

# RESSALVA

Atendendo solicitação do(a)  
autor(a), o texto completo desta tese  
será disponibilizado somente a partir  
de 05/08/2021.



**unesp** 

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA  
"Júlio de Mesquita Filho"  
INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS DE BOTUCATU

**TOXICIDADE E GENOTOXICIDADE DO BIOPESTICIDA  
AZAMAX™ EM OVÁRIO E INTESTINO DE *Ceraeochrysa  
claveri* (N EUROPTERA:CHRYSOPIDAE)**

BERTHA IRINA GASTELBONDO PASTRANA



BOTUCATU - SP

2019

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA  
“Júlio de Mesquita Filho”

INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS DE BOTUCATU

TOXICIDADE E GENOTOXICIDADE DO BIOPESTICIDA  
AZAMAX™ EM OVÁRIO E INTESTINO DE *Ceraeochrysa claveri*  
(NEUROPTERA:CHRYSOPIDAE)

**BERTHA IRINA GASTELBONDO PASTRANA**

**PROFA. DRA. DANIELA CARVALHO DOS SANTOS**

**PROF. DR. FÁBIO HENRIQUE FERNANDES**

Tese apresentada ao Instituto de Biociências,  
Campus de Botucatu, UNESP, para obtenção do  
título de Doutora no Programa de Pós-  
Graduação em Biotecnologia, Área de  
concentração *Biotecnologia aplicada à saúde  
humana e animal*.

*Profa. Dra. Daniela Carvalho dos Santos*

**BOTUCATU – SP  
2019**

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TEC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.  
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO • CÂMPUS DE BOTUCATU • UNESP  
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: LUCIANA PIZZANI • CRB 8/6772

Pastrana, Bertha Irina Gastelbondo

Toxicidade e genotoxicidade do biopesticida azamax em ovário e intestino de *Ceraeochrysa claveri* (neuroptera: chrysopidae) / Bertha Irina Gastelbondo  
Pastrana. - Botucatu, 2019

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Instituto de Biociências de Botucatu  
Orientador: Daniela Carvalho dos Santos  
Coorientador: Fábio Henrique Fernandes  
Capes: 90400003

1. Crisopídeo. 2. Dano ao DNA. 3. Pesticidas - Formulação. 4. Inseto. 5. Reprodução.

Palavras-chave: Crisopídeo; Danos no DNA; Insetos não alvo; Pesticida natural; Reprodução.

*...Muito obrigada Deus, por não ter me dado tudo o que eu quis,  
mas, por ter me dado o necessário para eu chegasse até aqui...*

*“E sabemos que todas as coisas contribuem juntamente para o bem  
daqueles que amam a Deus, daqueles que são chamados segundo o seu  
propósito.”*

*Romanos 8:28*

*Dedico este trabalho...*

*Aos meus pais Concepción e Alcibiades,  
e aos meus irmãos Alcibiades, Camilo Ernesto e Jorge Arturo.*

## *AGRADECIMENTOS*

---

- ❖ *A Deus, rei da minha vida...por ser o meu suporte sempre que eu tinha vontade de cair.*
- ❖ *À Professora Daniela, por acreditar em mim, por apoiar o meu propósito de estudar danos no DNA no seu modelo biológico e por se arriscar em me orientar ainda sem me conhecer. Pelo exemplo, a compreensão e o conhecimento compartilhado, muito obrigada. Você além de uma orientadora sempre foi para mim a mãe que me acompanhou de pertinho em todos esses anos de doutorado longe da minha família. Ah e obrigada também pela paciência com meu portunhol!!*
- ❖ *Ao meu co-orientador Fábio, quem sempre esteve disposto a me ajudar em tudo, por ter sempre palavras de encorajamento e otimismo, pela valiosa amizade e pela valiosa ajuda no desenvolvimento deste trabalho. Agradeço de coração por tudo, ficarei grata a vida toda!*
- ❖ *À Alcibiades e Concepción, meus pais, meus eternos cúmplices e o motor da minha vida, pelos sacrifícios e pelas palavras de encorajamento. Obrigada por aguentar todo este tempo longe de mim, pela paciência, e por ir junto comigo neste sonho. Essa conquista é de vocês!!!*
- ❖ *Aos meus irmãos, Alcy, Cami e Jorge Arturo. Cada um com seu jeito, foi peça chave para eu não desistir deste sonho. Agradeço especialmente ao meu irmão Camilo e sua esposa Lorena, os que foram uma grande ajuda nos momentos difíceis que eu passei quando estava tentando concorrer para a bolsa deste doutorado.*
- ❖ *À Karen Franco, minha amiga de tantas lutas e risadas, a amiga que a pesquisa me deu...obrigada pela ajuda acadêmica e emocional, você tem sido uma grande ajuda nesses quatro anos de doutorado no Brasil, foram muitas ligações que fizeram a diferença para eu continuar focada no meu sonho...agradeço a Deus tua presença na minha vida cada dia. Te quiero mucho Franco!*
- ❖ *À Marilúcia Santorum, a grande amiga que o Brasil me deu, minha parceira de tantos momentos de lutas acadêmicas e pessoais...obrigada querida Mari, pelas viagens, pela amizade, pelas lágrimas compartilhadas, os finais de semana na sua casa estudando, comendo, e assistindo filmes. Você é uma pessoa maravilhosa, uma excelente amiga, e uma "inteligentona" que sempre me deu excelentes*

*contribuições para os resultados deste trabalho. Na verdade, eu não tenho palavras para lhe agradecer tudo o que você tem feito por mim durante este tempo, eu ficarei eternamente grata com você, com o Júnior e com sua família toda.*

- ❖ *À Professora Daisy Fávero Salvadori, pelo apoio, a ajuda constante e as excelentes contribuições ao trabalho. Você é um grande exemplo para mim. Obrigada pela confiança para deixar trabalhar a esta estrangeira no seu laboratório ainda sem conhecê-la, fico grata pela sua disposição para participar nesse estudo.*
- ❖ *Aos outros pais que a vida me deu, Carlos e Denis, pela amizade sincera e o apoio em cada passo.*
- ❖ *À Sílvia Galván, minha colega do mestrado, minha amiga de tantos momentos, minha companhia colombiana que esteve comigo sempre que eu precisei, obrigada por me brindar sua casa em Rio Claro e por me fazer sentir sempre como se estivesse na minha. Sempre foi bom compartilhar tempo juntas, fazer comida colombiana, dar risadas, assistir filmes e sentir de pertinho um pouco do nosso Sampués.*
- ❖ *Aos meus colegas do Laboratório de Insetos: Elton, Ana e Marilúcia, obrigada pelo conhecimento compartilhado, pelas aulas de português, pelo companheirismo e pela amizade. Agradeço muito as suas importantes sugestões para a realização deste trabalho.*
- ❖ *Ao pessoal do Laboratório OMICS, pela amizade, ajuda e apoio constante.*
- ❖ *À professora Angélica Guerrero, por incentivar em mim os desejos de pesquisar e estudar sem importar as barreiras, pelas palavras de alento, pela ajuda acadêmica para entender a Bioquímica, pelas assessorias virtuais, e pela amizade...Gracias mi Doc!!*
- ❖ *Ao pessoal do Laboratório de Mutagênese ambiental da UNESP-Rio Claro/SP, especialmente Yadi e Jorge, pela colaboração, pela boa disposição e as valiosas contribuições no processo de padronização da técnica do ensaio cometa.*

