

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

AMANDA ROSA CUSTÓDIO DE OLIVEIRA

CUSTO ADAPTATIVO E RESISTÊNCIA À ALTA TEMPERATURA DE *Lipaphis
pseudobrassicae* (DAVIS, 1914) (HEMIPTERA: APHIDIDAE) RESISTENTE
AO PARASITOIDE *Diaeretiella rapae* (McINTOSH, 1855)
(HYMENOPTERA: BRACONIDAE, APHIDIINAE)

UBERLÂNDIA/MG
2016

AMANDA ROSA CUSTÓDIO DE OLIVEIRA

CUSTO ADAPTATIVO E RESISTÊNCIA À ALTA TEMPERATURA DE *Lipaphis pseudobrassicae* (DAVIS, 1914) (HEMIPTERA: APHIDIDAE) RESISTENTE AO PARASITOIDE *Diaeretiella rapae* (McINTOSH, 1855) (HYMENOPTERA: BRACONIDAE, APHIDIINAE)

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Uberlândia, como parte das exigências do Programa de Pós-graduação em Agronomia – Mestrado, área de concentração em Fitotecnia, para obtenção do título de “Mestre”.

Orientador

Prof. Dr. Marcus Vinícius Sampaio

UBERLÂNDIA/MG
2016

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Sistema de Bibliotecas da UFU, MG, Brasil.

O48c
2016 Oliveira, Amanda Rosa Custódio de, 1989-
Custo adaptativo e resistência à alta temperatura de *Lipaphis pseudobrassicae* (Davis, 1914) (Hemiptera: Aphididae) resistente ao parasitoide *Diaeretiella rapae* (McIntosh, 1855) (Hymenoptera: Braconidae, Aphidiinae) / Amanda Rosa Custódio de Oliveira. - 2016.
42 f. : il.

Orientador: Marcus Vinícius Sampaio.
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Uberlândia,
Programa de Pós-Graduação em Agronomia.
Inclui bibliografia.

1. Agronomia - Teses. 2. Afídeo - Teses. 3. Crucífera - Teses.
4. Simbiose - Teses. I. Sampaio, Marcus Vinícius. II. Universidade
Federal de Uberlândia, Programa de Pós-Graduação em Agronomia.
III. Título.

CDU: 631

AMANDA ROSA CUSTÓDIO DE OLIVEIRA

CUSTO ADAPTATIVO E RESISTÊNCIA À ALTA TEMPERATURA DE *Lipaphis pseudobrassicae* (DAVIS, 1914) (HEMIPTERA: APHIDIDAE) RESISTENTE AO PARASITOIDE *Diaeretiella rapae* (McINTOSH, 1855) (HYMENOPTERA: BRACONIDAE, APHIDIINAE)

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Uberlândia, como parte das exigências do Programa de Pós-graduação em Agronomia – Mestrado, área de concentração em Fitotecnia, para obtenção do título de Mestre.

APROVADA em 30 de junho de 2016.

Dra. Ana Paula Korndörfer

UFU

Prof. Dr. Jader Braga Maia

UFU

Prof. Dra. Marina Robles Angelini

IFTM

Prof. Dr. Marcus Vinicius Sampaio
ICIAG/UFU
(Orientador)

UBERLÂNDIA/MG
2016

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço a Deus, por sempre me guiar e mostrar os melhores caminhos; mesmo diante de dificuldade, me amparou e me concedeu força e coragem para seguir em frente.

Aos meus pais, Antônio e Ana, por todo amor incondicional e por serem meus exemplos de humildade, força e fé.

Ao meu esposo Adriano, pelo companheirismo, principalmente nos momentos mais difíceis, nos quais pensei em desistir. Obrigada pelo amor, pela amizade e por sempre acreditar que eu sou capaz.

À minha filha, Manuela, o meu amor mais puro e bonito, a minha inspiração, a minha paz, o meu impulso e a minha força. Obrigada por existir em minha vida.

Aos meus irmãos, Ana Paula, Adriana e Alexandre, que sempre torceram pelo meu sucesso.

Aos colegas do LACOB-UFU, Lohayne, Carolinne, Edmundo, Paula e Jader, pela colaboração e amizade durante esses anos.

Ao Prof. Dr. Marcus Vinícius Sampaio, pela orientação, pelos ensinamentos transmitidos e pela paciência.

Aos membros da banca examinadora, Prof. Dr. Jader Braga Maia, Profa. Dra. Marina Robles Angelini e Dra. Ana Paula Korndörfer, pela disponibilidade e pelos ensinamentos.

Aos órgãos de fomento de pesquisa: CAPES, pela bolsa; FAPEMIG, pelo apoio financeiro ao Projeto nº BPD-00624-14; e CNPq, pelo apoio financeiro ao Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia dos Hymenoptera Parasitoides da Região Sudeste Brasileira.

SUMÁRIO

RESUMO.....	i
ABSTRACT.....	ii
1 INTRODUÇÃO GERAL.....	1
2 OBJETIVOS	4
3 REVISÃO DE LITERATURA.....	5
3.1 Pulgões em brássicas.....	5
3.2 Biologia do parasitoide <i>Diaeretiella rapae</i>	7
3.3 Resistência do hospedeiro ao parasitoide.....	8
3.4 Endossimbiontes dos pulgões	10
3.4.1 Endossimbionte primário.....	10
3.4.2 Endossimbiontes secundários.....	11
3.5 Custo adaptativo da resistência	13
3.6 Altas temperaturas.....	15
4 MATERIAL E MÉTODOS	17
4.1 Produção de mudas	17
4.2 Obtenção e multiplicação dos pulgões e dos parasitoides	17
4.3 Seleção de clones resistentes.....	18
4.4 Seleção de indivíduos resistentes e suscetíveis de um mesmo clone.....	19
4.5 Efeito do choque térmico no desenvolvimento e reprodução de pulgões <i>L. pseudobrassicae</i> resistentes e suscetíveis ao parasitoide <i>D. rapae</i>	20
4.5.1 Biologia de <i>L. pseudobrassicae</i>	20
4.5.2 Tabela de Vida de Fertilidade.....	22
4.5.3 Perda da resistência após o choque térmico	22
4.5.4 Análise dos dados	23
5 RESULTADOS	24
5.1 Biologia de <i>Lipaphis pseudobrassicae</i>	24
5.2 Tabela de Vida de Fertilidade de <i>L. pseudobrassicae</i>	27
5.3 Perda da resistência após o choque térmico	30
6 DISCUSSÃO	32
7 CONCLUSÕES	35
REFERÊNCIAS.....	36

RESUMO

OLIVEIRA, Amanda Rosa Custódio de. **Custo adaptativo e resistência à alta temperatura de *Lipaphis pseudobrassicae* (Davis) (Hemiptera: Aphididae) resistente ao parasitoide *Diaeretiella rapae* (McIntosh) (Hymenoptera: Braconidae, Aphidiinae).** 2016. 54 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia/Fitotecnia) – Instituto de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2016.¹

Endossimbiontes secundários têm sido apontados como os causadores da resistência de pulgões aos parasitoides e do aumento da tolerância dos pulgões ao calor. Porém, os simbiontes podem ser eliminados por altas temperaturas, fazendo com que insetos resistentes se tornem suscetíveis aos parasitoides. A resistência ao parasitoide pode gerar custos adaptativos, como redução da fecundidade e da longevidade. Os objetivos deste trabalho foram verificar se há custo adaptativo para o *Lipaphis pseudobrassicae* (Davis) resistente ao parasitoide *Diaeretiella rapae* (McIntosh) em temperatura ótima para o desenvolvimento do pulgão, observar se a resistência aumenta a tolerância ao calor e analisar se essa resistência se mantém após choque térmico a alta temperatura. Em laboratório, foram formados quatro grupos de *L. pseudobrassicae* obtidos de três clones (C1, C2 e C3). Um dos clones originou dois grupos, um com indivíduos resistentes (C1R) e outro com indivíduos suscetíveis (C1S) a *D. rapae*. Os outros dois grupos foram formados por clones resistentes ao parasitoide (C2R e C3R). Para cada grupo, seis placas de Petri (5 cm), cada qual contendo vinte ninfas de primeiro instar, foram mantidas em temperatura ótima para desenvolvimento do inseto (22 °C) e seis placas receberam choque térmico a alta temperatura (37 °C) por uma hora. Após esse período, os insetos foram mantidos a 22 °C em placas de Petri (5 cm) contendo um disco foliar de couve sobre uma camada de ágar. Para verificar se a resistência foi mantida após o choque térmico, foram parasitadas 24 ninfas de cada grupo da terceira geração após o choque térmico. Não foi observada diferença na sobrevivência nem na fecundidade dos clones resistentes e suscetíveis em temperatura ótima para o desenvolvimento de *L. pseudobrassicae*. Os clones resistentes apresentaram maior tempo entre as gerações (T). No entanto, a taxa líquida de reprodução (R_0), a longevidade e o período reprodutivo de *L. pseudobrassicae* resistente foram maiores que os dos suscetíveis, inclusive quando comparados indivíduos resistentes e suscetíveis do mesmo clone. Não houve diferença na taxa intrínseca de aumento populacional (r_m) entre resistentes e suscetíveis. A sobrevivência de imaturos e a fecundidade de todos os clones foram reduzidas com o choque térmico. Não houve parasitismo nos clones resistentes, independentemente do choque térmico, enquanto, no clone suscetível, o parasitismo foi de 100% sem choque térmico e de 95,2% após o choque térmico. Os aspectos biológicos e parâmetros da Tabela de Vida de Fertilidade de *L. pseudobrassicae* em condições ideais para o desenvolvimento ou após o choque térmico não evidenciaram custos ou vantagens adaptativas aos pulgões resistentes a *D. rapae*. A resistência ao parasitoide foi mantida mesmo após a exposição dos pulgões a alta temperatura.

Palavras-chave: afídeo, Brassicaceae, choque térmico, endossimbiontes secundários.

¹ Orientador: Marcus Vinicius Sampaio (UFU).

ABSTRACT

OLIVEIRA, Amanda Rosa Custódio de. **Adaptative cost and resistance to high temperature of *Lipaphis pseudobrassicae* (Davis) (Hemiptera: Aphididae) resistant to parasitoid *Diaeretiella rapae* (McIntosh) (Hymenoptera: Braconidae, Aphidiinae)** 2016. 54 p. Dissertation (Master's Degree in Agronomy/Economic Botany) – Institute of Agrarian Sciences, Federal University of Uberlandia, Uberlândia, 2016.¹

Secondary endosymbionts have been pointed out as causing aphids' resistance to parasitoids and increased heat tolerance. However, symbionts can be eliminated by high temperatures, so that resistant insects become susceptible to parasitoids. Resistance to parasitoid can generate adaptive costs, such as reduced fecundity and longevity. The objectives of this study were to assess the adaptive cost for aphid *Lipaphis pseudobrassicae* (Davis) resistant to parasitoid *Diaeretiella rapae* (McIntosh) at optimum temperature for aphid development, observe if resistance increases heat tolerance and analyze if resistance diminishes after high temperature shock. Four groups obtained from three clones (C1, C2 and C3) of *L. pseudobrassicae* were formed in laboratory. One of the clones produced two groups, one with resistant individuals (C1R) and the other with individuals susceptible (C1S) to *D. rapae*. The other two groups were composed of parasitoid-resistant clones (C2R and C3R). For each group, six Petri dishes (5cm), each containing twenty first-instar nymphs, were maintained at optimum temperature for insect development (22°C), and six plates were submitted to high temperature shock (37°C) for one hour. After this period, insects were maintained at 22°C in Petri dishes (5cm) with a cabbage leaf disk over an agar layer. Aiming to verify if resistance was maintained after thermal shock, 24 nymphs from each third generation group were parasitized after thermal shock. No difference was observed in survival or fecundity of resistant and susceptible clones at optimum temperature for development of *L. pseudobrassicae*. Resistant clones showed longer generation time (T). However, net reproductive rate (R₀), longevity and reproductive period of resistant *L. pseudobrassicae* were higher than those of susceptible individuals, even when comparing resistant and susceptible individuals from the same clone. No difference in the intrinsic rate of increase (r_m) was observed between resistant and susceptible individuals. Survival of immatures and fecundity of all clones were reduced by thermal shock. Regardless of thermal shock, there was no parasitism in resistant clones; meanwhile, parasitism in susceptible clones was 100% without thermal shock and 95.2% after heat shock. Biological aspects and parameters in the Fertility Life Table of *L. pseudobrassicae* under ideal conditions for its development or after thermal shock did not show any costs or adaptive advantages to aphids resistant to *D. rapae*. Resistance to parasitoid was maintained even after exposure of aphids at high temperature.

Keywords: aphid, Brassicaceae, thermal shock, secondary endosymbionts

¹ Supervisor: Marcus Vinicius Sampaio (UFU).

1 INTRODUÇÃO GERAL

Os pulgões (Hemiptera: Aphididae) são importantes pragas de hortaliças. Devido à intensa sucção de seiva, ocasionam o amarelecimento e encarquilhamento das plantas. Também provocam a depreciação de frutos e flores pela ação de fungos que se desenvolvem em seus excrementos. Existem três espécies de pulgão de grande importância para a cultura de brássicas, quais sejam: *Myzus persicae* (Sulzer), que é uma espécie generalista; e *Brevicoryne brassicae* (L.) e *Lipaphis pseudobrassicae* (DAVIS, 1914), que são especialistas na família Brassicaceae (BLACKMAN; EASTOP, 2000).

Os pulgões são considerados pragas de elevado potencial biótico devido à sua alta capacidade de reprodução e ampla dispersão, o que dificulta o seu controle (SOUSA-SILVA; ILHARCO, 1995). Dentre as estratégias de controle que podem ser utilizadas para esses insetos inclui-se o controle biológico com o uso de parasitoides, sendo *Diaeretiella rapae* (McIntosh) (Hymenoptera: Braconidae, Aphidiinae) a espécie de maior ocorrência em pulgões que colonizam plantas na família das brássicas (HUBAIDE, 2011).

