

AVALIAÇÃO DA EFICÁCIA DE INSECTICIDAS DE ORIGEM NATURAL SOBRE O ESCARAVELHO-DA-BATATEIRA *LEPTINOTARSA DECEMLINEATA* (SAY)

EVALUATION OF THE EFFECTIVENESS OF NATURAL INSECTICIDES ON THE COLORADO POTATO BEETLE *LEPTINOTARSA DECEMLINEATA* (SAY)

Isabel Mourão¹, Henrique Moreira², Raul Rodrigues¹,
Luisa Moura¹ e Luís Miguel Brito¹

RESUMO

Este estudo teve por objectivo avaliar a eficácia de 3 pesticidas de origem natural, azadiractina, *Beauveria bassiana* e spinosade, no combate ao escaravelho-da-batateira e a influência destes na desfoliação, produtividade, calibre e matéria seca dos tubérculos. O pesticida padrão utilizado foi o tiaclopride e a testemunha a água. A eficácia foi avaliada 2 e 7 dias após o tratamento, através do número de larvas L1-L3 e L4 nas plantas e da percentagem de mortalidade. O delineamento experimental foi completamente casualizado, com 4 repetições. O bioinsecticida mais eficaz foi o spinosade (> 97% mortalidade) com eficácia semelhante ao tiaclopride, enquanto a azadiractina e a *B. bassiana* revelaram eficácia sobre as duas fases larvares apenas 7 dias após tratamento (65 a 77% mortalidade). A produtividade da cultura foi idêntica para os 3 biopesticidas e para o tiaclopride (média 17,5 t ha⁻¹) e foi inferior na testemunha (10,5 t ha⁻¹). Estes bioinsecticidas mostraram-se viáveis na protecção contra esta praga, possibilitando a sua alternância.

Palavras-chave: Azadiractina, *Beauveria bassiana*, produtividade de batata, spinosade.

ABSTRACT

The objective of this study was to evaluate the efficacy of 3 bio-insecticides, spinosad, azadirachtin and *Beauveria bassiana*, against Colorado potato beetle and the effects on defoliation, potato yield, grade and dry matter. The reference insecticide was thiacloprid and water was the control. The efficacy was assessed 2 and 7 days after crop spraying, through the number of beetle larvae stages L1-L3 and L4 on the plants and the percentage of mortality. The experiment was completed randomized with 4 repetitions. Spinosad presented the highest efficacy (> 97% mortality) similar to the thiacloprid, while the azadirachtin and *B. bassiana* were effective against both larvae stages only 7 days after crop spraying (65 a 77% mortality). Potato crop yield was similar for the 3 bio-insecticides and for the thiacloprid (mean 17.5 t ha⁻¹) and lower in the control (10.5 t ha⁻¹). The study showed the feasibility of the bio-insecticides in crop protection programs, to use in alternation as a resistance strategy.

¹Centro de Investigação de Montanha (CIMO), Escola Superior Agrária, Instituto Politécnico de Viana do Castelo, Refóios, 4990-706 Ponte de Lima. isabelmourao@esa.ipvc.pt

²Escola Superior Agrária, Instituto Politécnico de Viana do Castelo, Refóios, 4990-706 Ponte de Lima

Keywords: Azadirachtin, *Beauveria bassiana*, potato yield, spinosade.

INTRODUÇÃO

A cultura da batata ocupa o quarto lugar em relevância social e económica em todo o mundo, apenas ultrapassada pelas culturas do arroz, trigo e milho (Filgueira, 2003). Os prejuízos causados pelo escaravelho-da-batateira acentuam a preocupação e a necessidade de encontrar novas estratégias de protecção contra esta praga, de modo a manter um adequado nível de produtividade, preservando os recursos naturais, nomeadamente a biodiversidade dos insectos auxiliares e assegurando a saúde dos consumidores. Esta necessidade, essencial para o modo de produção biológico (MPB), é também uma preocupação da agricultura convencional, pois os insecticidas químicos de síntese combatem eficazmente esta praga, mas proporcionam um aumento dos fenómenos de resistência, que tornam complexa a protecção contra a praga (Alyokhin *et al.*, 2008). O desenvolvimento de insecticidas de origem natural inclui a utilização de derivados de metabolitos de bactérias do solo (ex: *Sacharopolyspora spinosa* - spinosade) (Kowalska, 2010), de fungos (ex: *Beauveria bassiana*) (Klinger, 2003) e de extractos naturais de plantas (ex: azadiractina) (Mordue e Nisbet, 2000; Knaak e Fiuza, 2010).