- ❖ *À todo o corpo de funcionários do Centro de Microscopia Eletrônica: Shelly, Luciana, Claudete, Carol, Maria Helena e Tiago, que sempre foram de muita ajuda. Obrigada pelo carinho e pela amizade.*
- ❖ *Aos amigos que o Brasil me deu: Marilúcia, Adrielli, Junior, Shelly, Márcio, Ana, Bruno, Elton, Sarah e Katielle, muito obrigada pelo carinho, pelos momentos de descontração, por tentar sempre entender meu portunhol e pela amizade sincera. E ao Gabriel e o Pedrinho, os amiguinhos mais fofos que o Brasil meu deu...sempre vou sentir saudades!!!*
- ❖ *À Clary, minha única amiga colombiana em Botucatu, obrigada pelo apoio, pelos bons momentos, pelos jogos da Colômbia compartilhados e pela ajuda nos momentos mais difíceis que eu já passei aqui.*
- ❖ *À minha amiga, Lesvi...a amiga Cubana que o Brasil me deu. Obrigada amiga por tantos momentos bons que a gente compartilhou e que me ajudaram para não desistir, você mora no meu coração.*
- ❖ *Aos meus tios e tias, pelo apoio, carinho e as palavras sempre certas, especialmente ao Lazaro e ao Jorge, meus segundos pais. Ao meu tio Ricardo in memoriam, aonde você estiver eu sei que você está feliz por mim...Obrigada por ser parte da minha vida!!!*
- ❖ *Ao governo do estado de Sucre na Colômbia, à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo – FAPESP (Processo 2014/15016-2, 2017/15120-2), ao CNPq (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico) pelo apoio financeiro para o desenvolvimento da referida tese. Ao pessoal da universidade CECAR (Colômbia) e à fundação de pesquisa colombiana “COLCIENCIAS”, pelo apoio técnico para a realização do meu doutorado.*
- ❖ *Aos meus sobrinhos Camilo José, Lorena Lucía, Ana Sofía, Simón Arturo, Isaac Arturo, Samuel de Jesús, Dulce María e Marina que são as coisas que mais amo na vida.*
- ❖ *Aos meus primos, especialmente a Yenis e Henry, Noris, Guillermina, Lácides e Lazaro “El Kalvo”, que estão me esperando com os braços abertos!!*

- ❖ *Aos meus queridos compadres, Manuel “el negrito” e Vane. Muito obrigada porque ainda na distância sempre estiveram torcendo por mim, me apoiando e guardando todo seu carinho e amor por mim até o fim desse processo de doutorado. Seus filhos Santi e meu Thiaguinho são fonte de felicidade na minha vida, amo vocês!!*
- ❖ *Aos meus amigos Natalia Vergara, Daniel Mestra e Sandy Hoyos, muito obrigada pelo carinho, pelos bons momentos ainda de longe, e por não desistir da nossa amizade durante estes 4 anos que eu estive longe!!!*
- ❖ *Aos outros grandes amigos que a vida me tem dado, os que ficaram na Colômbia ansiosos com minha volta: Anderson Ortega, Margarita Verbel, Diana Villalobos, Lina Berthel, Lílíana Carranza, Yuliana Vargas, Rúben Guzmán, Rafael Bertel, Martha Luz Fernández, Carmen Isabel Ojeda, Alfaro Torres, Joselyn Orozco, Avid Torres, Álvaro José Castillo Buefvas, Ercília Osorio, Irina Tirado, Daniel Romero, Alexandra Núñez, Luis Hernán Sandoval, Gabriel Jaime Atehortúa, Carito Muñoz e Cesar David Atehortúa. Muito obrigada pelo carinho, amizade verdadeira e por estar sempre ali para mim.*
- ❖ *Agradeço muito à minha amiga Yina, quem parece que conheço de faz muito tempo e quem ainda de longe soube me alegrar em muitos momentos tristes, com quem compartilhei risadas em Rio Claro, e quem muitas vezes me deu ânimos para não desistir deste meu sonho.*
- ❖ *Aos amigos que Botucatu me deu, meus queridos Eliane e Don Samuel, Dona Maria, Senhor Luiz, Cris, Giovana, Angélica e Roberta. Obrigada por cada um me acolher como parte da sua família.*
- ❖ *A todos os funcionários da Seção de Pós-Graduação do Instituto de Biociências de Botucatu, pelo suporte, em especial Davi Müller e Fábio Sugano.*
- ❖ *As crianças da catequese e a Dona Antonina, por alegrar as minhas quartas falando da vida de Jesus e por me fazer sentir muito amada!!*
- ❖ *Aos membros titulares e suplentes da banca, pelo aceite e disponibilidade. E a todos aqueles que são parte da minha vida, e que foram parte deste processo e que sempre estão ali para mim... obrigada!!!!*

# SUMÁRIO

<b>RESUMO.....</b>	<b>10</b>
<b>ABSTRACT .....</b>	<b>11</b>
<b>1. INTRODUÇÃO.....</b>	<b>12</b>
<b>2. OBJETIVOS.....</b>	<b>21</b>
<b>3. REFERÊNCIAS .....</b>	<b>23</b>
<b>4. RESULTADOS .....</b>	<b>31</b>
<b>CAPÍTULO 1.....</b>	<b>32</b>
<b>CAPÍTULO 2.....</b>	<b>35</b>
<b>5. CONCLUSÕES .....</b>	<b>71</b>
<b>6. ANEXO .....</b>	<b>73</b>