Em geral, uma população de pulgões é formada, majoritariamente, por clones suscetíveis e, minoritariamente, por uma variedade de clones com diferentes graus de resistência aos parasitoides (HENTER; VIA 1995; FERRARI et al., 2001; VON BURG et al., 2008). No entanto, resultados em campo (HUBAIDE, 2011) e em laboratório (OLIVEIRA et al., 2013, FERREIRA, 2013) apontam que a população de *L. pseudobrassicae* na região de Uberlândia-MG é formada por maioria de clones resistentes ao parasitoide *D. rapae*. Com isso, o controle biológico natural de *L. pseudobrassicae* com *D. rapae* tem sido comprometido.

A resistência dos hospedeiros aos parasitoides pode ser comportamental ou fisiológica. Na comportamental, o hospedeiro impede a deposição do ovo por meio de comportamentos agressivos ou até mesmo utilizando espécies como formigas como guardacostas (HENTER; VIA, 1995). Na resistência fisiológica, a qual ocorre após o parasitoide depositar o ovo no hospedeiro, o pulgão desenvolve uma resposta imune que garante sua sobrevivência e a morte do parasitoide.

Ferreira (2013) constatou a ausência de estruturas do parasitoide encapsuladas no interior dos pulgões, indicando que a causa da resistência de *L. pseudobrassicae* a *D. rapae*

não foi pela defesa celular. A causa da resistência está relacionada com a inviabilização e o desaparecimento dos ovos do parasitoide (OLIVEIRA et al., 2013), já observados por Henter e Via (1995), os quais relataram que, em pulgões resistentes, os ovos do parasitoide não se desenvolvem. Posteriormente, esse mecanismo foi atribuído, por Oliver et al. (2003), à associação dos pulgões resistentes a bactérias endossimbiontes secundárias.

Um grande número de artrópodes pode abrigar vários tipos de simbiontes, os quais podem ser transmitidos verticalmente. Entre os insetos, os simbiontes dos pulgões são os mais estudados. Além do endossimbionte primário *Buchnera aphidicola*, responsável por proporcionar nutrientes ao pulgão, muitas espécies de afídeos também carregam outras bactérias simbiontes facultativas (OLIVER et al., 2010). Esses simbiontes secundários podem exercer efeitos distintos sobre o hospedeiro, como adaptação às plantas resistentes, tolerância ao calor ou resistência aos parasitoides (OLIVER et al., 2010).

A resistência aos parasitoides pode ter um alto custo, pois envolve a manutenção ou a implantação de um sistema imunológico energeticamente oneroso (LOCHMILLER; DEERENBERG, 2000; ARMITAGE et al., 2003). Pouco se sabe se a resistência aos parasitoides pode acarretar um alto custo adaptativo para os pulgões, exigindo algum gasto de energia que seria utilizado na sua fecundidade ou longevidade. No entanto, a maioria dos efeitos causados pelos simbiontes é benéfica para os pulgões, favorecendo, assim, a propagação e a persistência de simbiontes nas populações de pulgões (HOSOKAWA et al., 2008).

Alguns trabalhos têm relatado que a presença de endossimbiontes secundários pode reduzir os efeitos deletérios da temperatura sobre o pulgão, que, assim, apresenta melhor aptidão quando submetido a estresse térmico do que aqueles sem a presença de bactérias facultativas (CHEN et al., 2000; MONTLOR et al., 2002; RUSSEL; MORAN, 2005). Contudo, altas temperaturas ou outras fontes de estresse podem resultar em perda de bactérias facultativas nos pulgões (OLIVER et al., 2008). Bensadia et al. (2006) relatam que, em temperaturas superiores a 25 °C, pulgões altamente resistentes se tornaram altamente suscetíveis. Mesmo assim, estudos relatando a influência de altas temperaturas na inversão da resistência do pulgão são escassos.

O presente estudo teve como objetivos verificar se há um custo adaptativo em *L. pseudobrassicae* resistente ao parasitoide *D. rapae* em temperatura ótima para o

desenvolvimento do pulgão, observar se a resistência aumenta a tolerância ao calor e analisar se essa resistência se mantém em indivíduos resistentes após choque térmico a alta temperatura.

2 OBJETIVOS

2.1 Verificar se a resistência ao parasitoide tem custo adaptativo em temperaturas ideais.

- Hipótese nula (H_0): não há diferença no desenvolvimento, mortalidade, fecundidade e Tabela de Vida Reprodutiva de *L. pseudobrassicae* resistente ou suscetível ao parasitoide *D. rapae*.

- Hipótese alternativa (H_1): pulgões *L. pseudobrassicae* resistentes ao parasitoide *D. rapae* apresentam características desfavoráveis em relação aos suscetíveis quanto ao desenvolvimento, mortalidade, fecundidade e Tabela de Vida Reprodutiva.

2.2 Observar se a resistência ao parasitoide aumenta a tolerância ao calor.

- Hipótese nula (H_0): não há diferença no desenvolvimento, mortalidade, fecundidade e Tabela de Vida Reprodutiva de *L. pseudobrassicae* resistente ou suscetível ao parasitoide *D. rapae* após choque térmico a alta temperatura.

- Hipótese alternativa (H_1): pulgões *L. pseudobrassicae* resistentes ao parasitoide *D. rapae* apresentam características favoráveis em relação aos suscetíveis quanto ao desenvolvimento, mortalidade, fecundidade e Tabela de Vida Reprodutiva após choque térmico a alta temperatura.

2.3 Analisar se a resistência se mantém quando indivíduos resistentes são expostos ao choque térmico a alta temperatura.

- Hipótese nula (H_0): *L. pseudobrassicae* resistente ao parasitoide *D. rapae* mantém a sua resistência após o choque térmico a alta temperatura.

- Hipótese alternativa (H_1): *L. pseudobrassicae* resistente ao parasitoide *D. rapae* perde a sua resistência após o choque térmico a alta temperatura.

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 Pulgões em brássicas

Os pulgões são pertencentes à ordem Hemiptera, à subordem Sternorrhyncha e às famílias Aphididae, Adelgidae e Phylloxeridae. Insetos sugadores de seiva, possuem grande importância agrícola. São considerados as principais pragas dentro da agricultura os pulgões da família Aphididae, subfamília Aphidinae e tribos Aphidini e Macrosiphini (PEÑA-MARTÍNEZ, 1992).

Os danos diretos ocasionados pelos pulgões às brássicas são devido ao seu hábito alimentar, ou seja, em função da intensa sucção de seiva, promovendo o amarelecimento e o encarquilhamento das folhas. Os danos indiretos se devem ao fato de serem importantes vetores de fitovírus e ao fato de se desenvolverem fumaginas em suas excretas, promovendo a redução da capacidade fotossintética da planta e a depreciação comercial de flores e frutos (BLACKMAN; EASTOP, 2000; PEÑA-MARTÍNEZ, 1992; SAMPAIO, 2004).

Os afídeos podem ser reconhecidos por suas características morfológicas, dentre as quais por possuírem sifúnculos, ou seja, pequenos tubos na parte dorsal e posterior do abdome que funcionam como órgãos excretadores de ferormônio de alarme. Apresentam: cinco ou seis segmentos antenais; tarsos com dois segmentos, sendo o segundo segmento maior que o primeiro; e cauda no último segmento abdominal, utilizada para eliminar gotas de suas fezes açucaradas (*honeydew*) (BLACKMAN; EASTOP, 2007).

O que diferencia os pulgões dos demais insetos da ordem Hemiptera é que, em regiões de clima mais quente, não apresentam reprodução sexuada, mas sim por partenogênese telítoca. Esse tipo de reprodução é caracterizado pelo fato de a fêmea não precisar ser fecundada pelo macho, sendo sua progênie constituída apenas de fêmeas oriundas de reprodução assexuada (BLACKMAN; EASTOP, 2007). A partenogênese telítoca permite que pulgões tenham elevado potencial biótico e fácil adaptação a diferentes condições climáticas e a diferentes plantas hospedeiras, favorecendo sua ampla distribuição mundial (DIXON, 1985).

Nas plantas da família Brassicaceae, são encontradas, basicamente, três espécies de pulgões: uma generalista, *M. persicae*; e duas especialistas, *B. brassicae* e *L. pseudobrassicae* (BLACKMAN; EASTOP, 2000). O pulgão *L. pseudobrassicae* destaca-se em importância econômica para as brássicas, sobretudo para as espécies dos gêneros *Barbarea*, *Brassica*, *Capsella*, *Erysimum*, *Iberis*, *Lepidium*, *Matthiola*, *Nasturtium*, *Raphanus*, *Rorippa*, *Sinapis*, *Sisymbrium* e *Thlaspi*. Esse pulgão é responsável pela transmissão de aproximadamente dez tipos de vírus não persistentes de plantas, incluindo o mosaico do nabo (*potyvirus*), o mosaico da couve-flor (*caulimovirus*) e o mosaico do rabanete. Trata-se de uma praga que possui ampla distribuição mundial e, frequentemente, é chamada de pulgão do nabo ou pulgão da mostarda (BLACKMAN; EASTOP, 2000; FERREIRA, 2013).

A origem de *L. pseudobrassicae* ainda não é concreta. Primeiramente, essa espécie era chamada de *B. brassicae*; porém, Davis em 1914 observou diferenças e a nomeou de *Aphis pseudobrassicae*. Em 1923, Takahashi a nomeou de *Ropalosiphum pseudobrassicae*, pois apresentava o seu sifúnculo levemente clavado. Em 1932, Börner e Schilder constataram que a espécie *R. pseudobrassicae* deveria pertencer ao gênero *Lipaphis*, pois se alimentava exclusivamente de crucíferas e possuía origem paleártica. Em 1834, Kaltenbach a descreveu como *Lipaphis erysimi*, sendo sinonímia sênior de *R. pseudobrassicae*. Contudo, com base no número de cromossomos e em estudos morfológicos mais detalhados das espécies do gênero *Lipaphis*, *L. pseudobrassicae* foi considerada diferente de *L. erysimi*. A espécie *L. erysimi* apresenta dez cromossomos e tem sua ocorrência restrita a brássicas selvagens na Europa, ou seja, não coloniza brássicas cultivadas. Já *L. pseudobrassicae* apresenta oito ou nove cromossomos e tem sua provável origem no leste asiático. Sendo assim, é bem provável que todos os relatos de ataque de *L. erysimi* a plantas cultivadas ao redor do mundo sejam referentes a *L. pseudobrassicae* (BLACKMAN; EASTOP, 2000; BLACKMAN; EASTOP, 2007; FERREIRA, 2013).

As formas ápteras de *L. pseudobrassicae* possuem tamanho pequeno a médio, coloração amarela, verde oliva ou cinza e uma pequena camada de cera branca, a qual fica maior em ambientes mais úmidos. Com comprimento que pode chegar a 2,05 mm, possuem sifúnculos de coloração escura, os quais podem ser 2,36 vezes mais compridos que a cauda, a qual apresenta uma leve constrição no ápice. Já os pulgões alados são de coloração verde

oliva, com franjas transversais nos últimos segmentos do abdome, sendo essas franjas verificadas somente após os sifúnculos em *L. pseudobrassicae*; além disso, possuem escleritos laterais escuros e conspícuos e asas com nervuras escuras.

Em geral, essa espécie de pulgão pode ocorrer em grandes colônias tanto na parte inferior das folhas como nas inflorescências de muitas brássicas (BLACKMAN; EASTOP, 2007; HUBAIDE, 2011). Contudo, Cividanes e Souza (2004) e Hubaide (2011) observaram a preferência de *L. pseudobrassicae* por folhas completamente desenvolvidas.

Considerado uma praga com elevado potencial biótico, ou seja, com alta capacidade de reprodução e ampla dispersão, seu controle é dificultado, prejudicando, em pouco tempo, a produtividade das culturas (SOUSA-SILVA; ILHARCO, 1995). Dessa maneira, para o controle de pulgões, o produtor deve associar vários métodos dentro do manejo integrado de pragas – dentre eles, o controle biológico.

No controle biológico de pulgões, os parasitoides desempenham importante papel (STARÝ, 1993). Porém, o sucesso desse tipo de controle pode ser influenciado pelo grau de especificidade entre parasitoides e hospedeiros (VAZ; TAVARES; LOMÔNACO, 2004). Os parasitoides mais utilizados são os da família Braconidae, subfamília Aphidiinae (CARVER, 1989). Segundo Starý, Sampaio e Bueno (2007), os exemplos de algumas espécies de afidiíneos com grande potencial para a utilização no Brasil são *Aphidius colemani* Viereck, *Lysiphlebus testaceipes* (Cresson) e *D. rapae*.

3.2 Biologia do parasitoide *Diaeretiella rapae*

O parasitoide *D. rapae*, pertencente à família Braconidae, subfamília Aphidiinae, apresenta mais de sessenta espécies de pulgões hospedeiros em diversas plantas, como trigo, alfafa, batata, aveia e sorgo. Tem grande afinidade com brássicas, sendo o parasitoide de maior ocorrência nos afídeos que utilizam essa família de plantas (MESCHELOFF; ROSEN, 1990; BUENO; SOUZA, 1992, 1993; PIKE et al., 1999; CIVIDANES, 2002; MUSSURY; FERNANDES, 2002; VAZ; TAVARES; LOMÔNACO, 2004; HUBAIDE, 2011; FERREIRA, 2013). Com o levantamento realizado por Cividanes (2002), *D. rapae* foi a única espécie encontrada em pulgões das brássicas. Consoante Vaughn e Antolin

(1998), existem nesses pulgões evidências da presença de sensores específicos para detectar voláteis emanados por plantas dessa família.

Na fase de larva, o parasitoide *D. rapae* possui três instares. Nos dois primeiros estágios, ele se alimenta da hemolinfa do afídeo; no último, dos tecidos (STARÝ, 1988; BUENO; SAMPAIO, 2009; FERREIRA, 2013). Já no final do desenvolvimento, a larva do parasitoide, devido às secreções produzidas em glândulas especializadas, adere-se à superfície da folha, formando a pupa do parasitoide, ao passo que o restante da epiderme do afídeo endurece e forma a múmia (STARÝ, 1988; BUENO; SAMPAIO, 2009; FERREIRA, 2013).