O spinosade é constituído por dois metabolitos secundários (spinosyne A e D) de *S. spinosa* obtidos por um processo de fermentação industrial e apresenta um rápido efeito de contacto em todas as fases de desenvolvimento da praga, sendo a eficácia maior quando ingerido pelo insecto. O modo de acção caracteriza-se pela excitação do sistema nervoso dos insectos expostos (Thompson *et al.*, 2009) que ficam paralisados e param de se alimentar em poucos minutos. Reconhece-se que este produto é inócuo para 70 a 90% dos insectos benéficos e insectos predadores, excepto as abelhas quando atingidas directamente pelo produto (Kowalska, 2010). A

Beauveria bassiana actua como um micoinsecticida de contacto podendo infectar os insectos através do sistema respiratório e do aparelho digestivo, mas a penetração através do tegumento externo é a via mais comum de invasão (Leslie *et al.*, 1990). A acção do insecticida azadiractina exerce-se essencialmente ao nível da inibição da alimentação e também do processo da muda (Huang *et al.*, 1995). Este insecticida actua essencialmente sobre os primeiros estádios larvares dos insectos, pelo que a sua aplicação deverá coincidir com o pico de eclosões dos ovos (Khuar *et al.*, 2009).

Este trabalho teve por objectivo avaliar o grau de eficácia sobre os estádios larvares L1-L3 e L4 do escaravelho-da-batateira, de três produtos naturais homologados para o MPB: azadiractina, *Beauveria bassiana* e spinosade, com o objetivo de contribuir para a protecção da cultura da batata neste modo de produção. Paralelamente quantificaram-se os efeitos na desfoliação das plantas, na produtividade, no calibre e na matéria seca dos tubérculos.

MATERIAL E MÉTODOS

O ensaio decorreu no concelho de Ponte de Lima (NW Portugal), num regossolo dístico com textura franco-arenosa (Agroconsultores e Geometral, 1995), no período de Abril a Julho de 2010. Para a sua realização seguiram-se as normas da Organização Europeia e Mediterrânica para a Protecção de Plantas (OEPP, 1997), em conformidade com os protocolos experimentais PP 1/12(4), PP 1/152(2) e PP 1/181(2). O delineamento experimental foi completamente casualizado com 4 repetições, incluiu 5 modalidades, num total de 20 talhões de 25 m² cada. As modalidades ensaiadas foram as formulações comerciais de azadiractina, *B. bassiana* e spinosade (Quadro 1), utilizando-se como padrão o insecticida tiaclopride e como tratamento testemunha a água. As classificações, toxicológica e ecotoxicológica, dos insecticidas encontram-se no Quadro 2.

Quadro 1 - Inseticidas utilizados para a protecção contra o escaravelho-da-bataiteira

Substância activa	Nome Comercial	Tipo de formulação	Concentração	Dose
azadiractina	Align®	EC (3,2% p/v)	150 cc hl ⁻¹	1,5 L ha ⁻¹
<i>B. bassiana</i>	Bassi®	WP (22% p/p)	125 g hl ⁻¹	1,25 kg ha ⁻¹
spinosade	Spintor®	SC (48% p/p)	7,5 cc hl ⁻¹	0,075 L ha ⁻¹
tiaclopride	Calypso®	SC (480 g L ⁻¹)	20 cc hl ⁻¹	0,2 L ha ⁻¹

(EC- concentrado para emulsão, SC- suspensão concentrada, WP- pó molhável)

Quadro 2 - Classificação toxicológica e ecotoxicológica de produtos comerciais de 4 substâncias activas. Fonte: a) Amaro (2011); b) Massó (2005); c) Oliveira e Henriques (2011)

Substância activa	Produto comercial	Toxicológica	Classificação		
			Ecotoxicológica		
			N Organ. Aquático	Abelha	
azadiractina	Align®	Xi, R36	●	R51/53	c)
<i>B. bassiana</i>	Bassi®	Xn, R42, R43	●		b)
spinosade	Spintor®		●	R50/53	P c) a)
tiaclopride	Calypso®	Xn, R22, R40, R43	●	R50/53	c)

Xn - Nocivo; **Xi** - Irritante; **R22** - Nocivo por ingestão; **R36** - Irritante para os olhos; **R40** - Possibilidade de efeitos cancerígenos (Car. Cat. 3); **R42** - Pode causar sensibilização por inalação; **R43** - Pode causar sensibilização em contacto com a pele; **N** - Perigoso para o ambiente; **R50** - Muito tóxico para os organismos aquáticos; **R51** - Tóxico para os organismos aquáticos; **R53** - Pode causar efeitos nefastos a longo prazo no ambiente aquático; **P** - Perigoso.