## RESUMO

O biopesticida Azamax™ tem sido utilizado como uma alternativa aos inseticidas sintéticos para o controle de pragas em plantações. Além disso, este produto tem obtido destaque por poder se associar ao uso de predadores naturais no controle biológico previsto pelo Manejo Integrado de Pragas (MIP). Dentre os modelos biológicos, destaca-se a espécie *Ceraeochrysa claveri*, sobretudo devido sua característica predadora na fase de larva com ampla variedade de presas e alto potencial reprodutivo na fase adulta. Embora a azadiractina, ingrediente ativo do Azamax™, já tenha sido relacionada com a indução de efeitos citotóxicos em insetos, ainda não há dados na literatura sobre os possíveis efeitos da sua ingestão indireta em células germinativas e intestinais de *C. claveri*. Desta forma, o objetivo deste estudo foi avaliar o efeito tóxico e genotóxico do Azamax™ em células do ovário e do intestino de fêmeas de *C. claveri*. As larvas foram alimentadas *ad libitum*, com ovos de *Diatraea saccharalis* tratados com duas diferentes concentrações do Azamax™ (0,3% e 0,5%) durante todo o seu período larval (n=150 larvas/grupo). As análises morfológicas, ultraestruturais e de genotoxicidade foram realizadas após os indivíduos se desenvolverem até a fase adulta. Os resultados indicaram que a exposição ao Azamax™ somente na fase larval, induziu sinais de toxicidade em todas as fases do desenvolvimento do inseto, como: (a) significativa taxa de mortalidade a partir do 3º instar larval; (b) prepupa e pupas inviáveis; (c) alterações na duração das fases (larva, prepupa e pupa); (d) marcantes malformações nos adultos emergidos; (e) danos primários no DNA de células intestinais e células dos ovários; (f) alterações ultraestruturais significantes nas células ovarianas (desorganização dos cistos/folículos ovarianos, dilatação do envelope nuclear e do retículo endoplasmático das células ovarianas e grande número de células com morfologia sugestiva de morte celular apoptótica. Nas condições experimentais utilizadas, os presentes dados indicam que o Azamax™ afeta o desenvolvimento e o potencial reprodutivo de *Ceraeochrysa claveri*, o que pode afetar a manutenção da espécie no ecossistema e, conseqüentemente, a continuidade do controle biológico natural exercido por esta espécie predadora de pragas.

**Palavras-chave:** Pesticida natural; reprodução; insetos não alvo; crisopídeo; danos no DNA.

## ABSTRACT

Azamax™ biopesticide has been used as an alternative to synthetic insecticides for pest control in several crops. Besides, this product has been highlighted because this association use with natural predators for biological control in the integrated pest management programs (IPM). Among the biological models, is commonly use the specie *Ceraeochrysa claveri*, above all its predatory characteristic at the larval stage with a wide variety of prey and high reproductive potential in the adult stage. Azadirachtin, active ingredient of Azamax™, has been related to the induction of cytotoxic effects in insects, although it has not been published in literature about the possible effects of Azamax and its indirect ingestion in germ and intestinal cells of *C. claveri*. From this, the aim of this study, is to evaluate the toxic and genotoxic effect of Azamax™ in cells of the ovary and intestine of females of *C. claveri*. Larvae were fed *ad libitum* with treated eggs of *Diatraea saccharalis* at different concentrations of Azamax™ (0.3% and 0.5%) during all or their larval period (n = 150 larvae/group). Morphological, ultrastructural and genotoxic analyzes carried out when individuals reached adult stage. The results indicated that exposure to Azamax™ only in the larval phase induced signs of toxicity at all stages of insect development, such as: (a) significant mortality rate from 3rd instar larval; (b) prepupa and pupae inviable; (c) changes in the duration of the phases (larva, prepupa and pupa); (d) marked malformations in the emergent adults; (e) primary damage to the DNA of intestinal cells and ovarian cells; (f) significant ultrastructural alterations in ovarian cells (disorganization of ovarian cysts/follicles, dilatation of nuclear envelope and endoplasmic reticulum of ovarian cells, and large numbers of cells with morphology suggestive of apoptotic cell death. Under experimental conditions used in this study, Azamax™ affects development and the reproductive potential of *Ceraeochrysa claveri*, and it can affect the maintenance of species in the ecosystem, and consequently, the natural biological control exercised by this predator species of pests.

**Keywords:** Natural pesticide, reproduction, non-target insects, green lacewings, DNA damage.

## *1. INTRODUÇÃO*

---

## Considerações iniciais

A poluição ambiental, o aumento do uso de inseticidas sintéticos e os seus riscos à saúde humana são temas atuais que norteiam a discussão sobre o desenvolvimento de uma agricultura sustentável (GARZÓN et al. 2015; SANTOS et al. 2015). A agricultura é hoje um dos setores mais importantes da economia brasileira. No entanto, a incidência de artrópodes pragas nos sistemas de produção agrícola tem sido o principal desafio para a manutenção da produtividade das diferentes culturas (ANSANTE et al., 2015). Neste sentido, tem sido necessário o controle químico das pragas por meio de inseticidas sintéticos, mas o aumento da resistência a estes compostos convencionais, a persistência de resíduos químicos nos ecossistemas, e a crescente demanda para o consumo de alimentos livres de agrotóxicos têm mobilizado a criação de novas metodologias que garantam a sustentabilidade (TIWARI et al., 2011; SANTOS et al., 2015; CARVALHO et al., 2013). Isto tem motivado a implementação de novas e diferentes estratégias para o controle de insetos-pragas, como o uso do sistema de Manejo Integrado de Pragas (MIP), no qual é utilizado o controle biológico por meio de predadores naturais com ou sem associação ao controle químico (ROGERS et al., 2007). No entanto, o MIP recomenda o uso de produtos que preservem, ou ao menos sejam compatíveis com os inimigos naturais das pragas, pertencentes ou inseridos aos agroecossistemas (WIKTELIUS et al., 1999; ROGERS et al., 2007).

### Predadores naturais e *Ceraeochrysa claveri*

Dentre os diversos grupos de insetos considerados predadores naturais, destaca-se a família Chrysopidae (Ordem: Neuroptera), a qual inclui 1.200 espécies de insetos, comumente conhecidos no Brasil como crisopídeos ou bichos-lixeiros, pelo fato de algumas espécies terem o comportamento de carregar detritos no seu dorso como método de camuflagem ou barreira física de proteção (FREITAS; PENNY, 2001; ALBUQUERQUE, 2009). Os crisopídeos, por serem predadores na fase larval com alta voracidade e ampla variedade de presas, além da sua plasticidade ecológica e alto potencial reprodutivo na fase adulta, são atualmente considerados agentes de controle biológico por excelência (PAPPAS et al., 2011). Estes insetos, na sua fase de larva, tem preferência na predação de diversos

tipos de insetos pragas de várias ordens e famílias, como pulgões, cochonilha, mosca-branca, cigarrinhas, tripés, psilideos, ovos e larvas de Lepidoptera, Coleoptera e Diptera; determinando assim, um importante papel no controle biológico natural dos agroecossistemas que englobam as diferentes culturas de grande importância econômica no Brasil e no mundo (CANARD; PRINCIPI, 1984; FREITAS; PENNY, 2001; ALBUQUERQUE, 2009; PAPPAS et al., 2011). No Brasil, de acordo com Freitas e Penny (2001), ocorrem importantes gêneros da família Chrysopidae, com grande potencial para serem usados nos programas de controle biológico de pragas, como são os gêneros *Crysoperla* e *Ceraeochrysa* (ALBUQUERQUE et al., 2001).