O período de desenvolvimento – do ovo a adulto – de *D. rapae*, em condições laboratoriais a 24 °C, é de aproximadamente 14 dias (ELLIOTT et al., 1995). O período de desenvolvimento para machos do parasitoide é maior em *B. brassicae* (12 dias) que em *L. pseudobrassicae* (11 dias) a 23 °C. Em fêmeas de *D. rapae*, o período de desenvolvimento é de 12 dias a 23 °C em *B. brassicae*, *L. pseudobrassicae* e *M. persicae* (OLIVEIRA et al., 2013). A longevidade do adulto é de 9 a 12 dias, na temperatura de 21 °C, e as fêmeas nascem com aproximadamente 50 ovos em seus ovários (BERNAL; GONZÁLEZ, 1997).

3.3 Resistência do hospedeiro ao parasitoide

Segundo definição de Henter e Via (1995), a suscetibilidade se refere ao fato de o hospedeiro permitir que o parasitismo ocorra, e a resistência se refere à limitação do parasitoide em qualquer fase do parasitismo. Em trabalho realizado em campo, Hubaide (2011) observou que o parasitismo foi muito diferente nas três espécies de pulgões de brássicas, sendo que, em *M. persicae* e *B. brassicae*, o parasitismo foi superior a 80%, enquanto, em *L. pseudobrassicae*, a quantidade de indivíduos parasitados foi inferior a 10%. Os baixos índices de parasitismo encontrados no campo foram atribuídos por Hubaide (2011) à não adequação nutricional, à preferência do parasitoide ou à resistência dessa espécie ao parasitoide.

As características de resistência podem ser comportamentais ou fisiológicas, dependendo se a resistência ocorre antes ou depois da aceitação do hospedeiro,

respectivamente. A resistência comportamental também pode ser chamada de resistência em pré-oviposição: nela se evita a oviposição do parasitoide, havendo um comportamento agressivo ou evasivo do inseto ou até mesmo a utilização de outros indivíduos como guarda-costas (HENTER; VIA, 1995). As ninfas de pulgões em estádios mais avançados podem evitar o parasitismo, pois têm o comportamento mais agressivo, chutando o parasitoide e pulando da planta (ROITBERG; MYERS, 1979); sendo assim, a resistência em pré-oviposição é menor em pulgões de primeiro e segundo instares (WALKER; HOY 2003; XU et al., 2008). Henter e Via (1995) observaram que insetos *Acyrtosiphon pisum* (Harris) resistentes ao parasitoide *Aphidius ervi* (Haliday) não impediram o parasitismo através dos mecanismos comportamentais. Esse resultado sugere que os mecanismos de resistência em pré-oviposição têm pouca influência sobre a resistência ao parasitoide.

A resistência fisiologia ou em pós-oviposição ocorre após os hospedeiros sofrerem a oviposição do parasitoide e está, geralmente, relacionada com as características genéticas do inseto. Quando o ovo é depositado no interior do hospedeiro, este pode desenvolver uma resposta imune que garanta sua sobrevivência e resulte na morte do parasitoide (CARVER; SULLIVAN, 1988). Essa resposta imune, para a maioria dos parasitoides, baseia-se no encapsulamento de seus ovos. Nesse processo, as células da hemolinfa do hospedeiro formam uma cápsula ao se unirem ao embrião do parasitoide, o qual é morto por asfixia ou por liberação de substâncias que promovem sua necrose (GRIFFITHS, 1961; CARVER; SULLIVAN, 1988).

O encapsulamento é o principal mecanismo de resistência dos hospedeiros. No entanto, é pouco frequente em pulgões, que têm como principal defesa imunológica a inviabilização dos ovos dos parasitoides, processo de defesa esse ainda pouco conhecido (CARVER; SULLIVAN, 1988; HENTER; VIA, 1995; FERRARI et al., 2001).

Henter e Via (1995) também testaram a resistência fisiológica de *A. pisum* resistentes e suscetíveis ao parasitoide *A. ervi*. Os autores observaram que, em hospedeiros resistente, os ovos do parasitoide não apresentaram divisão celular e, depois de 72 horas, desapareceram sem qualquer sinal de encapsulamento. Já nos afídeos suscetíveis, os ovos do parasitoide apresentaram aumento da divisão celular e desenvolvimento até a eclosão. Posteriormente, foi observado por Oliver et al. (2003), Ferrari et al. (2004) e Oliver, Moran e Hunter (2005) que esse mecanismo de resistência em pós-oviposição estava relacionado

com a presença de simbioses secundários, os quais conferiam resistência aos afídeos contra seus parasitoides. De acordo com Oliver e Moran (2009), os endossimbiontes facultativos oferecem forte proteção nos afídeos por expressarem toxinas que matam o ovo ou estágios larvais iniciais de parasitoides himenópteros.

3.4 Endossimbiontes dos pulgões

As relações simbióticas entre animais e micro-organismos são comuns na natureza; no entanto, os fatores que controlam a abundância e distribuição dos simbioses são em sua maioria desconhecidos. Os pulgões têm uma associação com a bactéria obrigatória *Buchnera aphidicola* (simbiote primário), que contribui diretamente para a aptidão do pulgão por meio da produção de aminoácidos essenciais (OLIVER et al., 2010). Além do simbiote primário, os pulgões abrigam outras bactérias, os simbioses secundários, os quais são facultativos e transmitidos verticalmente. O pulgão *A. pisum* pode ser infectado por pelo menos cinco tipos de simbioses secundários, os quais podem lhe conferir várias interações ecológicas, como tolerância ao calor e proteção contra parasitoides, favorecendo, assim, a propagação e persistência de simbioses dentro de populações de pulgões (CHEN; PURCELL, 1997; OLIVER et al., 2003).

3.4.1 Endossimbiote primário

Pesquisas recentes utilizando técnicas de biologia molecular mostram que bactérias simbioses habitam um grande número de espécies de artrópodes (OLIVER et al., 2010). A base e os fatores que controlam a dinâmica e a distribuição de determinadas linhagens simbióticas são em sua maioria desconhecidos (OLIVER et al., 2003). Há cerca de 200-250 milhões de anos, um antecessor de afídeo foi infectado por uma bactéria de vida livre. Essa relação se estabeleceu nas células dos afídeos e, assim, o hospedeiro e o endossimbiote do gênero *Buchnera* se tornaram interdependentes e incapazes de sobreviver um sem o outro (BAUMANN et al., 1995).

Buchnera é um gênero de protobactéria com fina parede celular gram-negativa. Os membros do gênero *Buchnera* são esféricos ou ovalados, apresentam tamanho entre 2,5 e

5 micrometros de diâmetro e têm parede celular comum a bactérias gram-negativas. Nas formas partenogénicas dos Aphididae, são encontradas aproximadamente 10^7 bactérias por miligrama de peso de afídeo, o que equivale a 10% da biomassa do pulgão (BAUMANN et al., 1995).

O mutualismo entre o pulgão e o endossimbionte primário do gênero *Buchnera* está bem caracterizado. *Buchnera* vive apenas dentro de células especializadas denominadas bacteriócitos. Esses micro-organismos são herdados maternalmente de uma geração para outra via ovários, em um processo chamado transovariano, e a associação com o pulgão é requerida por ambos os organismos (BUCHNER, 1965; BAUMANN et al., 1995).

Essa bactéria é responsável por produzir aminoácidos, fornecendo assim nutrientes que faltam na dieta via floema (BUCHNER, 1965). Sua remoção em afídeos com o uso de antibióticos, chamados de afídeos apossimbióticos, debilita gravemente o desenvolvimento e fecundidade do pulgão (PROSSER; DOUGLAS, 1991). Estudos sugerem que *Buchnera* sp. é capaz de sintetizar metionina, cisteína e triptofano e suprir esses aminoácidos ao seu hospedeiro. Esse gênero de bactéria não foi encontrado em qualquer outro *habitat* que não seja nas células especializadas dos pulgões (BAUMANN et al., 1995).

3.4.2 Endossimbiontes secundários

Várias famílias de afídeos, incluindo Aphididae, Lachnidae, Drepanosiphidae e Pemphigidae, possuem espécies que abrigam simbiontes secundários (BAUMANN et al., 1995). Os simbiontes secundários são facultativos e não são restritos a apenas um tipo de célula. Essas bactérias facultativas podem ser encontradas em células de órgãos reprodutivos, em células do intestino e na hemolinfa (GRIFFITHS; BECK, 1973; McLEAN; HOUK, 1973; FUKATSU et al., 2000).

O pulgão da ervilha, *Acyrtosiphon pisum*, é a espécie utilizada como modelo para o estudo de bactérias endossimbiontes facultativas. Nessa espécie de pulgão, já foram registrados pelo menos cinco diferentes táxons de endossimbiontes secundários em populações naturais em todo o mundo (CHEN; PURCELL, 1997; FUKATSU et al., 2000; SANDSTRÖM et al., 2001; TSUCHIDA et al., 2002; RUSSELL et al., 2003; DARBY et al., 2006). Três espécies de endossimbiontes secundários de pulgões, *Serratia symbiotica* (também conhecido como tipo R, S-sym, PASS – do inglês, *pea aphid secondary*

symbiont), *Hamiltonella defensa* (também conhecido como tipo T, PABS – do inglês, *pea aphid Bemisia-like symbiont*) e *Regiella insecticola* (também conhecida por tipo U, PAUS), pertencem à subdivisão gama-3 da proteobactéria, enquanto PAR é uma *Rickettsia* sp. (RUSSELL; MORAN, 2005) e o quinto endossimbionte relacionado a pulgões é um Spiroplasma que se encontra em baixas densidades (FUKATSU et al., 2000).

A transmissão vertical de bactérias endossimbiontes secundárias, via ovários da mãe para seus filhos, já foi descrita; e a transmissão horizontal, por meio de parasitoides, dietas artificiais e uso de microseringas, também é possível (CHEN; PURCELL, 1997; DARBY; DOUGLAS, 2003; VORBURGER et al., 2008). Embora documentado mais de 50 anos atrás, o significado dessas bactérias permaneceu uma incógnita até que estudos recentes sobre os simbiossitos secundários de *A. pisum* revelaram vários efeitos sobre a aptidão do pulgão. Foi constatado que tanto *H. defensa* quanto *S. symbiotica* atuam na defesa contra o parasitoide (OLIVER et al., 2003).

Além de os endossimbiossitos secundários serem descritos principalmente por estarem relacionados com a resistência dos pulgões aos inimigos naturais, existem trabalhos que indicam a atuação desses simbiossitos na resistência a temperaturas elevadas. *S. symbiotica* tem mostrado conferir tolerância ao calor em *A. pisum* (CHEN et al., 2000; MONTLLOR; MAXMEN; PURCELL, 2002) e, potencialmente, defesa contra um fungo entomopatogênico (FERRARI et al., 2004). Embora o efeito de tolerância ao calor esteja evidenciado, não se sabe se esse fenômeno é conferido por múltiplos isolados de *S. symbiotica* ou se outras espécies de simbiossitos secundários de *A. pisum* podem conferir a mesma proteção.

Dion et al. (2011) verificaram que as respostas comportamentais dos pulgões, quando confrontados com parasitoides, dependia da presença ou não de endossimbiossitos secundários. Indivíduos de *A. pisum* infectados com *Hamiltonella defensa* foram menos defensivos que indivíduos não infectados. Os pulgões sem *H. defensa* caíam da planta com mais frequência e eram mais agressivos que aqueles infectados com *H. defensa*. Os pulgões infectados com a bactéria estavam mais expostos a oviposição dos parasitoides; no entanto, a taxa de parasitismo foi maior nos pulgões sem a bactéria. Dessa forma, a infecção por *H. defensa* permitiu aos pulgões reduzir os custos associados aos comportamentos defensivos e, ao mesmo tempo, conferiu-lhes proteção contra parasitoides.

A resistência oferecida por endossimbiontes facultativos depende do genótipo do parasitoide e também há efeito de linhagens do simbionte *H. defensa*, indicando que algumas são consistentemente mais protetoras que outras (CAEYTANO et al., 2014). Em estudo de uma coleção de clones australianos do pulgão da batata, *M. persicae*, Von Burg et al. (2008) encontraram um clone infectado com *R. insecticola*, o qual se apresentava totalmente resistente a duas espécies de parasitoides. No entanto, com apenas um único clone naturalmente infectado, não foi possível inferir se a alta resistência foi um efeito genético ou conferida pela presença do endossimbionte. Em *A. pisum*, Oliver et al. (2006) constataram, em ensaios de laboratório, que *Hamiltonella defensa* geralmente confere maior resistência que *Serratia symbiotica* ao parasitoide *Aphidius ervi*, além de proporcionar benefícios de aptidão diretas para os pulgões quando parasitados.

3.5 Custo adaptativo da resistência

Pode haver um custo adaptativo para a resistência do parasitoide caso ela exija algum recurso que seria utilizado para a reprodução ou a sobrevivência (HENTER; VIA 1995). A resistência a parasitoides pode ser cara, pois envolve a manutenção ou a implantação de um sistema imunológico energeticamente dispendioso (LOCHMILLER; DEERENBERG, 2000; ARMITAGE et al., 2003).

O mais esperado é que as defesas contra parasitas estejam associadas com os custos. Segundo Vorburger, Ganesanandamoorthy e Kwiatkowski (2013), existem dois tipos de custos: (i) os constitutivos ou permanentes, que estão relacionados à capacidade de resistir, ou seja, de possuir um tipo de defesa imune, e recaem sob o hospedeiro independentemente de ele ser parasitado ou não; e (ii) os induzidos ou reais, que só recaem ao hospedeiro quando a defesa é realmente implantada, ou seja, em contato com um parasitoide.