Aplicaram-se os inseticidas no dia 14 de Junho de 2010, 47 dias após a plantação, quando predominavam larvas dos estádios L1-L2 e as plantas se encontravam na fase do aparecimento das segundas inflorescências, próximo da sua área foliar máxima, estando os tubérculos em pleno crescimento. As doses e concentrações dos produtos avaliados respeitaram as homologações e recomendações dos fabricantes (Quadro 1). O tratamento decorreu no final da tarde, com os valores de 22°C de temperatura do ar e 57% de humidade relativa.

A avaliação da **eficácia** sobre o fitófago foi realizada 2 e 7 dias após a realização do tratamento (T+2 e T+7) e incidiu na amostragem aleatória de 10 plantas por repetição, tendo-se contabilizado o número de formas

móveis presentes nas folhas de cada uma das plantas. A **eficácia** dos inseticidas (**percentagem de mortalidade**) foi calculada separadamente para os estádios larvares L1-L3 e L4, através da fórmula de Abbott (1925): Mortalidade (%) = 100 * (Vt-Ve) / Vt, onde, Vt e Ve representam, respectivamente, o número total de larvas de escaravelho presentes na testemunha e nas modalidades tratadas com inseticida.

A avaliação da intensidade de **desfoliação** foi realizada por amostragem aleatória de 10 plantas por repetição, aproximadamente um mês após os tratamentos, e foi quantificada em percentagem. A **produtividade** e **qualidade** da batata foram avaliadas à colheita, realizada 91 dias após a plantação, em 8 plantas por cada repetição, tendo-se quanti-

ficado o **peso fresco** e o **peso seco**, para cada **calibre**: <45 mm e 45-75 mm, após secagem dos tubérculos numa estufa termo-ventilada a 70°C durante 48 horas.

A análise estatística foi realizada com recurso ao programa SPSS 15.0, comparando-se o número de formas móveis de escaravelho por planta, a intensidade de desfoliação, a produtividade e os teores de matéria seca, com base na análise de variância de um factor. Para comparação entre médias das modalidades, utilizou-se o teste HSD de Tukey a um nível de significância de 5%.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Eficácia dos insecticidas

O **número médio de larvas L1-L3** por planta, (como medida de avaliação da eficácia), na amostragem efectuada 2 dias após a realização do tratamento (T+2), variou significativamente entre as 5 modalidades ($P < 0,05$). O número de indivíduos de escaravelho-da-batateira na modalidade *B. bassiana* (12,9) foi significativamente superior à verificada com spinosade (0,1) e tiaclopride (0,0), e foi idêntica à testemunha (8,6) e a azadiractina (10,0) (Figura 1 a). No entanto, 7 dias após a realização do tratamento (T+7), a testemunha

apresentou o número médio de larvas L1-L3 (5,2) significativamente superior ao dos 4 pesticidas, cujos resultados foram idênticos entre si (Figura 1 b).

Para as larvas L4, o número de exemplares por planta em T+2 foi inferior ($p < 0,05$) em spinosade e tiaclopride (média 0,1), em comparação com a testemunha e com os outros dois bioinsecticidas (em média 3,0), mas em T+7, a densidade populacional na testemunha (14,2 larvas por planta) foi significativamente superior à das restantes modalidades ($p < 0,001$), não se tendo verificado diferenças significativas entre os quatro produtos fitossanitários (média 2,2) (Figura 1).