O gênero *Ceraeochrysa* possui 56 espécies descritas no mundo inteiro, distribuindo-se no continente americano desde o Canadá até a Argentina e tem principal ocorrência nas regiões neotropicais (FREITAS; PENNY, 2001), sendo 15 espécies identificadas nos ecossistemas agrícolas brasileiros, entre as quais a espécie *Ceraeochrysa claveri* (Navás, 1911). Há na literatura poucas informações sobre *C. claveri*, embora esta espécie já esteja estabelecida como agente de controle biológico de várias pragas agrícolas (FREITAS; PENNY, 2001). *C. claveri* é um inseto considerado holometábolo por apresentar aparência e hábitos alimentares diferentes durante as fases do seu ciclo de vida: ovo, larva, pupa e adulto (Fig. 1) (CANARD et al., 1984; FREITAS; PENNY, 2001).



**Figura 1.** Ciclo de vida de *Ceraeochrysa claveri*. Fonte: Própria.

Os ovos têm forma esférica e são dispostos na extremidade de um pedicelo fino e longo, que tem tamanho variando entre 2 mm e 20 mm, e coloração amarelada ou verde-azulada no período de oviposição, embora tendo a escurecer ao se aproximar o momento de eclosão da larva (GEPP, 1984; ALBUQUERQUE, 2009). Na fase de larva, o inseto passa por três instares, nos quais as larvas apresentam atividade predadora, tendo mandíbulas longas e afiadas. Nessa fase, as larvas também podem preda ovos e larvas recém-eclodidas da mesma espécie, fato que as torna canibais. No entanto, essa característica é comum apenas quando há escassez de alimento (FREITAS; PENNY, 2001; ALBUQUERQUE, 2009).

As larvas de *C. claveri* são terrestres campodeiformes (com pernas torácicas longas e ambulatórias), apresentam corpo oval e um pouco achatado dorso-ventralmente, recoberto por cerdas longas (ALBUQUERQUE, 2009). Após completar o desenvolvimento larval, os indivíduos do 3º instar confeccionam um casulo esférico que contém numerosas camadas de fios finos de seda firmemente aderidos em função de proteger no seu interior a fase de pupa do inseto (GEPP, 1984; CANARD et al., 1984). A pupa é exarada (com apêndices visíveis) e de cor verde, mas tem anteriormente a etapa de prepupa, a qual compreende o período desde a confecção do casulo até a última ecdise larval ocorrida ainda no interior deste, e é caracterizada pela presença da exúvia, vista como um enegrecimento em forma de disco em uma das extremidades do casulo; que evidenciam o acúmulo de resíduos metabólicos produzidos durante o desenvolvimento larval-pupal (ALBUQUERQUE, 2009).

Ao completar a fase de pupa, o adulto farato ou pupa móvel, emerge do casulo por meio de uma abertura circular, e passa pela última ecdise ou estágio imaginal, na qual o adulto atinge sua maturidade, expulsa a exúvia larval em forma de mecônio dentro do casulo pupal e finalmente, adquire asas expandidas e funcionais (ALBUQUERQUE, 2009). Os crisopídeos adultos, medem de 10 a 15 mm de comprimento, são predominantemente verdes, com dois pares de asas membranosas apresentando nervosidades, antenas finas e longas comumente maiores que as asas, três pares de pernas ambulatórias e olhos grandes iridescentes (ALBUQUERQUE, 2009).

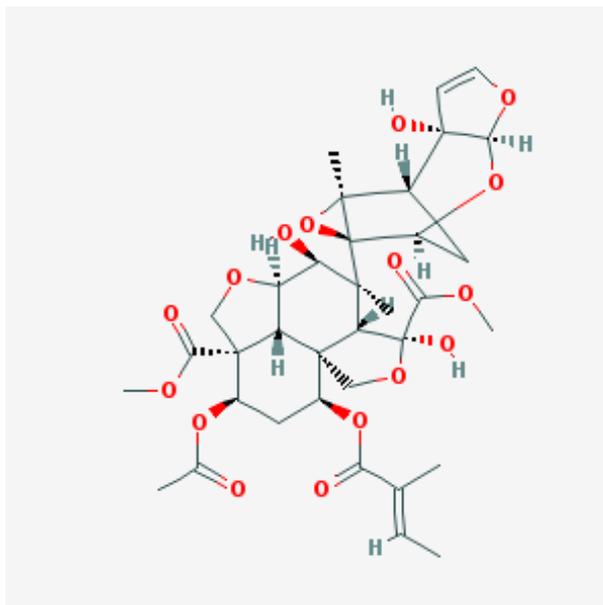
A transição dos estágios imaturos até a fase adulta é controlada por dois hormônios morfogenéticos, o hormônio juvenil (HJ) e a 20-hidroxiecdisona (20E), os quais regulam todos os processos de desenvolvimento pós-embrionário, incluindo ecdises, metamorfose e transformações pupa-adulto. Especificamente, o hormônio 20E, do tipo ecdisteróide, induz a ecdise enquanto o HJ determina o tipo de ecdise (larval-larval ou larval-pupal) (TRUMAN; RIDDIFORD, 2002; YAMANAKA et al., 2013).

É importante destacar que o inseto apresenta diferentes hábitos alimentares durante o seu ciclo de vida. No estágio adulto, os Crisopídeos são glicopolínívoros, ou seja, alimentam-se de pólen, néctar e/ou “*honeydew*” (uma excreção dos membros da subordem *Sternorrhyncha: Hemiptera*) (SOUZA et al., 1996; ALBUQUERQUE, 2009). No estágio de larva, o seu hábito alimentar é unicamente polífago, tendo que consumir insetos pragas para completar o desenvolvimento dos seus estágios imaturos, sendo então considerados eficientes predadores (ALBUQUERQUE, 2009).

Pelo fato de *C. claveri* ser um importante predador de pragas fitófagas pertencentes aos agroecossistemas neotropicais, esses insetos contribuem para o controle da densidade populacional dessas pragas no campo e a sua preservação para manter o equilíbrio ecológico se faz muito necessária (ONO et al., 2017). Assim, ao ser incluído dentro dos programas de MIP, juntamente com o controle químico, busca-se o uso de produtos mais seguros para o ambiente e que não causem a eliminação das espécies predadoras (SCHMUTTERER, 1990; LIU; CHEN, 2000; ONO et al., 2017). Neste sentido, inseticidas de origem natural, também chamados de biopesticidas, têm sido muito estudados e têm alcançado boa aceitação devido à contribuição para a redução da dependência aos pesticidas sintéticos convencionais, sobretudo pela rápida degradação no ambiente (REGNAULT-ROGER et al., 2012).