Estudos com *Hamiltonella defensa*, na espécie de pulgão *A. pisum*, revelaram que entre 37 e 90% dos indivíduos apresentam essa bactéria e não foi detectada diferença entre o *fitness* de afídeos que hospedam a bactéria e aquele dos que não possuem a bactéria em condições de campo (DARBY; DOUGLAS, 2003; DARBY et al., 2006). Trabalho com o pulgão-preto do feijão, *Aphis fabae* Theobald, mostrou ainda que a infecção por *H. defensa* reduziu o tempo de vida do inseto (VORBURGER; GOUSKOV, 2011). Caeytano et al.

(2014), usando diferentes cepas de *H. defensa* em *A. fabae*, constataram que os isolados que proporcionavam maior proteção contra o parasitoide não tinham custos onerosos para o hospedeiro, ou seja, não foi observada uma relação negativa entre resistência e vida útil ou reprodução; porém, os isolados que promoveram média ou baixa proteção tiveram expectativa de vida mais curta e menor reprodução.

Chen et al. (2000) evidenciaram que, mediante infecção artificial em pulgões da ervilha com PASS (R) ou PAR, obtiveram-se efeitos neutros ou negativos nos componentes do *fitness* do hospedeiro. Um único clone de uma espécie relacionada, *Acyrtosiphon kondoi* Shinji, apresentou uma severa redução do *fitness* após a injeção dessas bactérias.

Dion et al. (2011) avaliaram a defesa comportamental de clones de *A. pisum* com ou sem a bactéria *H. defensa* quando expostos ao parasitismo por *A. ervi*. Os autores constataram que pulgões não infectados apresentaram melhor defesa comportamental, ou seja, foram mais agressivos em relação àqueles que tinham o endossimbionte secundário. Em contrapartida, aos clones com *H. defensa* foi conferida resistência fisiológica: os pulgões parasitados não se mumificaram e houve redução de gastos de energia com comportamentos defensivos.

Vorburger, Ganesanandamoorthy e Kwiatkowski (2013) observaram que, quando infectados por *H. defensa*, clones *A. fabae* apresentaram redução de aproximadamente 50% na sua fecundidade total e obtiveram menor longevidade em relação àqueles não infectados. Todavia, quando expostos ao parasitoide *Lysiphlebus fabarum* (Marshall) (Hymenoptera: Braconidae: Aphidiinae), os clones apresentaram aumento na sua longevidade e fecundidade. Já os clones não infectados por *H. defensa* que apresentaram resistência comportamental obtiveram menor longevidade e fecundidade.

Oliver et al. (2008) relataram que a infecção por *H. defensa* em clones de *A. pisum* não indicaram custos na fecundidade cumulativa, no tempo de geração nem no peso fresco na idade adulta. Não obstante, houve uma tendência para uma maior fecundidade dos clones quando foram infectados.

3.6 Altas temperaturas

A temperatura é um fator abiótico importante para os pulgões, que são altamente sensíveis a temperaturas elevadas e, muitas vezes, não conseguem se desenvolver ou se reproduzir quando criados a temperaturas constantes perto de 30 °C (TURAK; SUNNUCK; HALES, 1998) ou quando expostos a breves períodos de temperaturas entre 30 e 40 °C (MA; HAU; POEHLING, 2004). Por exemplo, ninfas de primeiro instar do pulgão da ervilha não se reproduzem quando submetidas a uma temperatura de 37 °C durante algumas horas (OHTAKA; ISHIKAWA, 1991).

O efeito de altas temperaturas no simbionte primário de afídeos, *B. aphidicola*, pode interferir na biologia dos pulgões. Chen et al. (2000) notaram que, quando o pulgão da ervilha fora submetido por três gerações a 25°C, a sua taxa de reprodução reduziu drasticamente. Ohtaka e Ishikawa (1991) puderam assumir que, em alguns casos, altas temperaturas podem interferir na reprodução dos pulgões por eliminação do simbionte primário. Russel e Moran (2005) observaram que, quando submetidas à temperatura de 37,5 °C durante quatro horas, ninfas de segundo instar de *A. pisum* apresentaram maior período de desenvolvimento e redução nas taxas de sobrevivência e fecundidade, além de sua prole ter indivíduos malformados cujos membros foram presos ao tórax e abdome. Consoante Douglas (1998), esses impactos na biologia dos afídeos se dá, em grande parte, devido à eliminação por altas temperaturas da *B. aphidicola*, o simbionte obrigatório de pulgões.

Resultados preliminares de Chen et al. (2000) sugerem que a presença de *Serratia symbiotica* (PASS) ou *Rickettsia* sp (PAR) pode reduzir os efeitos deletérios da temperatura elevada na fecundidade do pulgão da ervilha. Os autores aventaram a hipótese de que, se os efeitos prejudiciais da temperatura elevada na reprodução do pulgão da ervilha foram relacionados com perturbações de *Buchnera*, qualquer efeito de melhoria de bactérias simbiontes facultativos poderia ser associado, pelo menos em parte, à sua interação com o simbionte primário.

Em Montllor, Maxmen e Purcell (2002), a presença da bactéria facultativa PASS aumentou a reprodução, embora não a sobrevivência, de ninfas submetidas a estresse térmico (39 °C durante quatro horas). Na ausência de PASS, o número de bacteriócitos

reduziu quando submetidos a altas temperaturas. Assim, pode-se assumir que a presença da bactéria facultativa está relacionada com o simbiote primário *Buchnera*.

Resultados apresentados por Russel e Moran (2005) revelaram que, quando submetidos a choque térmico de 37,5 °C, os clones de *A. pisum* que abrigavam *S. symbiotica* apresentaram melhor aptidão em comparação com aqueles que não foram infectados, registrando maiores taxas de sobrevivência, maior fecundidade e menor tempo de desenvolvimento. No mesmo experimento, quando os clones foram infectados com *R. insecticola*, a taxa de sobrevivência foi reduzida em comparação à daqueles não infectados, podendo-se supor que a presença do endossimbiote proporcionou um custo sob altas temperaturas. Por fim, quando os clones abrigavam *H. defensa*, eles apresentaram maior sobrevivência.

Segundo Bensadia et al. (2006), a temperatura é um fator-chave que afeta todo o desempenho metabólico dos insetos e pode ocorrer uma inversão de altamente resistente para altamente suscetível quando expostos a altas temperaturas. Os autores relatam que temperaturas acima de 25 °C podem reduzir a imunidade do hospedeiro ao parasitoide. Ademais, na acepção de Oliver et al. (2008), o calor ou outras fontes de estresse podem resultar em alguma perda de endossimbiontes secundários.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Produção de mudas

Na casa de vegetação do Instituto de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Uberlândia (ICIAG-UFU), foram produzidas mudas de couve da variedade Manteiga da Geórgia. Para a sementeira, foram utilizadas bandejas de isopor com 128 células preenchidas com substrato orgânico comercial. Em cada célula, foram semeadas duas sementes de couve. Na emergência, sete dias após a sementeira, foi realizado o desbaste, deixando a plântula de maior vigor. Após 15 dias da emergência, as mudas receberam adubação foliar com nitrogênio e potássio. Quando se apresentavam com um par de folhas definitivas, realizou-se o transplante em vasos plásticos com substrato orgânico comercial e capacidade de cinco litros. As plantas foram submetidas a irrigação diária e adubação com nitrogênio e potássio a cada vinte dias. Além disso, foram monitoradas para evitar a ocorrência de outras pragas. As folhas das plantas foram cortadas, levadas ao laboratório e utilizadas para a confecção de discos foliares de couve.

4.2 Obtenção e multiplicação dos pulgões e dos parasitoides

Para obter diferentes clones de *L. pseudobrassicae* resistentes e suscetíveis ao parasitoide *D. rapae*, foram realizadas coletas de pulgões em dois locais da Universidade Federal de Uberlândia (UFU): na casa de vegetação do *campus* Umuarama e na horta do *campus* Glória. A partir dos pulgões coletados, foram individualizados oito clones de *L. pseudobrassicae* em placa de Petri (100 mm de diâmetro), com disco foliar de couve no tamanho da placa de Petri posicionado sobre uma camada de 10 mm de altura de ágar 1% cobrindo todo o fundo da placa. Como os pulgões se multiplicam por partenogênese telítica (BLACKMAN; EASTOP, 2007), toda a prole de um único indivíduo é composta por clones idênticos. Então, cada fêmea de *L. pseudobrassicae* deu origem a um clone, garantindo, assim, que sua prole fosse formada por indivíduos geneticamente idênticos. As

placas foram mantidas para criação em câmara climática (22 °C, 50-55% UR e 12 horas de fotofase) até que uma colônia de cada clone fosse formada.

O pulgão *M. persicae* foi utilizado para a criação de parasitoides. Esses pulgões foram coletados na casa de vegetação do *campus* Umuarama. Para a criação de *M. persicae*, os pulgões foram mantidos em placa de Petri (100 mm de diâmetro), com disco foliar de couve posicionado sobre uma camada de 10 mm de altura de ágar 1% cobrindo todo o fundo da placa. As placas foram mantidas para criação em câmara climática (22 °C, 50-55% UR e 12 horas de fotofase). Na criação de parasitoides, foram utilizadas ninfas de segundo instar de *M. persicae*. Para a obtenção dessas ninfas, pulgões adultos foram colocados em placas de Petri contendo um disco foliar de couve e retirados após 24 horas, mantendo-se apenas as ninfas de primeiro instar; mais 24 horas depois, as ninfas se encontravam em segundo instar e foram utilizadas na multiplicação de *D. rapae*.

Os parasitoides foram obtidos de múmias de *M. persicae* coletadas na casa de vegetação, e cada múmia foi mantida em um tubo de Eppendorf (2,0 mL). Com a emergência do parasitoide, ele foi alimentado com mel 50%. Os parasitoides foram mantidos em casais nos tubos e, após a observação do acasalamento, a fêmea foi liberada em placa de Petri contendo 40 ninfas de segundo instar de *M. persicae* e mantida por duas horas para oviposição. Após esse período, a fêmea foi retirada e as ninfas foram mantidas na placa em câmara climática (22 °C e 12 horas de fotofase) até a formação das múmias, 10 a 15 dias depois. Os parasitoides foram utilizados para o teste de seleção de clones resistentes e para verificar se houve perda de resistência com o choque térmico.

4.3 Seleção de clones resistentes

Para seleção de clones resistentes, aproximadamente doze pulgões adultos de cada um dos oito clones foram mantidos em placas de Petri contendo disco foliar de couve. Foi formada uma placa para cada clone, e os adultos foram retirados após 24 horas, mantendo-se as ninfas de primeiro instar. Após 72 horas, as ninfas se encontravam em quarto instar. Para cada um dos clones, de 22 a 35 ninfas de quarto instar foram individualizadas em placas de Petri e submetidas a uma única oviposição por *D. rapae*. Para uma maior variabilidade do parasitoide, cada fêmea de *D. rapae* parasitou dez ninfas. As oviposições

foram observadas no microscópio estereoscópico, sendo que cada ninfa de pulgão recebeu uma oviposição na parte do abdome; quando parasitadas nas pernas, cabeça ou sifúnculo, as ninfas foram descartadas. Após todos os pulgões receberem uma oviposição, eles foram mantidos individualizados em câmara climática durante 15 dias, período suficiente para a emergência dos parasitoides. Foram realizadas observações diárias para avaliar quais indivíduos parasitados não mumificaram (*i.e.*, eram resistentes) e quais se transformaram em múmia (*i.e.*, eram suscetíveis). Foram utilizadas ninfas de quarto instar porque mesmo pulgões suscetíveis parasitados por *D. rapae* nessa fase de desenvolvimento atingem a fase adulta e se reproduzem antes da mumificação (FERREIRA, 2013). Dessa forma, foi possível manter colônias com a prole dos pulgões parasitados resistentes e suscetíveis. Dentre os clones testados, dois apresentaram somente indivíduos suscetíveis ao parasitoide e foram descartados e seis foram selecionados como resistentes.

4.4 Seleção de indivíduos resistentes e suscetíveis de um mesmo clone

A resistência de *L. pseudobrassicae* ao parasitoide *D. rapae* não é uma característica genética, ou seja, pode não ser transferida para todos os indivíduos da sua prole. Isso se dá porque simbiontes secundários associadas à resistência dos afídeos são transmitidos via ovários da mãe para seus descendentes; entretanto, essa transmissão não é perfeita (FERREIRA, 2013). Sendo assim, descendentes de um único pulgão resistente podem ser suscetíveis, embora sejam clones de seus irmãos resistentes (FERREIRA, 2013). Por essa razão, todos os clones que apresentaram resistência ao parasitoide foram mantidos para que, a partir deles, fossem selecionados descendentes que perderam a resistência e, assim, fosse possível a obtenção de indivíduos resistentes e suscetíveis do mesmo clone.

Dos seis clones resistentes, três (C1, C2, C3) foram mantidos para a obtenção de indivíduos suscetíveis. Para cada um deles, ninfas de quarto instar foram padronizadas e submetidas a uma única oviposição de *D. rapae*. Cada fêmea do parasitoide parasitou dez ninfas. O número de ninfas parasitadas para cada clone foi variável (cf. TAB. 1), até se encontrar um indivíduo que tenha perdido a resistência. Foram realizadas observações diárias durante 15 dias e avaliados o número de pulgões que não mumificaram (resistentes) e o número daqueles que se transformaram em múmia (suscetíveis).

Foi possível obter indivíduo suscetível de um clone (C1) (cf. TAB. 1). Dessa forma, quatro grupos de *L. pseudobrassicae* obtidos de três clones (C1, C2 e C3) foram mantidos em laboratório. Um dos clones originou dois grupos, um com indivíduos resistentes (C1R) e outro com indivíduos suscetíveis (C1S) a *D. rapae*. Os outros dois grupos foram formados por clones resistentes ao parasitoide (C2R e C3R). Para confirmar a resistência e a suscetibilidade de indivíduos do C1, 20 ninfas de segundo instar de C1S e 20 de C1R foram padronizadas e submetidas a uma única oviposição de *D. rapae*. Foram realizadas observações diárias durante 15 dias e avaliados o número de pulgões que atingiram a fase adulta e que reproduziram (resistentes) e o número daqueles que se transformaram em múmia (suscetíveis). Das 20 ninfas de C1R parasitadas por *D. rapae*, nenhuma mumificou, configurando que 100% dos indivíduos foram resistentes. Já para C1S, 19 das 20 ninfas parasitadas mumificaram, confirmando a suscetibilidade de C1S.