A **eficácia** (percentagem de mortalidade) do inseticida natural spinosade e do tiaclopride (padrão), sobre os estádios larvares L1-L3 e L4, 2 e 7 dias após a realização do tratamento, foi semelhante entre si, e superior a 97% (Figura 2) em comparação com os insecticidas *B. bassiana* e azadiractina, excepto para este último com as larvas L4 observadas em T+7. Para estes dois bioinsecticidas, em T+2, o valor médio da eficácia nos estádios larvares L1-L3 foi negativo (-33,0%) (Figura 2 a), pelo facto de se encontrarem mais larvas de escaravelho nas folhas tratadas com bioinsecticidas do que nas tratadas só com água (Figura 1 a). No mesmo momento de observação (T+2), este dois insecticidas para o

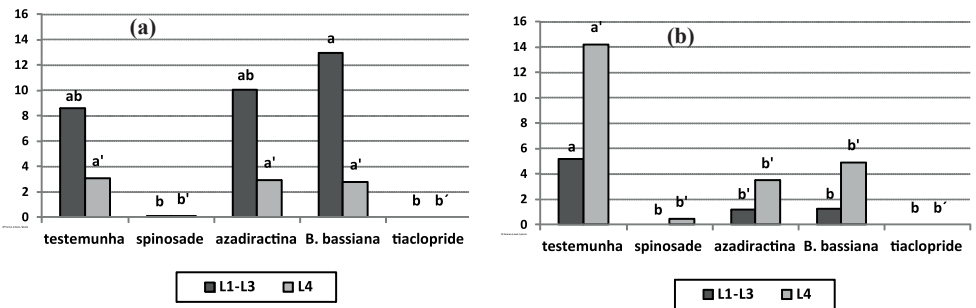


Figura 1 - Número médio de larvas L1-L3 e L4 de escaravelho-da-batateira por planta, (a) dois dias e (b) sete dias após a aplicação de spinosade, azadiractina, *B. bassiana* e tiaclopride (padrão) e de água (testemunha). Letras diferentes para a mesma série correspondem a diferenças significativas entre os tratamentos ($p < 0,05$).

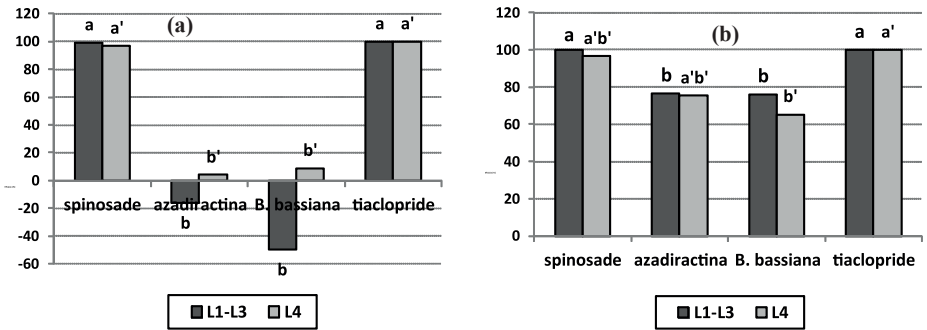


Figura 2 - Eficácia (percentagem de mortalidade) das aplicações de spinosade, azadiractina, *B. bassiana* e tiaclopride (padrão), sobre o escaravelho-da-batateira observada (a) dois dias e (b) sete dias após tratamento, em larvas L1-L3 e L4. Letras diferentes para a mesma série correspondem a diferenças significativas entre os tratamentos ($p < 0,05$).

estádio larvar L4 apresentaram também uma eficácia semelhante entre si e reduzida (média de 6,5%) em comparação com a testemunha (Figura 2 a). No entanto, em T+7 a sua eficácia foi muito superior, designadamente 76,3% para a média de ambos (sem diferenças significativas entre si) para as larvas L1-L3 (Figura 2 b). Para as larvas L4, a eficácia da azadiractina (75,4%) não foi significativamente inferior à eficácia do spinosade (96,7%), nem significativamente superior à eficácia do insecticida *B. bassiana* (65,4%). No entanto, a eficácia deste último insecticida foi inferior à do spinosade (Figura 2 b).

A eficácia do spinosade verificada neste estudo 2 e 7 dias após o tratamento assemelha-se à verificada (93 a 100%) 10 a 13 dias após duas aplicações de spinosade (60 g de substância activa ha-1), em ensaios realizados no Canadá por Scott-Dupree *et al.* (1998). Os resultados aqui obtidos com o bioinsecticida spinosade estão de acordo com os trabalhos de Rodrigues *et al.* (2007) e Kowalska (2010).