### Bioinseticidas e azadiractina

Entre os inseticidas de origem vegetal atualmente utilizados na agricultura, destacam-se aqueles que contêm a azadiractina (Fig. 2) como princípio ativo, substância obtida das folhas e sementes de *Azadirachta indica*, popularmente conhecida por “Nim”. Desde a sua descoberta em 1966, a azadiractina tem sido estudada por apresentar elevado potencial de inseticida e acaricida, com diferentes mecanismos de ação sobre insetos pragas (MORGAN; THORTON, 1973; MORDUE (LUNTZ); NISBET, 2000; SIDDIQUI et al., 2004; MORGAN, 2009). Devido à mínima ou nula toxicidade induzida em vertebrados de modo geral, e baixa persistência no ambiente, esta substância é considerada “eco-saudável”. Os principais efeitos inseticidas são: atividade anti-alimentar e a ação direta de regulador do crescimento (MITCHELL et al., 1997; MORDUE (LUNTZ); NISBET, 2000; AGGARWAL; BRAR, 2006; MORGAN, 2009).



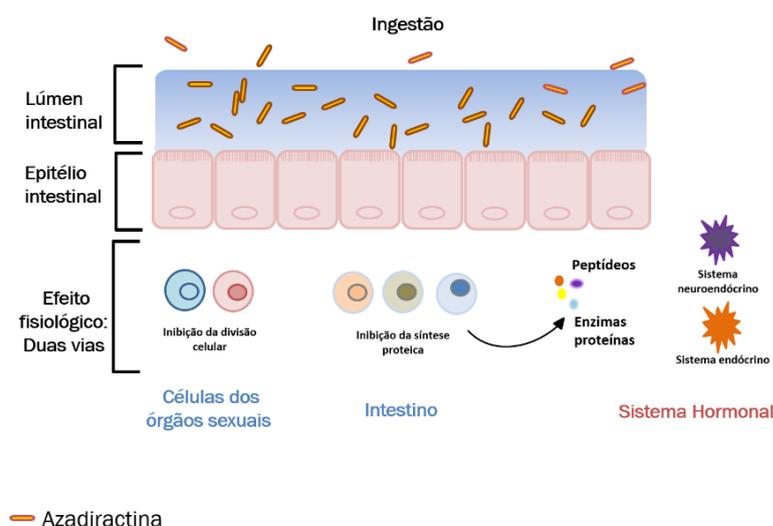
**Figura 2.** Estrutura química 2D da Azadiractina. Fonte: PUBCHEM/NCBI.

O inseto que ingere azadiractina não morre imediatamente, mas devido ao efeito anti-alimentar, o inseto cessa sua alimentação, o que o leva a morte por inanição (MORDUE (LUNTZ et al., 1996). Desta forma, o composto pode causar diversos efeitos sub-letais, tais quais: atraso no desenvolvimento larval e/ou pupal, ecdise incompleta, presença de larvas permanentes, de pupas e adultos malformados, e diferentes efeitos sobre o ciclo reprodutivo dos insetos (SCHMUTTERER, 1990; NASIRUDDIN; MORDUE (LUNTZ), 1993; MORDUE (LUNTZ); NISBET, 2000; AGGARWAL; BRAR, 2006; MORGAN, 2009; ALMEHMADI, 2011).

De modo geral, a azadiractina pode causar desregulação generalizada dos processos fisiológicos do inseto (MORGAN, 2009). O efeito patológico ocorre principalmente, pela indução de interferência no funcionamento normal dos sistemas endócrino e neuroendócrino (MEURANT et al., 1994; SAYAH, 2002). Tem sido demonstrado, que o mecanismo de ação pode ser considerado multifatorial, por envolver vários outros mecanismos subsequentes (Fig. 3). Um dos efeitos baseia-se no bloqueio da liberação de neuropeptídeos precursores de hormônios, que tem a função do controle da síntese e liberação dos hormônios por parte das glândulas endócrinas, especificamente do 20E, que é regulado pelas glândulas pro-torácicas do inseto. Portanto, a azadiractina, bloqueia paralelamente a síntese e a liberação do HJ na hemolinfa, a qual também é dependente da liberação desses neuropeptídeos (MORDUE et al., 2005). A azadiractina também interfere na biosíntese de ecdisteroides, pois afeta a conversão do hormônio ecdisônio (20E) em 20-hidroxiecdisona, sua forma mais ativa

fisiologicamente. Além disso, os diferentes compostos do óleo de nim, inibem a atividade da ecdisona 20-monooxigenase, enzima responsável pela conversão da 20E (MITCHELL et al., 1997; MORDUE et al., 2005).

A alteração no sistema hormonal do inseto tem sido associada à ação da azadiractina, a qual atua como antagonista do hormônio ecdisono, além de interagir com o receptor celular da ecdisona. Portanto, essa interação produz alteração em todos os eventos moleculares subsequentes, os quais ainda não foram totalmente esclarecidos (SOIN et al., 2010; LI et al., 2004). Desta forma, as alterações no sistema endócrino e neuroendócrino do inseto leva a muitas alterações nos órgãos vitais dependentes deste controle hormonal, dentre eles, os órgãos reprodutores (MORGAN, 2009; LAI et al., 2014). Alguns autores classificam o conjunto dessas manifestações/alterações morfológicas à síndrome de toxicidade generalizada, causada pela azadiractina na ecdise do inseto (LAI et al., 2014; BEZZAR-BENDJAZIA et al., 2016).



**Figura 3.** Esquematização do modo de ação da azadiractina após ingestão segundo Mordue et al. (2005). Fonte: Própria.

Os outros efeitos associados à azadiractina, acontecem em dois tipos de células que são principalmente consideradas as células alvo da molécula. A azadiractina inibe a atividade celular em regiões dos órgãos responsáveis pela síntese de enzimas, no caso do intestino atua inibindo a produção de enzimas digestivas e de detoxificação por parte das células colunares (MORDUE et al., 2005). Este composto também atua sobre as células com alta taxa de

divisão celular como é o caso de células ovarianas, inibindo também a atividade desse tipo de células (MORDUE et al., 2005).