Tabela 1. Número de pulgões parasitados em quarto instar por *Diaeretiella rapae*, pulgões que mumificaram (suscetíveis) e pulgões que atingiram a fase adulta (resistentes) nos três clones de *Lipaphis pseudobrassicae*. Uberlândia/MG, 2016.

Clones	Pulgões parasitados	Pulgões que reproduziram	Múncias
C1	65	64	1
C2	46	46	0
C3	81	81	0

4.5 Efeito do choque térmico no desenvolvimento e reprodução de pulgões

L. pseudobrassicae resistentes e suscetíveis ao parasitoide *D. rapae*

4.5.1 Biologia de *L. pseudobrassicae*

O ensaio foi realizado no Laboratório de Entomologia e Controle Biológico (LACOB), em câmara climática tipo BOD, com temperatura de $22 \pm 1^\circ\text{C}$, fotofase de 12 horas e umidade relativa média de 64%.

Para a realização do choque térmico, cada parcela experimental foi representada por uma placa de Petri de 50 mm de diâmetro, sem ágar e sem alimento para o pulgão e com 20 ninfas de primeiro instar. A placa de Petri foi fechada com filme de P.V.C. laminado, com perfurações com agulha para ocorrerem trocas gasosas. Foram montadas 12 placas de cada grupo de pulgões: metade das placas foi mantida a 22 °C; a outra, ao choque térmico a 37 °C.

Para compor os tratamentos que receberam choque térmico, as placas com as ninfas de primeiro instar foram levadas para câmara climática a 22 °C. A temperatura foi aumentada 5 °C a cada hora, até chegar a 37 °C, medição essa em que permaneceu por uma hora. Para retornar a 22 °C, foi realizado o mesmo procedimento, só que com a redução de 5 °C a cada hora. Para verificar a temperatura no interior da placa de Petri, foi utilizado um termômetro Fluke 52 II, o qual teve o seu termopar fixado com fita adesiva transparente no interior de uma placa de Petri de 50 mm. A placa foi fechada com filme de P.V.C. e perfurada com agulha, de forma análoga à daquelas com pulgões. Durante o período de uma hora, ao cabo do qual se obteve a temperatura máxima do choque térmico, a temperatura variou de 36,5–37,7 °C dentro da placa e de 36,3–37,3 °C dentro da câmara climática; a temperatura registrada pela BOD foi de 36,8–37,1 °C. Após o período do choque térmico, as ninfas de todos os tratamentos, sem ou com choque térmico, foram transferidas para placas de Petri de 50 mm, com ágar a 1% e discos foliares de couve. As placas foram mantidas em câmara climática a 22 °C, avaliadas diariamente e trocadas a cada quatro dias. Foram avaliados a mortalidade de imaturos e o período de desenvolvimento (duração da fase de ninfa, em dias).

Após completarem o ciclo, três adultos de cada placa foram individualizados em placas de Petri para a avaliação da sua biologia. Foram utilizados 18 adultos por tratamento, totalizando 144 adultos para acompanhamento diário. Foram avaliados a longevidade (período em dias da fase adulta até a morte do inseto), as fecundidades diária e total (respectivamente, média do número de ninfas por dia e total de ninfas produzidas por fêmea durante a fase adulta), períodos pré-reprodutivo (desde que o inseto ficou adulto até a postura da primeira ninfa), reprodutivo (período em que a fêmea efetivamente se reproduz) e pós-reprodutivo dos pulgões (período em que o inseto para de se reproduzir até a sua morte, em dias).

4.5.2 Tabela de Vida de Fertilidade

Os dados biológicos de *L. pseudobrassicae* foram utilizados para o cálculo da Tabela de Vida de Fertilidade. Foram calculados os principais parâmetros associados à Tabela de Vida de Fertilidade, conforme Andrewartha e Birch (1954): o intervalo de idade (x); a fertilidade específica (m_x); a probabilidade de sobrevivência (l_x); a taxa líquida de reprodução (R_o), correspondente ao número de ninfas produzidas por fêmea ao longo de sua vida; a taxa líquida de aumento (r_m), parâmetro relacionado à taxa de crescimento populacional; intervalo médio entre gerações (T), tempo entre nascimento das ninfas de uma geração e da seguinte; razão finita de crescimento (λ), fator de multiplicação da população original a cada intervalo unitário de tempo; e tempo necessário para duplicar a população inicial (TD). Os cálculos foram baseados nas seguintes equações:

$$R_o = \sum (m_x l_x)$$

$$T = (\sum m_x l_x \cdot x) / \sum (m_x l_x)$$

$$r_m = \log_e R_o / T = \ln R_o / T$$

$$\lambda = e^{r_m}$$

$$TD = \ln(2) / r_m$$

4.5.3 Perda da resistência após o choque térmico

Para avaliar se o choque térmico afetou a resistência de *L. pseudobrassicae* a *D. rapae*, as proles dos três insetos utilizados para a avaliação da biologia dos adultos que receberam ou não choque térmico foram mantidas em suas respectivas placas de Petri (100 mm), com ágar 1% e disco foliar de couve, em câmara climatizada (22 °C, 50-55% UR e 12 horas de fotofase) até a formação da segunda geração, quando o número de insetos adultos foi suficiente para a realização do experimento. As placas foram trocadas a cada quatro dias.

Foram utilizadas cinco fêmeas adultas da segunda geração de cada placa. Elas foram colocadas em uma placa de Petri (50 mm) com ágar 1% e disco foliar de couve. Vinte e quatro horas depois, os adultos foram removidos e mantiveram-se as ninfas de primeiro

instar (terceira geração). Mais 24 horas depois, as ninfas se encontravam em segundo instar, sendo mantidas oito por placa (24 ninfas por tratamento). Para verificar a quebra de resistência, cada grupo de oito ninfas foi parasitado por uma fêmea acasalada. As placas foram trocadas a cada quatro dias e avaliadas diariamente por 15 dias para verificar se viraram múmias (suscetíveis) ou se chegaram à fase adulta e se reproduziram (resistentes).

4.5.4 Análise dos dados

O experimento da biologia de *L. pseudobrassicae* foi realizado em delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial 4x2, sendo quatro clones (três resistentes e um suscetível) e na ausência ou presença de choque térmico (37 °C). Para as avaliações no período jovem, foram utilizadas seis repetições, totalizando 48 parcelas; para a biologia dos adultos, foram utilizadas três repetições, totalizando 24 parcelas. A normalidade dos resíduos foi avaliada pelo teste de Shapiro Wilk; e a homogeneidade das variâncias, pelo teste de Levene, no *software* SPSS 16.0 a um ou cinco por cento de probabilidade. Os dados que satisfizeram as prerrogativas de normalidade e homogeneidade (*i.e.*, taxa de sobrevivência, período reprodutivo, período pós reprodutivo, fecundidade e longevidade) foram analisados por meio da análise de variância (ANAVA) e, quando havia significância, as médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Já os dados de período de desenvolvimento e pré-reprodutivo foram analisados pelos Modelos Lineares Generalizados e ajustados à distribuição de Poisson, tendo sido utilizada a função de ligação Identity. A Tabela de Vida de Fertilidade de *L. pseudobrassicae* foi analisada com o uso da técnica de Jackknife (MEYER et al., 1986), sendo que as médias foram comparadas bilateralmente pelo teste “t” de Student usando o *software* LIFETABLES.SAS (MAIA; LUIZ; CAMPANHOLA, 2000). Os dados de perda da resistência não foram submetidos a análise estatística.

5 RESULTADOS

5.1 Biologia de *Lipaphis pseudobrassicae*

Não houve interação dos fatores clones e choque térmico para a sobrevivência de imaturos de *L. pseudobrassicae* ($F = 0,403$; $p = 0,7515$). A taxa de sobrevivência foi menor para os insetos que receberam o choque térmico que para aqueles que não o receberam, resultando em uma redução de 26,79% na sobrevivência ($F = 119,26$; $p = 0,0000$). Em relação aos clones, houve diferença significativa na taxa de sobrevivência ($F = 3,59$; $p = 0,0220$) e C2R apresentou maior porcentagem de imaturos vivos que C1R; no entanto, não houve diferença na sobrevivência do clone suscetível (C1S) e dos clones resistentes (cf. TAB. 2).

Tabela 2. Dados biológicos (média \pm erro padrão) da forma jovem de *Lipaphis pseudobrassicae* em clones resistentes e suscetíveis ao parasitoide *Diaeretiella rapae*, com ausência ou presença de choque térmico. Uberlândia/MG, 2016.

Tratamentos	Sem Choque	Com Choque	Média \pm Erro
Taxa de sobrevivência			
C1 suscetível	88,33 \pm 1,67	67,61 \pm 3,65	77,76 \pm 3,72 AB
C1 resistente	85,28 \pm 1,75	54,63 \pm 6,07	69,95 \pm 5,52 B
C2 resistente	89,86 \pm 1,40	67,55 \pm 3,42	79,72 \pm 3,87 A
C3 resistente	86,36 \pm 1,84	67,46 \pm 3,31	76,91 \pm 3,37 AB
Média \pm Erro	87,46 \pm 0,86 a	64,03 \pm 2,35 b	
Período de desenvolvimento (dias)			
C1 suscetível	9,37 \pm 0,32	10,24 \pm 0,48	9,80 \pm 0,31 A
C1 resistente	9,26 \pm 0,26	11,44 \pm 0,94	10,35 \pm 0,57 A
C2 resistente	9,19 \pm 0,26	11,80 \pm 0,97	10,38 \pm 0,60 A
C3 resistente	8,55 \pm 0,19	9,84 \pm 0,43	9,20 \pm 0,30 A
Média \pm Erro	9,09 \pm 0,14 a	10,79 \pm 0,38 a	

Médias seguidas de letras distintas, maiúsculas na coluna e minúsculas na linha se diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

De maneira análoga, não houve interação dos fatores clones e choque térmico para os períodos de desenvolvimento ($p = 0,9089$), pré-reprodutivo ($p = 0,9389$) e pós-reprodutivo ($F = 0,390$; $p = 0,7608$) de *L. pseudobrassicae*. Tampouco houve diferença entre os grupos que receberam choque térmico e entre os clones para os períodos de desenvolvimento (choque térmico $p = 0,0641$; clones $p = 0,9089$), pré-reprodutivo (choque térmico $p = 0,1623$; clones $p = 0,9789$) e pós-reprodutivo (choque térmico $F < 0,0001$; $p = 0,9907$; clones $F = 1,551$; $p = 0,2163$) (cf. TAB. 2-3).

Houve interação dos fatores clones e choque térmico para o período reprodutivo ($F = 5,088$; $p = 0,0044$), fecundidade total ($F = 3,713$; $p = 0,0190$) e longevidade ($F = 4,287$; $p = 0,0103$). O choque térmico reduziu significativamente o período reprodutivo em todos os clones ($F = 5,088$; $p = 0,0044$). Na ausência do choque térmico, o clone suscetível (C1S) apresentou o menor período reprodutivo ($F = 13,872$; $p = 0,0000$; DMS = 0,441); porém, com o choque térmico ($F = 4,560$; $p = 0,0076$; DMS = 0,441), apenas o período reprodutivo de C3R foi maior que o de C2R, não havendo diferença entre os demais clones (TAB. 3).

O choque térmico reduziu a fecundidade em todos os clones ($F = 3,713$; $p = 0,0190$). Na ausência de choque térmico, a fecundidade de C3R foi a maior ($F = 11,891$; $p = 0,000$; DMS = 1,236); no entanto, os outros clones não apresentaram diferença significativa na fecundidade. Com o choque térmico, a fecundidade de C3R foi maior que a de C2R, não havendo diferença entre os demais clones ($F = 3,370$; $p = 0,0273$; DMS = 1,2360).

Para todos os clones, a longevidade foi menor com a presença de choque térmico ($F = 4,287$; $p = 0,0103$). Na ausência de choque térmico, o clone suscetível (C1S) apresentou longevidade menor que os resistentes C1R e C3R ($F = 12,243$; $p = 0,0000$; DMS = 0,4036). No entanto, não houve diferença na longevidade de C1S e C2R. Após o choque térmico, as longevidades dos clones não se diferenciaram entre si ($F = 0,561$; $p = 0,6426$) (cf. TAB. 3).

Tabela 3. Dados biológicos (média \pm erro padrão) dos adultos de *Lipaphis pseudobrassicae* em clones resistentes e suscetíveis ao parasitoide *Diaeretiella rapae*, com ausência ou presença de choque térmico. Uberlândia/MG, 2016.