A menor eficácia de *B. bassiana* em comparação com o insecticida padrão e com o spinosade, poderá ter resultado do baixo valor de humidade relativa do ar (57%) que se verificou no momento da aplicação dos produtos. Este comportamento está de

acordo com os resultados obtidos por Klinger (2003), que refere maior probabilidade de sucesso para este fungo com uma humidade relativa superior a 92,5%, enquanto para Fernandez (2001) a produção máxima de conídios é alcançada com humidade relativa superior a 95%. A temperatura do ar no momento da aplicação pode também influenciar a sua eficácia e, o valor de 22°C de temperatura do ar registado no momento da aplicação, aparentemente foi uma temperatura adequada, uma vez que Fernandez (2001) referiu que o intervalo de temperatura, para que a infecção ocorra, é de 15-30°C. Long *et al.* (2000) e Klinger (2003) referiram a temperatura como o factor externo mais importante na susceptibilidade do insecto e na multiplicação do fungo no corpo do hospedeiro.

A azadiractina teve um efeito reduzido em 2 dias após o tratamento e demonstrou índices de eficácia mais elevados em T+7, para as duas fases larvares consideradas, nomeadamente 77% para L1-L2 e 75% para L4. Dively *et al.* (2004) verificaram com azadiractina (4,5% p/v) uma redução das populações de escaravelho-da-batateira de 50-85% para larvas de primeira geração e de 40-70% para larvas de segunda geração, no Canadá. Também Basedow (2002) num trabalho realizado na Alemanha, mostrou ser possível controlar

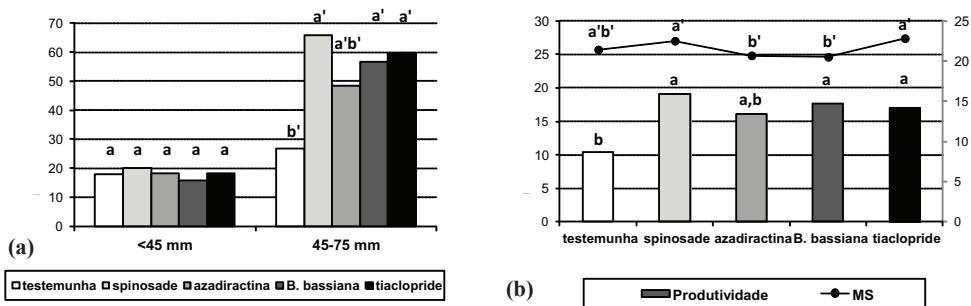


Figura 3 - (a) Peso seco dos tubérculos por calibre de batata: <45 mm e 45-75 mm (g planta⁻¹) e (b) produtividade (t ha⁻¹) e matéria seca (%), nas modalidades tratadas com spinosade, azadiractina, *B. bassiana*, tiaclopride (padrão) e água (testemunha). Letras diferentes para a mesma série correspondem a diferenças significativas entre os tratamentos (p < 0,05).

totalmente o escaravelho-da-batateira, com uma única aplicação de azadiractina (1%) no início do desenvolvimento da praga, embora a sua acção tenha sido mais lenta do que a do insecticidas de síntese, sem no entanto aumentar os prejuízos na cultura.

Desfoliação, produtividade, calibre e matéria seca dos tubérculos

A percentagem de **desfoliação** com a aplicação do spinosade (11,7%) ou do padrão tiaclopride (5,9%) foi semelhante e significativamente inferior às restantes modalidades, que foram semelhantes entre si, nomeadamente, 45,7% com azadiractina, 66,6% com *B. bassiana* e 54,8% na testemunha.

A desfoliação observada com os bioinsecticidas azadiractina e *B. bassiana* poderá ser explicada pela baixa eficácia sobre a fase larvar L1-L3 observada em T+2, que é a mais destrutiva. No entanto, esta desfoliação ocorreu numa fase do ciclo vegetativo da cultura próximo da área foliar máxima, o que não afectou consideravelmente o crescimento dos tubérculos. Caso contrário, se a desfoliação tivesse ocorrido mais cedo, a produção poderia ter sido afectada, porque existe uma relação directa entre a desfoliação e a tuberização, quando a desfoliação ocorre em fases

anteriores do ciclo cultural (Ferro e Boiteau, 1993).