A toxicidade da azadiractina tem direcionado diversas pesquisas em insetos não-alvos como os crisopídeos, tendo em vista os diferentes efeitos subletais demonstrados nessas espécies de insetos (MEDINA et al., 2004; GHAZAWI et al., 2007). Existe a recomendação de que o uso desses compostos naturais seja altamente controlado em culturas nas quais se utiliza o biopesticida associado ao controle biológico de pragas no MIP (SANTOS et al., 2015). Alterações morfofisiológicas em órgãos reprodutores e no intestino de várias espécies de insetos têm permitido demonstrar que o efeito generalizado desse biopesticida pode também se apresentar nos inimigos naturais (MEDINA et al., 2003; MEDINA et al., 2004; GAZHAWI et al., 2007; SCUDELER; SANTOS, 2013; SCUDELER; SANTOS, 2014). O óleo de nim mostrou-se tóxico à espécie *Ceraeochrysa claveri* em diferentes abordagens (SCUDELER; SANTOS, 2013; SCUDELER; SANTOS, 2014; SCUDELER et al., 2014; SCUDELER et al., 2016; GARCIA et al., 2019).

Embora estudos demonstrem a eficácia de biopesticidas com o princípio ativo azadiractina (SCHMUTTERER, 1990; NASIRUDDIN; MORDUE (LUNTZ), 1993; MORDUE (LUNTZ); NISBET, 2000; AGGARWAL & BRAR, 2006; MORGAN, 2009; ALMEHMADI, 2011; JASMINE et al., 2012, RIBEIRO et al., 2014; CÉSPEDES et al., 2014), poucos são aqueles voltados para os efeitos deste composto ativo no desenvolvimento de insetos não-alvos. Desta forma, a investigação e o conhecimento dos efeitos de biopesticidas em espécies não-alvos sob diferentes condições (laboratoriais, semi-campo e no campo) são de grande importância para o conhecimento do mecanismo de ação desses compostos nas culturas e nos agroecossistema em que se faz uso do controle biológico de pragas.

A molécula da azadiractina tem sido estudada também pelo seu potencial genotóxico; sugerindo danos no DNA e aberrações cromossômicas após exposição à produtos associados ao neem (AWASTHY et al., 1995; KHAN; AWASTHY, 2003; CHANDRA; KHUDA-BUKHSH, 2004; PACKIAM et al., 2015; DUMAN; ALTUNTAŞ, 2018). Um dos mecanismos moleculares de ação da azadiractina é a inibição ou alteração da transcrição ou tradução de proteínas expressas em estágios específicos do ciclo celular (MORDUE et al., 2005). Ao inibir especificamente a transcrição de proteínas que participam da síntese e montagem do sistema de microtúbulos celular altera-se conseqüentemente diferentes eventos mitóticos (MORDUE et al., 2005). Neste sentido, considera-se que azadiractina

inibe a proliferação celular; pois ao não se dar a montagem correta dos microtúbulos as células são induzidas à apoptose (MORDUE (LUNTZ) et al., 2005). Essas alterações no ciclo celular induzem a quebras na fita cromossômica ou podem também produzir distúrbios do fuso mitótico levando conseqüentemente ao desenvolvimento de efeitos genotóxicos tardios (AWASTHY et al., 1995).

A maioria dos métodos utilizados para identificar uma resposta celular induzida pela azadiractina é de avaliação toxicológica clássica utilizando-se biomarcadores histológicos, morfológicos e fisiológicos (LAI et al., 2014). Contudo, a técnica de avaliação de danos no DNA (teste do cometa) vem sendo uma opção para elucidar o mecanismo de ação de compostos ricos em azadiractina, tais como o Azamax™ (JHA, 2008; AUGUSTYNIAK et al., 2016).

Atualmente, várias formulações comerciais com base na azadiractina estão disponíveis para utilização na agricultura, entre as quais Azadirex®, Neemix®, Neemix® nos Estados Unidos e NeemAzal T/S e o NeemAzal F disponíveis na Alemanha, Austria, Italia, Espanha, Holanda e India, onde existem mais de 20 formulações comerciais derivadas do óleo de nim (MORGAN, 2009). No Brasil, utiliza-se uma formulação de concentrado emulsionável denominada Azamax™, (UPL e *United Phosphorus* do Brasil Ltda., Indianópolis, SP, Brasil) que é autorizada para o controle de pragas artrópodes em diferentes culturas e sistemas de produção (Agrofit, 2016). A formulação do Azamax™ tem tido crescente aceitação no mercado pelo fato de reduzir as desvantagens do extrato puro da azadiractina, como o curto período residual e a possível resistência para certos insetos pragas. O Azamax™ é um concentrado emulsificável composto por limonóides, tendo a azadiractina como o principal, e o 3-tigloylazadirachtol em menor quantidade (SANTOS et al., 2015).

O direcionamento de novas pesquisas que permitam detalhar as características toxicológicas do Azamax™, hoje considerado “moderadamente tóxico e com mecanismo de ação desconhecido” (MAPA, 2018), é fundamental, segundo o *Guidelines for Reproductive Toxicity Risk Assessment* da EPA (US Environmental Protection Agency) (1996), para avaliar o risco toxicológico e estabelecer o potencial reprotóxico do composto químico, considerando, quando for possível, outras manifestações de toxicidade como a genotoxicidade ou mutagênese e outras formas de toxicidade sistêmica geral (EPA, 1996).

## References

Abedi, Z., Saber, M., Gharekhani, G., Mehrvar, A., Kamita, S.G., 2014. Lethal and sublethal effects of azadirachtin and cypermethrin on *Habrobracon hebetor* (Hymenoptera: Braconidae). *J. Econ. Entomol.* 107, 638e645.

Agrofit, 2018. Sistema de Agrotóxicos Fitossanitários e Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, Brasil.

[http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit\\_cons/principal\\_agrofit\\_cons](http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons) (Accessed 26 June 201.).

Albuquerque GS, Tauber CA, Tauber MJ. *Chrysoperla externa* and *Ceraeochrysa* spp.: potential for biological control in the New World tropics and subtropics. In: McEwn PK, New TR, Whittington AE (eds) *Lacewings in the crop environment*. Cambridge University Press, Cambridge, 2001, 408-423.

Anuradha, A., Annadurai, R. S., & Shashidhara, L. S. (2007). Actin cytoskeleton as a putative target of the neem limonoid Azadirachtin A. *Insect biochemistry and molecular biology*, 37(6), 627-634.

Asaduzzaman, M., Shim, J. K., Lee, S., & Lee, K. Y. (2016). Azadirachtin ingestion is lethal and inhibits expression of ferritin and thioredoxin peroxidase genes of the sweetpotato whitefly *Bemisia tabaci*. *Journal of Asia-Pacific Entomology*, 19(1), 1-4.

Barbosa, W. F.; De Meyer, L.; Guedes, R. N. C.; Smagghe, G. Lethal and sublethal effects of azadirachtin on the bumblebee *Bombus terrestris* (Hymenoptera: Apidae). *Ecotoxicology*, v. 24(1), 130-142, 2015.