Tratamentos	Sem Choque	Com Choque	Média \pm Erro
Período pré-reprodutivo (dias)			
C1 suscetível	1,11 \pm 0,07	1,61 \pm 0,29	1,36 \pm 0,16 A
C1 resistente	1,11 \pm 0,07	1,44 \pm 0,25	1,28 \pm 0,14 A
C2 resistente	1,00 \pm 0,00	1,48 \pm 0,35	1,39 \pm 0,20 A
C3 resistente	1,05 \pm 0,06	1,28 \pm 0,16	1,16 \pm 0,09 A
Média \pm Erro	1,06 \pm 0,03 a	1,52 \pm 0,13 a	
Período reprodutivo (dias)			
C1 suscetível	8,05 \pm 0,51Ca	5,78 \pm 0,69 ABb	-
C1 resistente	12,22 \pm 0,33 ABa	5,89 \pm 0,62 ABb	-
C2 resistente	10,89 \pm 0,56 Ba	4,33 \pm 0,59 Bb	-
C3 resistente	15,00 \pm 0,50 Aa	7,22 \pm 0,90 Ab	-
Período pós-reprodutivo (dias)			
C1 suscetível	0,88 \pm 0,23	0,39 \pm 0,16	0,55 \pm 0,14 A
C1 resistente	0,61 \pm 0,23	0,61 \pm 0,42	0,61 \pm 0,23 A
C2 resistente	0,66 \pm 0,24	2,22 \pm 1,52	1,44 \pm 0,77 A
C3 resistente	0,17 \pm 0,11	0,28 \pm 0,16	0,22 \pm 0,09 A
Média \pm Erro	0,87 \pm 0,11 a	0,54 \pm 0,41 a	
Fecundidade total (ninfas/fêmea)			
C1 suscetível	17,72 \pm 2,09 Ba	9,83 \pm 1,71 ABb	-
C1 resistente	23,33 \pm 2,30 Ba	14,28 \pm 2,33 ABb	-
C2 resistente	25,77 \pm 1,96 Ba	7,72 \pm 1,92 Bb	-
C3 resistente	47,83 \pm 8,08 Aa	16,28 \pm 2,26Ab	-
Longevidade (dias)			
C1 suscetível	9,94 \pm 0,56 Ca	7,67 \pm 0,55 Ab	-
C1 resistente	14,00 \pm 0,26 ABa	7,94 \pm 0,54 Ab	-
C2 resistente	12,22 \pm 0,53 BCa	8,44 \pm 1,12 Ab	-
C3 resistente	16,22 \pm 0,41 Aa	8,78 \pm 0,86 Ab	-

Médias seguidas de letras distintas, maiúsculas na coluna e minúsculas na linha se diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

5.2 Tabela de Vida de Fertilidade de *L. pseudobrassicae*

Na ausência de choque térmico, os clones C1, tanto o resistente como o suscetível, apresentaram r_m menor que os de todos os outros clones; porém, na comparação entre insetos resistentes (C1R) e suscetíveis (C1S) do mesmo clone, não houve diferença significativa ($t = 1,31$; $p = 0,1999$). O clone resistente C3R foi o que apresentou maior r_m ($0,282 \pm 0,008$). Os indivíduos suscetíveis (C1S) apresentaram menor R_o que os resistentes, inclusive quando comparados com indivíduos do mesmo clone (C1R) ($t = -2,43$; $p = 0,0206$). O maior R_o foi observada para C3 ($43,3 \pm 4,40$) (cf. TAB. 4).

Os indivíduos do clone suscetível (C1S) apresentaram o valor de T menor que os pulgões resistentes do mesmo clone (C1R) ($t = 6,62$; $p < 0,0001$). No entanto, quando comparado o clone suscetível (C1S) com C2R, T não diferiu ($t = -1,21$; $p = 0,2338$), e o mesmo ocorreu quando comparados os clones C2R e C3R ($t = -1,00$; $p = 0,3243$) (cf. TAB. 4).

Comparando indivíduos do mesmo clone, não houve diferença em TD entre pulgões resistentes (C1R) e suscetíveis (C1S) ($t = -1,30$; $p = 0,2022$). O mesmo ocorreu quando comparados C1S e C2R ($t = 1,99$; $p = 0,0570$). O menor TD foi observado para C3R (cf. TAB. 4).

De forma análoga a r_m , λ dos clones C1, tanto o resistente como o suscetível, foi menor que o de todos os outros clones; porém, na comparação entre insetos resistentes (C1R) e suscetíveis (C1S) do mesmo clone, não houve diferença significativa ($t = 1,31$; $p = 0,2002$). O clone C3R foi o que apresentou o maior λ (cf. TAB. 4).

Tabela 4. Comparação dos parâmetros da Tabela de Vida de Fertilidade entre os clones resistentes e suscetíveis ao parasitoide *Diaeretiella rapae*, na ausência de choque térmico (Temperatura 22 ± 1 °C, UR. 64% e fotoperíodo de 12 horas). Uberlândia/MG, 2016.

Comparações	Parâmetros da Tabela de Vida				
	r_m	R_o	T	TD	λ
C1S	0,219 ± 0,009	15,6 ± 1,23	12,6 ± 0,22	3,16 ± 0,132	1,24 ± 0,011
vs	vs	vs	vs	vs	vs
C1R	0,203 ± 0,008	20,2 ± 1,41*	14,8 ± 0,25**	3,40 ± 0,129	1,23 ± 0,009
C1S	0,219 ± 0,009	15,6 ± 1,23	12,6 ± 0,22	3,16 ± 0,132	1,24 ± 0,011
vs	vs	vs	vs	vs	vs
C2R	0,242 ± 0,006*	23,2 ± 2,27**	13,0 ± 0,29	2,86 ± 0,071	1,27 ± 0,008*
C1S	0,219 ± 0,009	15,6 ± 1,23	12,6 ± 0,22	3,16 ± 0,132	1,24 ± 0,011
vs	vs	vs	vs	vs	vs
C3R	0,282 ± 0,008**	43,3 ± 4,40**	13,3 ± 0,17**	2,45 ± 0,073*	1,33 ± 0,011**
C1R	0,203 ± 0,008	20,2 ± 1,41	14,8 ± 0,25	3,40 ± 0,129	1,23 ± 0,009
vs	vs	vs	vs	vs	vs
C2R	0,242 ± 0,006**	23,2 ± 2,27	13,0 ± 0,29**	2,86 ± 0,071**	1,27 ± 0,008**
C1R	0,203 ± 0,008	20,2 ± 1,41	14,8 ± 0,25	3,40 ± 0,129	1,23 ± 0,009
vs	vs	vs	vs	vs	vs
C3R	0,282 ± 0,008**	43,3 ± 4,40**	13,3 ± 0,17**	2,45 ± 0,073**	1,33 ± 0,011**
C2R	0,242 ± 0,006	23,2 ± 2,27	13,0 ± 0,29	2,86 ± 0,071	1,27 ± 0,008
vs	vs	vs	vs	vs	vs
C3R	0,282 ± 0,008**	43,3 ± 4,40**	13,3 ± 0,17	2,45 ± 0,073**	1,33 ± 0,011**

Significativo a 0.05* e a 0.01** pelo teste T de Student; r_m : taxa intrínseca de aumento populacional; R_o : taxa líquida de reprodução; T: intervalo de tempo entre as gerações; TD: tempo necessário para duplicar a população; λ : razão finita de aumento; C1S: Clone 1 suscetível; C1R: Clone 1 resistente; C2R: Clone 2 resistente; C3R: Clone 3 resistente.

Comparando os parâmetros da Tabela de Vida de Fertilidade de indivíduos do mesmo clone que receberam choque térmico, apenas T do suscetível (C1S) foi menor que o de C1R ($t = -3,08$; $p = 0,0044$). Os demais parâmetros não se diferiram (r_m : $t = 0,47$; $p = 0,6409$, R_o : $t = -0,35$; $p = 0,7263$, TD: $t = -0,44$; $p = 0,6596$; λ : $t = 0,47$; $p = 0,6407$) (cf. TAB. 5).

Quando comparados os parâmetros da Tabela de Vida de indivíduos suscetíveis (C1S) com os demais clones resistentes, não houve diferença em quaisquer dos parâmetros quando contrastados com C2R (r_m : $t = 1,05$; $p = 0,3007$, R_o : $t = 0,90$; $p = 0,3733$; T: $t = -0,95$; $p = 0,3532$; TD: $t = -0,86$; $p = 0,3983$; λ : $t = 1,06$; $p = 0,2979$) e apenas R_o de

C1S foi menor que o de C3R ($t = -2,26$; $p = 0,0303$). No entanto, para os demais parâmetros, não houve diferença entre os dois clones (cf. TAB. 5).

Os clones resistentes C1R e C2R não apresentaram diferença para quaisquer dos parâmetros da Tabela de Vida (r_m : $t = 0,67$; $p = 0,5095$; R_o : $t = 1,21$; $p = 0,2358$; T : $t = 1,22$; $p = 0,2322$; TD : $t = -0,52$; $p = 0,6081$; λ : $t = 0,67$; $p = 0,5052$). No entanto, os valores de r_m ($t = -2,30$; $p = 0,0283$) e λ ($t = -2,32$; $p = 0,0266$) de C1R foram menores que os de C3R. Já C2R apresentou menores r_m ($t = -2,73$; $p = 0,0109$), R_o ($t = -3,34$; $p = 0,0022$) e λ ($t = -2,78$; $p = 0,0095$) que C3R (cf. TAB. 5).

Tabela 5. Comparação dos parâmetros da Tabela de Vida de Fertilidade entre os clones resistentes e suscetíveis ao parasitoide *Diaeretiella rapae*, na presença de choque térmico (Temperatura 37 ± 1 °C durante uma hora). Uberlândia/MG, 2016.

Comparações	Parâmetros da Tabela de Vida				
	r_m	R_o	T	TD	λ
C1S	0,148 ± 0,016	6,71 ± 1,244	12,9 ± 0,31	4,62 ± 0,561	1,16 ± 0,019
vs	vs	vs	vs	vs	vs
C1R	0,138 ± 0,014	7,38 ± 1,433	14,7 ± 0,46**	4,98 ± 0,572	1,15 ± 0,016
C1S	0,148 ± 0,016	6,71 ± 1,244	12,9 ± 0,31	4,62 ± 0,561	1,16 ± 0,019
vs	vs	vs	vs	vs	vs
C2R	0,122 ± 0,018	5,28 ± 0,979	13,7 ± 0,67	5,53 ± 0,899	1,13 ± 0,020
C1S	0,148 ± 0,016	6,71 ± 1,244	12,9 ± 0,31	4,62 ± 0,561	1,16 ± 0,019
vs	vs	vs	vs	vs	vs
C3R	0,179 ± 0,011	10,89 ± 1,365*	13,4 ± 0,50	3,86 ± 0,237	1,19 ± 0,012
C1R	0,138 ± 0,014	7,38 ± 1,433	14,7 ± 0,46	4,98 ± 0,572	1,15 ± 0,016
vs	vs	vs	vs	vs	vs
C2R	0,122 ± 0,018	5,28 ± 0,979	13,7 ± 0,67	5,53 ± 0,899	1,13 ± 0,020
C1R	0,138 ± 0,014	7,38 ± 1,433	14,7 ± 0,46	4,98 ± 0,572	1,15 ± 0,016
vs	vs	vs	vs	vs	vs
C3R	0,179 ± 0,011*	10,89 ± 1,365	13,4 ± 0,50	3,86 ± 0,237	1,19 ± 0,012*
C2R	0,122 ± 0,018	5,28 ± 0,979	13,7 ± 0,67	5,53 ± 0,899	1,13 ± 0,020
vs	vs	vs	vs	vs	vs
C3R	0,179 ± 0,011*	10,89 ± 1,365**	13,4 ± 0,50	3,86 ± 0,237	1,19 ± 0,012**

Significativo a 0.05* ou a 0.01** pelo teste t de Student; r_m : taxa intrínseca de aumento populacional; R_o : taxa líquida de reprodução; T : intervalo de tempo entre as gerações; TD : tempo necessário para duplicar a população; λ : razão finita de aumento; C1S: Clone 1 suscetível; C1R: Clone 1 resistente; C2R: Clone 2 resistente; C3R: Clone 3 resistente.

Quando comparados indivíduos do mesmo clone com ausência e presença de choque, houve, além de uma queda no TD, uma redução significativa em r_m , R_o e λ para todos os clones que sofreram choque térmico, indicando assim um comprometimento no crescimento populacional dos insetos submetidos a altas temperaturas. O valor de T não foi afetado com o choque térmico para quaisquer dos clones (cf. TAB. 6).

Tabela 6. Comparação dos parâmetros da Tabela de Vida de Fertilidade na ausência (Temperatura 22 ± 1 °C, UR 64% e fotoperíodo de 12 horas) e na presença de choque térmico (Temperatura 37 ± 1 °C durante 1 hora) para os clones resistentes e suscetíveis ao parasitoide *Diaeretiella rapae*. Uberlândia/MG, 2016.

Comparações	Parâmetros da Tabela de Vida				
	r_m	R_o	T	TD	λ
C1 S Ch-	$0,219 \pm 0,009$	$15,6 \pm 1,23$	$12,6 \pm 0,22$	$3,16 \pm 0,132$	$1,24 \pm 0,011$
vs	vs	vs	vs	vs	vs
C1 S Ch+	$0,148 \pm 0,016^{**}$	$6,71 \pm 1,244^{**}$	$12,9 \pm 0,31$	$4,62 \pm 0,561^*$	$1,16 \pm 0,019^{**}$
C1 R Ch-	$0,203 \pm 0,008$	$20,2 \pm 1,41$	$14,8 \pm 0,25$	$3,40 \pm 0,129$	$1,23 \pm 0,009$
vs	vs	vs	vs	vs	vs
C1 R Ch+	$0,138 \pm 0,014^{**}$	$7,38 \pm 1,433^{**}$	$14,7 \pm 0,46$	$4,98 \pm 0,572^*$	$1,15 \pm 0,016^{**}$
C2 R Ch-	$0,242 \pm 0,006$	$23,2 \pm 2,27$	$13,0 \pm 0,29$	$2,86 \pm 0,071$	$1,27 \pm 0,008$
vs	vs	vs	vs	vs	vs
C2 R Ch+	$0,122 \pm 0,018^{**}$	$5,28 \pm 0,979^{**}$	$13,7 \pm 0,67$	$5,53 \pm 0,899^{**}$	$1,13 \pm 0,020^{**}$
C3 R Ch-	$0,282 \pm 0,008$	$43,3 \pm 4,40$	$13,3 \pm 0,17$	$2,45 \pm 0,073$	$1,33 \pm 0,011$
vs	vs	vs	vs	vs	vs
C3 R Ch+	$0,179 \pm 0,011^{**}$	$10,89 \pm 1,365^{**}$	$13,4 \pm 0,50$	$3,86 \pm 0,237^{**}$	$1,19 \pm 0,012^{**}$

Significativo a 0.05* ou a 0.01** pelo teste T de Student; r_m : taxa intrínseca de aumento populacional; R_o : taxa líquida de reprodução; T: intervalo de tempo entre as gerações; TD: tempo necessário para duplicar a população; λ : razão finita de aumento; C1S: Clone 1 suscetível; C1R: Clone 1 resistente; C2R: Clone 2 resistente; C3R: Clone 3 resistente; Ch-: ausência de choque; Ch+: presença de choque.