O maior efeito do spinosade e do padrão no controlo do escaravelho-da-batateira não se traduziu no aumento da **produtividade da cultura**, uma vez que não se verificaram diferenças significativas de produtividade entre os pesticidas utilizados. A produtividade variou entre 16,1 t ha⁻¹ na azadiractina e 19,0 t ha⁻¹ no spinosade e foi, em média, de 17,5 t ha⁻¹ no conjunto dos 4 insecticidas, tendo sido a produtividade significativamente inferior na testemunha, com 10,5 t ha⁻¹ (Figura 3 b), excepto em comparação com a azadiractina, cuja diferença na produtividade da cultura não foi significativa. Os valores de produtividade obtidos com a aplicação de todos os insecticidas foram superiores aos valores médios de produtividade de batata em Portugal, de 15,0 t ha⁻¹ (INE, 2010).

O **calibre dos tubérculos** <45 mm que representa o limite para refugio não comercializável da cultura, foi semelhante para todas as modalidades do ensaio (Figura 3 a). No entanto, para o calibre comercial de 45-75 mm, os resultados obtidos foram idênticos aos resultados obtidos com a produtividade (Figura 3 a).

A **matéria seca** dos tubérculos foi mais elevada com spinosade e tiaclopride (em

média 22,7%) e foi idêntica à testemunha (21,4%). Para os bioinsecticidas azadiractina e *B. bassiana* a matéria seca dos tubérculos foi inferior às dos restantes insecticidas, em média de 20,6%, valor que também não diferiu da testemunha (Fig. 3 b). Os valores de matéria seca obtidos em todas as modalidades possibilitariam a utilização agro-industrial dos tubérculos, cujo valor mínimo é de 20%.

CONCLUSÕES

Este estudo indicou que o bioinsecticida spinosade teve a mesma eficácia que o insecticida padrão no combate ao escaravelho-da-bataiteira e que os bioinsecticidas azadiractina e *B. bassiana*, apesar de terem sido eficazes no combate à praga apenas sete dias após o tratamento fitossanitário, resultaram numa produtividade e calibre dos tubérculos semelhantes aos obtidos com os outros dois insecticidas, apenas diferindo no menor valor de matéria seca. A baixa eficácia demonstrada pelos bioinsecticidas azadiractina e *B. bassiana*, logo após a sua aplicação, principalmente sobre as fases larvares L1-L3 mais destrutivas, resultou numa desfoliação importante na cultura. No entanto, esta desfoliação ocorreu numa fase avançada do ciclo vegetativo da cultura que não afectou consideravelmente o crescimento dos tubérculos.

Os resultados de produtividade de batata obtidos com os 3 bioinsecticidas, e que foram idênticos ao insecticida padrão, revelaram as vantagens da utilização destes produtos no MPB, em programas de protecção contra o escaravelho-da-bataiteira, possibilitando a alternância na perspectiva de gestão de resistências e com vantagens acrescidas na obtenção de tubérculos de qualidade certificada. Estes bioinsecticidas mostram-se, assim, uma alternativa viável aos insecticidas convencionais porque, apesar dos cuidados necessários na sua utilização de acordo com as classificações toxicológicas e ecotoxicológicas (Amaro, 2007), diminuem os efeitos nocivos para os seres vivos e para o ambiente.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abbott, W.S. (1925) - A method of computing the effectiveness of an insecticide. *Journal of Economic Entomology*, 18: 265-267.
- Agroconsultores e Geometral (1995) - *Carta de Solos e Carta de Aptidão da Terra de Entre-Douro e Minho, Escala 1:100000. Peças Desenhadas e Memórias Descritivas*. Braga, Direcção Regional de Agricultura do Entre-Douro e Minho.
- Alyokhin, A.; Baker, M.; Mota-Sanchez, D.; Dively, G. e Grafius, E. (2008) - Colorado potato beetle resistance to insecticides. *American Journal of Potato Research*, 85: 395-413.
- Amaro, P. (2007) - *A política de redução dos riscos dos pesticidas em Portugal*. Lisboa, ISA/Press, 167 p.
- Amaro, P. (2011) - Os rótulos e as fichas de dados de segurança de pesticidas tóxicos para abelhas. *Revista de Ciências Agrárias*, 34: 93-109.
- Basedow, T. (2002) - Uso de insecticidas en agricultura de algunos países del mundo, métodos para reducir su uso y realizar una protección de cultivos más favorable para el ambiente. *Natura*, 10: 50-58.
- Dively, G.P.; Patton, T. e Miller, A. (2004) - *Field efficacy evaluation of selected conventional and organic insecticides for control of insect pests in Maryland*. Final Report. Maryland, Canada, University of Maryland, 22 p.
- Ferro, D.N. e Boiteau, G. (1993) - Management of insect pests. In: Rowe, R.C. (Ed.) - *Potato Health Management*. Minnesota, APS Press, p. 103-115.
- Filgueira, F.A.R. (2003) - *Solanáceas: agro-tecnologia moderna na produção de tomate, batata, pimentão, pimento e beringela*. Lavras, Universidade Federal de Lavras, Brasil, Editora UFLA, 331 p.
- Huang, F.Y.; Chung, B.Y.; Bentley, M.D. e Alford, A.R. (1995) - Colorado potato beetle antifeedants by simple modification of the birchbark triterpene betulin. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 43: 2513-2516.

