Bento Gonçalves: Embrapa Uva e Vinho. (Embrapa Uva e Vinho. Circular Técnica, 29), 2001.

VILELA, E. F.; LUCIA T. M. C. D. Feromônios de insetos: Biologia, química e emprego no manejo de pragas. Viçosa: **Imprensa Universitária UFV**, p. 155, 2001.