Bernardes, R. C., Barbosa, W. F., Martins, G. F., Lima, M. A. P., 2018. The reduced-risk insecticide azadirachtin poses a toxicological hazard to stingless bee *Partamona helleri* (Friese, 1900) queens. *Chemosphere*. 201, 550-556.

- Bezzar-bendjazia, R., Kilani-morakchi, S., Aribi, N., 2016. Larval exposure to azadirachtin affects fitness and oviposition site preference of *Drosophila melanogaster*. *Pestic. Biochem. Physiol.* 133, 85-90
- Biondi A, Desneux N, Siscaro G, Zappalà L. Using organic-certified rather than synthetic pesticides may not be safer for biological control agents: Selectivity and side effects of 14 pesticides on the predator *Orius laevigatus*. *Chemosphere* 2012; 87:803-812.
- Blaney, W. M., Simmonds, M. S. J., Ley, S. V., Anderson, J. C., Toogood, P. L., Antifeedant effects of azadirachtin and structurally related compounds on lepidopterous larvae. *Entomologia Exp. Appl.*, 55 (1990) 149-60.
- Boulahbel, B., Aribi, N., Kilani-Morakchi, S., & Soltani, N. (2015). Insecticidal activity of azadirachtin on *Drosophila melanogaster* and recovery of normal status by exogenous 20-hydroxyecdysone. *African Entomology*, 23(1), 224-234.
- Charbonneau, C., Côté, R., Charpentier, G., 2007. Effects of azadirachtin and of simpler epoxy-alcohols on survival and behaviour of *Galleria mellonella* (Lepidoptera). *J. Appl. Entomol.* 131, 447e452.
- Cruickshank, W. J. The ultrastructure and functions of the ovariole sheath and tunica propria in the flour moth. *Journal of Insect Physiology*, v. 19(3), p. 577-592, 1973.
- De Freitas S, Penny ND. The green lacewings (Neuroptera: Chrysopidae) of Brazilian agroecosystems. *Proceedings of California Academy of Sciences* 2001; 52(19):245-395.
- Dos Santos Silva, C. T.; Wanderley-Teixeira, V.; Da Cunha, F. M., De Oliveira, J. V.; De Andrade Dutra, K.; Navarro, D. M. D. A. F.; Teixeira, Á. A. C. Biochemical parameters of *Spodoptera frugiperda* (JE Smith) treated with citronella oil (*Cymbopogon winterianus* Jowitt ex Bor) and its influence on reproduction. *Acta histochemica*, v. 118(4), p. 347-352, 2016.

Feder, D., Valle, D., Rembold, H., & Garcia, E. S. (1988). Azadirachtin-induced sterilization in mature females of *Rhodnius prolixus*. *Zeitschrift für Naturforschung C*, 43(11-12), 908-913.

Garbiec, A.; Kubrakiewicz, J. Differentiation of follicular cells in polytrophic ovaries of Neuroptera (Insecta: Holometabola). *Arthropod structure & development*, v. 41(2), p. 165-176, 2012.

Garcia, A.S.G., Scudeler, E.L., Pinheiro, P.F.F., dos Santos, D. C., 2018. Can exposure to neem oil affect the spermatogenesis of predator *Ceraeochrysa claveri*?. *Protoplasma*. 256, 693-701.

Garzón, A., Medina, P., Amor, F., Viñuela, E., Budia, F. (2015). Toxicity and sublethal effects of six insecticides to last instar larvae and adults of the biocontrol agents *Chrysoperla carnea* (Stephens) (Neuroptera: Chrysopidae) and *Adalia bipunctata* (L.) (Coleoptera: Coccinellidae). *Chemosphere*, 132, 87-93.

Gastelbondo-Pastrana, B., Fernandes, F. H., Salvadori, D. M. F., & dos Santos, D. C. (2019). The comet assay in *Ceraeochrysa claveri* (Neuroptera: Chrysopidae): A suitable approach for detecting somatic and germ cell genotoxicity induced by agrochemicals. *Chemosphere*. 235:70-75

Ghazawi, N. A.; El-Shranoubi, E. D.; El-Shazly, M. M.; Rahman, K. A. Effects of azadirachtin on mortality rate and reproductive system of the grasshopper *Heteracris littoralis* Ramb. (Orthoptera: Acrididae). *Journal of Orthoptera Research*, p. 57-65, 2007.

Giorgi, F., Yin, C. M., & Stoffolano Jr, J. G. (1990). Structural aspects of ovarian sheaths in *Phormia regina* (Meigen) (Diptera, Calliphoridae). *Italian Journal of Zoology*, 57(1), 11-19.

Grimalt, S., Thompson, D., Chartrand, D., Mcfarlane, J., Helson, B., Lyons, B., Meating, J., Scarr, T., 2011. Foliar residue dynamics of azadirachtins following direct stem injection into white and green ash trees for control of emerald ash borer. *Pest Manag. Sci.* 67, 1277e1284.

Guedes, R.N.C., Smagghe, G., Stark, J.D., Desneux, N., 2016. Pesticide-induced stress in arthropod pests for optimized integrated pest management programs. *Annu. Rev. Entomol.* 61, 43e62

Kraiss, H., & Cullen, E. M. (2008). Insect growth regulator effects of azadirachtin and neem oil on survivorship, development and fecundity of *Aphis glycines* (Homoptera: Aphididae) and its predator, *Harmonia axyridis* (Coleoptera: Coccinellidae). *Pest Management Science: formerly Pesticide Science*, 64(6), 660-668.

Lai, D.; Jin, X., Wang, H.; Yuan, M.; Xu, H. Gene expression profile change and growth inhibition in *Drosophila* larvae treated with azadirachtin. *Journal of biotechnology*, v. 185, p. 51-56, 2014.

Medina, P., Budia, F., Tirry, L., Smagghe, G., & Vinuela, E. (2001). Compatibility of spinosad, tebufenozide and azadirachtin with eggs and pupae of the predator *Chrysoperla carnea* (Stephens) under laboratory conditions. *Biocontrol Science and Technology*, 11(5), 597-610.

Medina, P.; Budia, F.; Del Estal, P.; Vinuela, E. Influence of azadirachtin, a botanical insecticide, on *Chrysoperla carnea* (Stephens) reproduction: toxicity and ultrastructural approach. *Journal of Economic Entomology*, v. 97(1), p. 43-50, 2004.

Medina, P.; Smagghe, G.; Budia, F.; Tirry, L.; Viñuela, E. Toxicity and absorption of azadirachtin, diflubenzuron, pyriproxyfen, and tebufenozide after topical application in predatory larvae of *Chrysoperla carnea* (Neuroptera: Chrysopidae). *Environmental Entomology*, 32(1), 196-203, 2003.

Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento [WWW Document], 2018. URL [http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit\\_cons/principal\\_agrofit\\_cons](http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons) (Accessed 26 June 2018).

- Min- Li, Z., & Shin-Foon, C. (1987). The effects of azadirachtin on the ecdysteroid titre in the larvae of *Ostrinia furnacalis* Guenée. *Journal of Applied Entomology*, 103(1- 5), 355-359.
- Mordue (Luntz) AJ, Nisbet AJ. Azadirachtin from the Neem Tree *Azadirachta indica*: its action against insects. *Anais da Sociedade Entomologica do Brasil* 2000; 29(4):615-632.
- Mordue (Luntz) AJ, Simmonds MSJ, Ley SV, Blaney WM, Mordue W, Nasiruddin M, et al. Actions of Azadirachtin, a plant allelochemical, against insects. *Pesticide Science* 1998; 54(3):277-284.
- Mordue, A.J., Morgan, E.D., Nisbet, A.J., 2005. Azadirachtin, a natural product in insect control, in: Gilbert, L.L., Gill, S.S. (Eds.), *Comprehensive Insect Physiology, Biochemistry and Pharmacology*. Elsevier, Amsterdam, pp. 117-135.
- Morgan, E.D., 2009. Azadirachtin, a scientific gold mine. *Bioorg. Med. Chem.* 17, 4096-4105.
- Pappas, M.L., Broufas, G.D., Koveos, D.S., 2011. Chrysopid predators and their role in biological control. *J. Entomol.* 8(3), 301–326.
- Qiao, J., Zou, X., Lai, D., Yan, Y., Wang, Q., Li, W., ... & Gu, H. (2013). Azadirachtin blocks the calcium channel and modulates the cholinergic miniature synaptic current in the central nervous system of *Drosophila*. *Pest management science*, 70(7), 1041-1047.
- Rimoldi F, Schneider MI, Ronco AE (2012) Short and Long-term effects of endosulfan, cypermethrin, spinosad, and methoxyfenozide on adults of *Chrysoperla externa* (Neuroptera: Chrysopidae). *J Econ Entomol* 105:1982–1987
- Rogers, M. A.; Krischik, V. A.; Martin, L. A. Effect of soil application of imidacloprid on survival of adult green lacewing, *Chrysoperla carnea* (Neuroptera: Chrysopidae), used for biological control in greenhouse. *Biological Control*, v. 42(2), p. 172-177, 2007.

Sánchez-Ramos, I., Pascual, S., Marcotegui, A., Fernández, C.E., González-Núñez, M., 2014. Laboratory evaluation of alternative control methods against the false tiger, *Monosteira unicostata* (Hemiptera: Tingidae). *Pest Manag. Sci.* 70, 454e461.

Santos, M. S., Zanardi, O. Z., Pauli, K. S., Forim, M. R., Yamamoto, P. T., & Vendramim, J. D. (2015). Toxicity of an azadirachtin-based biopesticide on *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Liviidae) and its ectoparasitoid *Tamarixia radiata* (Waterston) (Hymenoptera: Eulophidae). *Crop Protection*, 74, 116-123.

Schmutterer, H. & Rembold, H. 1995. *Neem tree-source of unique natural products for integrated pest management, medicine industry and other purposes* (ed. Schmutterer, H.), VCH, Weinheim, Germany.

Schmutterer, H., 1990. Properties and potential of natural pesticides from the neem tree, *Azadirachta indica*. *Annu.Rev.Entomol.* 35, 271–297.

Scudeler, E. L.; Dos Santos, D. C. Effects of neem oil (*Azadirachta indica* A. Juss) on midgut cells of predatory larvae *Ceraeochrysa claveri* (Navás, 1911) (Neuroptera: Chrysopidae). *Micron*, v. 44, 125-132, 2013.

Scudeler, E. L.; Garcia, A. S. G.; Padovani, C. R.; Pinheiro, P. F. F.; Santos, D. C. Are the biopesticide neem oil and the predator *Ceraeochrysa claveri* (Navás, 1911) compatible?. *Journal of Entomology and Zoology Studies*, v, 4(2), p. 340-346, 2016.

Scudeler, E. L.; Padovani, C. R.; Dos Santos, D. C. Effects of neem oil (*Azadirachta indica* A. Juss) on the replacement of the midgut epithelium in the lacewing *Ceraeochrysa claveri* during larval-pupal metamorphosis. *Acta histochemica*, v. 116(5), p. 771-780, 2014.

Scudeler, E. L.; Santos, D. C. Side effects of neem oil on the midgut endocrine cells of the green lacewing *Ceraeochrysa claveri* (Navás) (Neuroptera: Chrysopidae). *Neotropical entomology*, v. 43(2), p. 154-160, 2014.

Scudeler, E.L., Garcia, A.S.G., Padovani, C.R., dos Santos, D. C., 2019. Pest and natural enemy: how the fat bodies of both the southern armyworm *Spodoptera eridania* and the predator *Ceraeochrysa claveri* react to azadirachtin exposure. *Protoplasma*. 256, 839-856.

Tanzubil, P. B.; McCaffery, A. R. (1990). Effects of azadirachtin on reproduction in the African armyworm (*Spodoptera exempta*). *Entomologia experimentalis et applicata*, 57(2), 115-121.

Weathersbee, A.A., McKenzie, C.L., 2005. Effect of neem biopesticide on repellency, mortality, oviposition and development of *Diaphorina citri* (Homoptera: Psyllidae). *Fla. Entomol.* 88, 401e407.

Wikteliu, S.; Chiverton, P. A.; Meguenni, H.; Bennaceur, M.; Ghezal, F.; Umeh, E. N.; Tinzaara, W. Effects of insecticides on non-target organisms in African agroecosystems: a case for establishing regional testing programmes. *Agriculture, ecosystems & environment*, v.75(1-2), p. 121-131, 1999.

Zhang, J., Sun, T., Sun, Z., Li, H., Qi, X., Zhong, G., & Yi, X. (2018). Azadirachtin acting as a hazardous compound to induce multiple detrimental effects in *Drosophila melanogaster*. *Journal of hazardous materials*, 359, 338-347.

## *5. CONCLUSÕES*

---

- A ingestão indireta do biopesticida Azamax™ durante a fase larval de *C. claveri* induz efeitos genotóxicos no ovário e no intestino de fêmeas adultas, com lesões celulares severas nas células germinativas e somáticas dos ovários de fêmeas de um dia de idade sobrevivente ao período de exposição;

- A exposição de *C. claveri* ao Azamax™ ocasiona significativos efeitos em sua biologia e desenvolvimento, impactando negativamente na duração das fases do ciclo de vida do inseto, na construção dos casulos, e conseqüentemente, afetando a sobrevivência do inseto.