- INE (2010) - *Estatísticas Agrícolas de 2009*. Lisboa, Instituto Nacional Estatística I.P.
- Khur, T.P.; Day, E.R.; Cordero, R.J. e Speese, J. (2009) - *Colorado potato beetle*. Virginia Polytechnique Institute, Virginia Cooperative Extension. (Acesso em 27 Novembro 2011). Disponível em <http://pubs.ext.vt.edu/444/444-012/444-012.pdf>.
- Klinger, E. (2003) - *Susceptibility of adult Colorado Potato beetle (Leptinotarsa decemlineata) to the fungal entomopathogen Beauveria bassiana*. Maine, USA, University of Maine, 93 p.
- Knaak, N. e Fiuza, L.M. (2010) - Potential of essential plant oils to control insects and microorganisms. *Neotropical Biology and Conservation*, 5: 120-132.
- Kowalska, J. (2010) - Spinosad effectively controls Colorado potato beetle, *Leptinotarsa decemlineata* (Coleoptera: Chrysomelidae) in organic potato. *Acta Agriculturae Scandinavica, Section B - Soil and Plant Science*, 60: 283-286.
- Long, D.W.; Groden, E. e Drummond, F.A. (2000) - Horizontal transmission of *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. *Agricultural and Forest Entomology*, 2: 11-17.
- Massó (2005) - *Registro de Productos Fito-Sanitarios - Bassi WP*. Barcelona, Comercial Química Massó, S.A., 2 p.
- Mordue, A.J. e Nisbet, A.J. (2000) - Azadirachtin from the Neem tree *Azadirachta indica*: its Action Against Insects. *Anais Soc. Entomológica Brasil*, 29: 615-632.
- OEPP - Organisation Européenne et Méditerranéenne pour la Protection des Plantes (1997) - *Normes OEPP: Directives pour l'évaluation biologique des produits phytosanitaires*. Paris, OEPP, Vol.3, Insecticides, Acaricides, PP 1/12 (3) e PP 1/152 (2).
- Oliveira, A.B. e Henriques, M. (2011) - *Guia dos produtos fitofarmacêuticos. Lista dos produtos com venda autorizada*. Lisboa, Direção-Geral de Agricultura e Desenvolvimento Rural, 221 p.
- Rodrigues, J.R.; Mourão, I.; Durão, F. e Afonso, A.A. (2007) - Avaliação da eficácia de três insecticidas de origem natural no combate ao escaravelho-da-batateira *Leptinotarsa decemlineata* (Say). *Actas Portuguesas de Horticultura*, 10: 173-180.
- Scout-Dupree, C.D.; Rempel, S.J.; Cheverie, R.M. e Harris, B.J. (1998) - Relative efficacy of Amire 240F and split applications of spinosad 480SC against Colorado potato beetle larvae. In: Hardman, J.M.; Neil, B. e Stewart J.G. (Ed.) - *1998 Pest Management Research Report*, 33: 86-91.
- Thompson, G.D.; Scott, H.; Hutchins e Sparks, T.C. (2009) - Development of spinosad and attributes of a new class of insect control products. In: Radcliffe, E.B. e Hutchison, W.D. (Ed.) - *Radcliffe's IPM World Textbook*. Minnesota, USA, Univ. of Minnesota.