5.3 Perda da resistência após o choque térmico

Após o parasitismo por *D. rapae*, não houve formação de múmias nos clones resistentes de quaisquer dos grupos, seja entre os que receberam ou entre os que não receberam o choque térmico. Todos os pulgões resistentes chegaram à fase adulta e se

reproduziram independentemente se houve ou não choque térmico. Entre os indivíduos do clone suscetível, no grupo que não recebeu o choque térmico, 100% dos pulgões parasitados se transformaram em múmia, enquanto 95,2% dos pulgões mumificaram no grupo com choque térmico (cf. TAB. 7).

Tabela 7. Número de ninfas da terceira geração após o choque térmico parasitadas em segundo instar por *Diaeretiella rapae*, pulgões que mumificaram (suscetíveis) e pulgões que viraram adultos e se reproduziram (resistentes). Uberlândia/MG, 2016.

Tratamentos	Pulgões parasitados	Pulgões que se reproduziram	Múmias
Sem Choque			
C1 (suscetível)	23	0	23
C1 (resistente)	24	24	0
C2 (resistente)	21	21	0
C3 (resistente)	22	22	0
Com Choque			
C1 (suscetível)	22	1	21
C1 (resistente)	23	23	0
C2 (resistente)	24	24	0
C3 (resistente)	22	22	0

6 DISCUSSÃO

A resistência fisiológica de *L. pseudobrassicae* ao parasitoide *D. rapae* não é uma característica genética, ou seja, pode não ser transferida para todos os indivíduos da prole, o que é uma evidência da presença de simbioses que conferem resistência ao pulgão (FERREIRA, 2013). Os mais altos percentuais de perda dos simbioses na prole foram encontrados por Chen e Purcell (1997), os quais relataram níveis de perda na transmissão vertical de aproximadamente 20% para os seus descendentes. No teste de seleção, dentre os quatro clones testados, apenas um, C1, obteve perda na transmissão maternal de resistência de aproximadamente 1,5% para os seus descendentes. Os demais clones, C2 e C3, apresentaram constante transmissão vertical dos endossimbiontes secundários. Darby e Douglas (2003) e Moran e Dunbar (2006) também observaram perdas de transmissão vertical dos endossimbiontes facultativos menores que 2% e zero, respectivamente. De acordo com Oliver e Moran (2009), a dinâmica dessa comunidade microbiana, através das gerações dos afídeos, depende dos efeitos que a bactéria causa na sobrevivência e na reprodução dos hospedeiros, dos padrões de transmissão maternal e horizontal e da competição entre os tipos de endossimbiontes.

Existem hipóteses de que a resistência ao parasitoide pode gerar custos ao pulgão. Esse *trade-off* pode ser movido por alterações no investimento nutricional, que afeta negativamente a fecundidade, sugerindo que clones resistentes investem mais na sobrevivência que na reprodução (GWYNN et al., 2005). Porém, Russel e Moran (2005) relataram que, em condições ótimas para o desenvolvimento, os clones de *A. pisum* infectados com *S. symbiotica* não apresentaram diferença significativa na taxa de sobrevivência, no período de desenvolvimento nem na fecundidade em relação aos clones que não foram infectados.

Os aspectos biológicos de *L. pseudobrassicae* em condições ideais para o desenvolvimento, ou seja, temperatura de criação de 22 °C, não evidenciaram custo adaptativo de *L. pseudobrassicae* resistente a *D. rapae*; contudo, os parâmetros da Tabela de Vida apontaram para um maior T (tempo entre gerações) para os clones resistentes. Mesmo assim, Ro de *L. pseudobrassicae* suscetível foi menor que o dos resistentes, inclusive quando comparados suscetíveis e resistentes do mesmo grupo de clones. Dessa

forma, os pulgões resistentes apresentaram maior taxa de reprodução, maior período reprodutivo e maior longevidade, o que não refletiu em maior taxa de crescimento populacional em função do maior tempo entre as gerações. De fato, a existência de custo da resistência ao parasitoide é controversa em pulgões. Oliver et al. (2008) constataram que clones com resistência ao parasitoide conferida pelo endossimbionte secundário *H. defensa* não apresentavam custos na fecundidade cumulativa, e sim uma propensão de maior fecundidade para os clones resistentes, os quais apresentaram maior período reprodutivo, maior longevidade e menor tempo entre gerações (T). Em contrapartida, Vorburger, Ganesanandamoorthy e Kwiatkowski (2013) observaram que, quando infectado por *H. defensa*, o pulgão *A. fabae* se tornava resistente ao parasitoide, porém com redução da longevidade.

São conhecidas as consequências negativas do estresse térmico sob afídeos (OHTAKA; ISHIKAWA, 1991), o que foi evidenciado em todos os clones de *L. pseudobrassicae* após o choque térmico. Entretanto, a presença de bactérias simbiotes, que conferem resistência aos parasitoides pode desempenhar um papel importante em situações de estresse por calor, minimizando os efeitos deletérios de altas temperaturas nos aspectos biológicos dos pulgões (CHEN et al., 2000; MONTLLOR; MAXMEN; PURCELL, 2002; RUSSELL; MORAN, 2006). Dessa forma, o esperado seria que pulgões *L. pseudobrassicae* resistentes apresentassem maior sobrevivência e menor período de desenvolvimento que os suscetíveis após o choque térmico. Por exemplo, Russel e Moran (2006) encontraram maior sobrevivência, após o choque térmico a 37,5°C, para os clones de *A. pisum* que apresentavam o simbiote *S. symbiotica* e *H. defensa* do que para os clones que não apresentavam esses simbiotes que conferem resistência ao parasitoide. Os mesmos autores encontraram menor período de desenvolvimento nos clones infectados do que nos não infectados por *S. symbiotica*, mas não houve diferença no período de desenvolvimento dos pulgões quando os simbiotes avaliados foram *H. defensa* e *R. inseticola*. No presente estudo, apesar de o choque térmico ter afetado negativamente a biologia de *L. pseudobrassicae*, não foi encontrada variação nos aspectos biológicos avaliados que pudesse ser relacionada a resistência ao parasitoide.

A maior consequência da exposição de afídeos a altas temperaturas está, provavelmente, na redução da fecundidade, podendo chegar à esterilização (OHTAKA;

ISHIKAWA, 1991). Estudos demonstraram que bactérias simbiotes que promovem a resistência ao parasitoide também podem desempenhar um papel importante em situações de estresse por calor, podendo sustentar a alta fecundidade e outros parâmetros biológicos do inseto em condições de alta temperatura (CHEN et al., 2000; MONTLLOR; MAXMEN; PURCELL, 2002; RUSSELL; MORAN, 2006). Russel e Moran (2006) relataram que os pulgões infectados por *S. symbiotica* foram 2,4 vezes mais fecundos após o choque térmico que os pulgões que não haviam sido infectados com a bactéria. Para os clones infectados com *H. defensa* e *R. inseticola*, Russel e Moran (2006) não encontraram diferença na fecundidade entre os clones infectados e não infectados, resultados semelhantes aos de Guay et al. (2009), os quais relataram que *S. symbiotica* associada com a tolerância ao calor em *A. pisum* não contribuiu para manter uma alta fecundidade nos afídeos.

Outro efeito da exposição a altas temperaturas é que pulgões resistentes podem se tornar suscetíveis ao parasitoide (BENSADIA et al., 2006; GUAY et al., 2009). Bensadia et al. (2006), em seu trabalho com clones do pulgão da ervilha, *A. pisum*, infectados com o simbiote *H. defensa*, observaram que, após esses indivíduos terem sido parasitados por *A. ervi*, a porcentagem de mumificação foi inferior a 10% à temperatura de 20°C. Porém, quando submetidos a 30 °C, a porcentagem de mumificação foi superior a 60% nos três clones infectados com o endossimbiote secundário. Os autores sugerem que a eliminação dos simbiotes em altas temperaturas tenha alterado a condição de resistente de *A. pisum*.

Não são todos os pulgões resistentes que perdem a resistência devido ao efeito de altas temperaturas. Guay et al. (2009) relataram que os clones infectados com *H. defensa* e PAXS foram capazes de permanecer resistentes após o estresse pelo calor, em contraste com aqueles infectados isoladamente com *S. symbiotica*, *H. defensa* e *R. inseticola*, os quais tiveram a resistência ao parasitoide *A. ervi* reduzida pelo calor. No presente trabalho, os clones resistentes de *L. pseudobrassicae* se mantiveram resistentes após o choque térmico, o que evidencia que o estresse por calor não reduziu a resistência do pulgão ao parasitoide *D. rapae*. Como não se conhece a espécie nem o número de espécies de simbiotes envolvidas na resistência de *L. pseudobrassicae* ao parasitoide (FERREIRA, 2013), diversos aspectos da resistência deste pulgão permanecem por ser elucidados.

7 CONCLUSÕES

Não houve custo adaptativo em pulgões *Lipaphis pseudobrassicae* resistentes ao parasitoide *Diaeretiella rapae* em condições favoráveis. Os clones de *L. pseudobrassicae* suscetíveis apresentaram menor taxa líquida de reprodução, menor período reprodutivo e menor longevidade; porém, a suscetibilidade não influenciou na taxa de crescimento populacional em função de se apresentar menor tempo entre gerações. A resistência ao parasitoide não esteve relacionada com a maior tolerância a temperaturas elevadas; e o choque térmico a alta temperatura não reduziu a resistência de *L. pseudobrassicae* a *D. rapae*.

REFERÊNCIAS

- ARMITAGE, S.A.O; THOMPSON, J.J.W; ROLFF, J; SIVA-JOTHY, M.T. Examining costs of induced and constitutive immune investment in *Tenebrio molitor*. **J. Evol. Biol.**, London, v. 16, p. 1038-1044, 2003.
- BAUMANN, P.; BAUMANN, L., LAI, C. Y.; ROUHBAKHSH, D.; MORAN, N. A.; CLARK, M. A. Genetics, physiology, and evolutionary relationships of the genus *Buchnera*: intracellular symbionts of aphids. **Annual Reviews in Microbiology**, Palo Alto, v. 49, n. 1, p. 55-94, 1995.
- BENSADIA F.; BOUDREAULT S.; GUAY J. F.; MICHAUD D.; CLOUTIER C. Aphid clonal resistance to a parasitoid fails under heat stress. **Journal of Insect Physiology**, Oxford, v. 52, n. 2, p. 146-157, 2006.
- BERNAL, J.; GONZÁLEZ, D. Reproduction of *Diaeretiella rapae* on Russian wheat aphid hosts at different temperatures. **Entomologia Experimentallis et Applicata**, Amsterdam, v. 82, p. 159-166, 1997.
- BLACKMAN, R. L.; EASTOP, V. P. **Aphids on the world's crops: an identification and information guide**. 2ª. ed. Chichester: J. Wiley & Sons, 2000.
- BLACKMAN, R. L; EASTOP, V. F. Taxonomic issues. In: EMDEN, H. F.; HARRINGTON, R. (ed.). **Aphids as crop pests**. Cambridge, MA, USA: CAB International, 2007. p. 1-30.
- BUCHNER, P. **Endosymbiosis of animals with plant microorganisms**. New York, Interscience, 1965.
- BUENO, V. H. P.; SAMPAIO, M. V. Desenvolvimento e multiplicação de parasitoides de pulgões. **Controle biológico de pragas: produção massal e controle de qualidade**. Lavras: Editora UFLA, 2009. v. 429, p. 117-167.
- BUENO, V. H. P.; SOUZA, B.M. Aspectos etológicos e longevidade de *Diaeretiella rapae* Mc'Intosh, 1855 (Hymenoptera: Aphidiidae). **Revista de Agricultura Piracicaba**, Piracicaba, v. 67, p. 49-54, 1992.
- BUENO, V. H. P.; SOUZA, B. M. Ocorrência e diversidade de insetos predadores e parasitoides na cultura de couve (*Brassica oleracea* var. *acephala*) em Lavras, MG, Brasil. **Anais da Sociedade Entomologica do Brasil**, Londrina, v. 22, p. 5-18, 1993.
- CAEYTANO, L.; ROTHACHER, L.; SIMON, J-C.; VORBURGER, C. Cheaper is not always worse: strongly protective isolates of a defensive symbiont are less costly to the aphid host. **Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences**, Edinburgh, v. 282, p. 1803- 1808, 2014.

- CARVER, M. Biological control of aphids. In: MINKS, A. K.; HARREWIJN, P. **Aphids: biology their natural enemies and control**. Amsterdam: Elsevier, p. 141-165, 1988.
- CARVER, M.; SULLIVAN, D. J. Encapsulative defence reactions of aphids (Hemiptera: Aphididae) to insect parasitoids (Hymenoptera: Aphidiidae and Aphelinidae). **Ecology and Effectiveness of Aphidophaga**, Teresin, v. 48, n. 3, p. 299-303, 1988.
- CHEN, D. Q.; MONTLLOR, C. B.; PURCELL, A. H. Fitness effects of two facultative endosymbiotic bacteria on the pea aphid, *Acyrtosiphon pisum*, and the blue alfalfa aphid, *A. kondoi*. **Entomologia experimentalis et applicata**, Amsterdam, v. 95, n. 3, p. 315-323, 2000.
- CHEN, D. Q.; PURCELL, A. H. Occurrence and transmission of facultative endosymbionts in aphids. **Current microbiology**, New York, v. 34, n. 4, p. 220-225, 1997.
- CIVIDANES, F. J. Impacto de inimigos naturais e de fatores meteorológicos sobre uma população de *Brevicoryne brassicae* (L.) (Hemiptera: Aphididae) em couve. **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 31, n. 2, p. 249-255, 2002.
- CIVIDANES, F. J.; SOUZA, V. P. Distribuição vertical de pulgões (Hemiptera: Aphididae) em couve. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 71, p. 254-256, 2004.
- DARBY, A. C., BIRKLE, L. M., TURNER, S. L.; DOUGLAS, A. E. An aphid-borne bacterium allied to the secondary symbionts of whitefly. **FEMS Microbiology Ecology**, Amsterdam, v. 36, n. 1, p. 43-50, 2006.
- DARBY, A. C.; DOUGLAS, A. E. Elucidation of the transmission patterns of an insect-borne bacterium. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 69, n. 8, p. 4403-4407, 2003.
- DION, E.; POLIN, S. E.; SIMON, J-C.; OUTREMAN, Y. Symbiont infection affects aphid defensive behaviours. **Biol. Lett.**, v. 7, p. 743-746, 2011.
- DIXON, A. F. G. Structures of aphid populations. **Annual Review of Entomology**, Palo Alto, v. 30, p.155-174, 1985.
- DOUGLAS, A. E. Nutritional interactions in insect-microbial symbioses: aphids and their symbiotic bacteria Buchnera. **Annual Review of Entomology**, Stanford, v. 43, p. 17-37, 1998.
- ELLIOTT, N. C.; BURD, J. D.; KINDLER, S. D.; LEE, J. H. Temperature effects on development of three cereal aphid parasitoids (Hymenoptera: Aphidiidae). **The Great Lakes Entomologist**, East Lansing, v. 28, n. 3, p. 137-142, 1995.
- HENTER, H. J.; VIA, S. The potential for coevolution in a host parasitoid system. I. genetic variation within an aphid population in susceptibility to a parasitic wasp. **Evolution**, Chicago, v. 49, p. 427-438, 1995.

HOSOKAWA, T., KIKUCHI, Y., SHIMADA, M.; FUKATSU. Symbiont acquisition alters behaviour of stinkbug nymphs. **Biol. Lett.**, London, v. 4, p. 45-48, 2008.

HUBAIDE, J. E. A. **Distribuição na planta, fatores climáticos e parasitismo na dinâmica populacional de pulgões (Hemiptera: Aphididae) em couve.** 2011. 52. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Instituto de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2011.

FERRARI, J.; DARBY, A. C.; DANIELL, T. J.; GODFRAY, H. C. J.; DOUGLAS, A. E. Linking the bacterial community in pea aphids with host plant use and natural enemy resistance. **Ecological Entomology**, London, v. 29, n. 1, p. 60-65, 2004.

FERRARI, J.; MÜLLER, C. B.; KRAAIJEVELD, A. R.; GODFRAY, H. C. J. Clonal variation and covariation in aphid resistance to parasitoids and a pathogen. **Evolution**, Chicago, v. 55, n. 9, p. 1805-1814, 2001.

FERREIRA, S. E. **Causa da resistência de *Lipaphis pseudobrassicae* (Davis, 1914) ao parasitoide *Diaeretiella rapae* (McIntosh, 1855) e sua influência sobre o parasitismo de *Myzus persicae* (Sulzer, 1776).** 2013. 67. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Instituto de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2013.

FUKATSU, T., NIKOH, N., KAWAI, R.; KOGA, R. The secondary endosymbiotic bacterium of the pea aphid *Acyrtosiphon pisum* (Insecta: Homoptera). **Applied and environmental microbiology**, Washington, v. 66, n. 7, p. 2748-2758, 2000.

GRIFFITHS, D. C. The development of *Monoctonus palidum* Marshall (Hymenoptera, Braconidae) in *Nasonia ribis-nigri* on lettuce and immunity reactions in other lettuce aphids. **Bulletin of Entomological Research**, Farnham Royal, v. 52, n. 1, p. 147-163, 1961.

GRIFFITHS, G. W.; BECK, S. D. Intracellular symbiotes in the pea aphids, *Acyrtosiphon pisum*. **Journal of Insect Physiology**, Oxford, v. 19, p. 75-84, 1973.

GUAY, J-F.; BOUDREAULT, S.; MICHAUD, D.; CLOUTIER, C. Impact of environmental stress on aphid clonal resistance to parasitoids: Role of Hamiltonella defensa bacterial symbiosis in association with a new facultative symbiont of the pea aphid. **Journal of Insect Physiology**, Oxford, v. 55, p. 919-926, 2009.

GWYNN, D. M.; CALLAGHAM, A.; GORHAM, J.; WALTERS, K. F. A.; FELLOWES, M.D.E. Resistance is costly: trade-offs between immunity, fecundity and survival in the pea aphid. **Proceeding of the Royal Society. B**, London, v. 272, p. 1803-1808, 2005.

LOCHMILLER, R. L.; DEERENBERG, C. Trade-offs in evolutionary immunology: just what is the cost of immunity? **Oikos**, Lund, v. 88, p. 87-98, 2000.

MA, C. S.; HAU, B.; POEHLING, H. M. The effects of heat stress on the survival of the rose grain aphid, *Metopolophium dirhodum* (Hemiptera: Aphididae). **Eur. J. Entomol.**, Branisovska, v. 101, p. 327-331, 2004.

MAIA, H. N. M.; LUIZ, A. J. B.; CAMPANHOLA, C. Statistical inference on associated fertility life table parameters using jackknife technique: computational aspects. **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v. 93, p. 511-518, 2000.

McLEAN, D. L.; HOUK, E. J. Phase contrast and electron microscopy of the mycetocytes and symbiotes of the pea aphid, *Acyrtosiphon pisum*. **Journal of Insect Physiology**, Oxford, v. 19, n. 3, p. 625-633, 1973.

MESCHELOFF, E.; ROSEN, D. Biosystematic studies on the Aphidiidae of Israel (Hymenoptera: Icheumonoidea). The genera *Pauesia*, *Diaeretus*, *Aphidius* and *Diaeretiella*. **Israel Journal of Entomology**, Israel, v. 24, p. 51-91, 1990.

MEYER, J. S. et al. Estimating uncertainty in population growth rates: jackknife vs. Bootstrap techniques. **Ecology**, Tempe, v. 67, p. 1156-1166, 1986.

MONTLLOR, C. B; MAXMEN, A.; PURCELL, A. H. Facultative bacterial endosymbionts benefit pea aphid *Acyrtosiphon pisum* under heat stress. **Ecological Entomology**, London, v. 27, p. 189-195, 2002.

MORAN, Nancy A.; DUNBAR, Helen E. Sexual acquisition of beneficial symbionts in aphids. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, Washington, v. 103, n. 34, p. 12803-12806, 2006.

MUSSURY, R. M.; FERNANDES, W. D. Occurrence of *Diaeretiella rapae* (Mc'Intosh, 1855) (Hymenoptera: Aphidiidae) parasitising *Lipaphis erysimi* (Kaltenbach, 1843) and *Bravicornyne brassicae* (L. 1758) (Homoptera: Aphididae) in *Brassica napus* in Mato Grosso do Sul. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, Curitiba, v. 45, n. 1, p. 41-46, 2002.

OHTAKA, C; ISHIKAWA, H. Effects of heat treatment on the symbiotic system of an aphid mycetocyte. **Symbiosis**, v. 11, p. 19-30, 1991.

OLIVER, K. M.; CAMPS, J.; MORAN, N.A.; HUNTER, M.S. Population dynamics of defensive symbionts in aphids. **Proceeding of the Royal Society. B: Biological Sciences**, Edinburgh, v. 275, p. 293-299, 2008.

OLIVER, K. M., DEGNAN, P. H., BURKE, G. R. MORAN, N. A. Facultative symbionts in aphids and the horizontal transfer of ecologically important traits. **Annu. Rev. Entomol.**, Stanford, v. 55, p. 247-266, 2010.

OLIVER, K. M.; MORAN, N. A. Defensive symbionts in aphids and other insects. In: WHITE, J. F.; TORRES, M. S. **Defensive mutualism in microbial symbiosis**. CRC, v. 27, p. 129-148, 2009.

OLIVER, K. M.; MORAN, N. A.; HUNTER, M. S. Variation in resistance to parasitism in aphids is due to symbionts not host genotype. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, Washington, v. 102, n. 36, p. 12795-12800, 2005.

OLIVER, K. M.; RUSSELL, J. A.; MORAN, N. A.; HUNTER, M. S. Facultative bacterial symbionts in aphids confer resistance to parasitic wasps. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, Washington, v. 100, n. 4, p. 1803-1807, 2003.

OLIVEIRA, R. S.; SAMPAIO, M. V.; FERREIRA, S. E.; RIBEIRO, L. C. M.; TANNÚS-NETO, J. Low parasitism by *Diaeretiella rapae* (Hym.: Braconidae) of *Lipaphis pseudobrassicae* (Hemip.: Aphididae): pre-or post-ovipositional host resistance? **Biocontrol Science and Technology**, Oxford, v. 23, n. 1, p. 79-91, 2013.

PEÑA-MARTÍNEZ, R. **Afidos como Vectores de Vírus en Mexico**. Montecillo: Centro de Fitopatología, 1992.

PIKE, K. S. et al. Host range and habitats of the aphid parasitoid *Diaeretiella rapae* (Hymenoptera: Aphidiidae) in Washington state. **Environmental Entomology**, Lanham, v. 28, n. 1, p. 61-71, 1999.

PROSSER, W. A.; DOUGLAS, A. E. J. **Insect Physiol.**, v. 37, p. 713-719, 1991.

ROITBERG, B. D.; MYERS, J. H. Behavioral and physiological adaptations of pea aphids (Homoptera: Aphididae) to high ground temperatures and predator disturbance. **The Canadian Entomologist**, Québec, v. 111, n. 4, p. 515-519, 1979.

RUSSELL, J. A.; LATORRE, A.; SABATER-MUÑOZ, B.; MOYA, A.; MORAN, N. A. Side stepping secondary symbionts: widespread horizontal transfer across and beyond the Aphidoidea. **Molecular Ecology**, Oxford, v. 12, n. 4, p. 1061-1075, 2003.

RUSSELL, J.A.; MORAN, N.A. Costs and benefits of symbiont infection in aphids: variation among symbionts and across temperatures. **Proc. Biol. Sci**, Washington, v. 273, p. 603-610. 2006.

RUSSELL, J. A.; MORAN, N. A. Horizontal transfer of bacterial symbionts: heritability and fitness effects in a novel aphid host. **Applied and environmental microbiology**, Washington, v. 71, n. 12, p. 7987-7994, 2005.

SANDSTRÖM, J. P.; RUSSELL, J. A.; WHITE, J. P.; MORAN, N. A. Independent origins and horizontal transfer of bacterial symbionts of aphids. **Molecular Ecology**, Oxford, v. 10, n. 1, p. 217-228, 2001.

SAMPAIO, M. V. **Bioecologia de *Aphidius colemani* Vierck, 1912 (Hymenoptera: Braconidae, Aphidiinae)**. Lavras: UFLA, 2004.

STARÝ, P. Aphidiidae. In: MINKS, A. K.; HARREWIJN, P. (ed.). **Aphids: their biology, natural enemies and control**. Amsterdam: Elsevier, 1988. p. 171-184.

STARÝ, P. Alternative host and parasitoid in first method in aphid pest management in glasshouses. **Journal of Applied Entomology**, Hamburg, v. 116, p. 187-191, 1993.

STARÝ, P.; SAMPAIO, M. V.; BUENO, V. H. P. Aphid parasitoids (Hymenoptera, Braconidae, Aphidiinae) and their associations related to biological control in Brazil. **Revista Brasileira de Entomologia**, São Paulo, v. 51, n. 1, p. 107-118, 2007.

SOUSA-SILVA, C. R.; ILHARCO, F. A. **Afídeos do Brasil e suas plantas hospedeiras: lista preliminar**. São Carlos: EDUFSCar, 1995.

TSUCHIDA, T.; KOGA, R.; SHIBAO, H.; MATSUMOTO, T.; FUKATSU, T. Diversity and geographic distribution of secondary endosymbiotic bacteria in natural populations of the pea aphid, *Acyrtosiphon pisum*. **Molecular Ecology**, Oxford, v. 11, n. 10, p. 2123-2135, 2002.

TURAK, E.; SUNNUCKS, P.; HALES, D. F. Different responses to temperature in three closely-related sympatric cereal aphids. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, Amsterdam, v. 86, p. 49-58, 1998.

VAUGHN, T. T.; ANTOLIN, M. F. Population genetics of an opportunistic parasitoid in an agricultural landscape. **Heredity. Sheffield**, London, v. 80, p. 152-162, 1998.

VAZ, L. A. L.; TAVARES, M. T.; LOMÔNACO, C. Diversidade e tamanho de himenópteros parasitóides de *Brevicoryne brassicae* L. e *Aphis nerii* Boyer de Fonscolombe (Hemiptera:Aphididae). **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 33, n. 2., 2004.

VON BURG, S.; FERRARI, J.; MÜLLER, C. B.; VORBURGER, C. Genetic variation and covariation of susceptibility to parasitoids in the aphid *Myzus persicae*: no evidence for trade-offs. **Proc. R. Soc**, London, v. 275, p. 1089-1094, 2008.

VORBURGER, C.; GANESANANDAMOORTHY, P.; KWIATKOWSKI, M. Comparing constitutive and induced costs of symbiont-conferred resistance to parasitoids in aphids. **Ecology and Evolution**, New York, v. 3, n. 3, p. 706-713, 2013.

VORBURGER, C.; GEGENSCHATZ, S. E.; RANIERI, G.; RODRIGUEZ, P. Limited scope for maternal effects in aphid defence against parasitoids. **Ecological Entomology**, London, v. 33, n. 2, p. 189-196, 2008.

VORBURGER, C.; A. GOUSKOV. Only helpful when required: a longevity cost of harbouring defensive symbionts. **Journal Evolutionary Biology**, New York, v. 24, n. 7, p. 1611-1617, 2011.

WALKER, A. M.; HOY, M. A. Responses of *Lipolexis oregmae* (Hymenoptera: Aphidiidae) to different instars of *Toxoptera citricida* (Homoptera: Aphididae). **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v. 96, n. 1, p. 1685-1692, 2003.

XU, Q.; MENG, L.; LI, B.; MILLS, N. Influence of host size variation on the development of a koinobiont aphid parasitoid, *Lysiphlebus ambiguus* Haliday (Braconidae, Hymenoptera). **Bulletin of Entomological Research**, Farnham Royal, v. 98, n. 4, p. 389-395, 2008.