

PAULA DE FREITAS SILVA

RESISTÊNCIA A ACETAMIPRIDO DE *Lipaphis pseudobrassicae* (DAVIS)
(HEMIPTERA: APHIDIDAE) RESISTENTES E SUSCETÍVEIS AO PARASITOIDE
Diaeretiella rapae (MC'INTOSH) (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 Vinicius Sampaio

UBERLÂNDIA
MINAS GERAIS – BRASIL
2016

PAULA DE FREITAS SILVA

RESISTÊNCIA A ACETAMIPRIDO DE *Lipaphis pseudobrassicae* (DAVIS)
(HEMIPTERA: APHIDIDAE) RESISTENTES E SUSCETÍVEIS AO PARASITOIDE
Diaeretiella rapae (MC'INTOSH) (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 19 de dezembro de 2016.

Prof. Dr. Fernando Juari Celoto

UFU

Dr. Sérgio Macedo Silva

UFU

Prof. Dr. Jader Braga Maia

UNIPAC

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

UBERLÂNDIA
MINAS GERAIS – BRASIL
2016

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

S586r
2016 Silva, Paula de Freitas, 1990
Resistência a acetamiprido de *Lipaphis pseudobrassicae* (Davis)
(Hemiptera: Aphididae) resistentes e suscetíveis ao parasitoide
Diaeretiella rapae (McIntosh) (Hymenoptera: Braconidae, Aphidiinae) /
Paula de Freitas Silva. - 2016.
34 p. : il.

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

1. Agronomia - Teses. 2. Pragas - Controle biológico - Teses. 3.
Doenças e pragas - Controle biológico - Teses. 4. Pragas - Controle
químico - Teses. I. Sampaio, Marcus Vinicius. II. Universidade Federal
de Uberlândia. Programa de Pós-Graduação em Agronomia. III. Título.

CDU: 631

Aos meus pais Sandra e Dante, pelo amor e exemplo que são,

À minha amada avó Angélica,

DEDICO e AGRADEÇO

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, por me dar saúde e força para seguir sempre nos melhores caminhos, sem Ele nada seria possível.

Aos meus pais, por todo o amor e por me apoiarem sempre em todas as minhas decisões. Vocês são meu alicerce.

Aos meus familiares, minha irmã Marcela, minha prima Natália, pela ajuda e apoio que me deram ao longo deste projeto.

Ao meu namorado Júlio César, pela paciência, companheirismo, compreensão e ajuda durante todo esse caminho percorrido.

Ao meu orientador Prof. Dr. Marcus Vinicius Sampaio, pela paciência e pela orientação durante a execução do projeto.

Ao Professor Doutor Stephan Malfitano Carvalho, pela ajuda e orientação.

Ao Professor Doutor Jader Braga Maia, pela cooperação e ajuda na execução do projeto.

Aos amigos do LACOB-UFU, por toda ajuda na condução desse projeto.

Aos membros da banca examinadora Prof. Dr. Jader Braga Maia, Prof. Dr. Fernando Juari Celoto e Prof. Dr. Sérgio Macedo Silva, pela disponibilidade e ensinamentos.

E à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG), pela bolsa durante meu primeiro ano de estudos na pós-graduação e pelo apoio financeiro do PROJETO Nº BPD-00624-14. À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pelo apoio financeiro ao Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia dos Hymenoptera Parasitoides da Região Sudeste Brasileira.

RESUMO

SILVA, Paula de Freitas. **Resistência a acetamiprido de *Lipaphis pseudobrassicae* (Davis) (Hemiptera: Aphididae) resistentes e suscetíveis ao parasitoide *Diaeretiella rapae* (Mc'Intosh) (Hymenoptera: Braconidae, Aphidiinae).** 2016. 34 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia/Fitotecnia) – Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia.

O pulgão *Lipaphis pseudobrassicae* (Davis) tem apresentado baixo parasitismo por *Diaeretiella rapae* (Mc'Intosh) na região de Uberlândia, provavelmente pela associação com endossimbiontes secundários. Esses simbiossiontes podem conferir vantagens adaptativas aos pulgões, como o aumento da resistência aos parasitoides e ao calor. Além disso, os simbiossiontes podem aumentar a produção do citocromo P450, principal enzima responsável pela degradação de inseticidas. Assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar a relação da resistência de *L. pseudobrassicae* ao parasitoide *D. rapae* com a resistência ao inseticida acetamiprido, a fim de verificar se a resistência ao parasitoide pode aumentar a resistência ao inseticida. Para isso, a dose letal de acetamiprido para matar 50% dos indivíduos (DL_{50}) e a fecundidade dos insetos submetidos à aplicação do inseticida foram avaliadas para pulgões resistentes e suscetíveis ao parasitoide. Foram utilizados quatro grupos de *L. pseudobrassicae* coletados em Uberlândia, MG. Os dois primeiros foram formados, respectivamente, por indivíduos de um mesmo clone (C1), resistentes (C1R) e suscetíveis (C1S) ao parasitoide. O terceiro grupo foi formado por indivíduos resistentes ao parasitoide de um clone coletado em canola (C2R) e o quarto grupo, por sua vez, foi formado por indivíduos de uma população proveniente de lavoura comercial de couve (P1). Para a determinação da DL_{50} , 30 indivíduos de cada grupo de pulgões, separados em três repetições de 10 insetos, foram submetidos a ensaios do tipo dose-resposta, com a aplicação de cinco concentrações do inseticida acetamiprido (0,01, 0,1, 1, 10 e 100 ng. i.a./pulgão), além de um tratamento controle utilizando apenas acetona. Foram observadas a mortalidade e o número de ninfas produzidas 72 horas após a aplicação do produto e determinada a DL_{50} . Não houve diferença para a DL_{50} dos indivíduos do mesmo clone, e C1R e C1S (0,06 e 0,06 ng. i.a./pulgão, respectivamente). O clone C2R foi o que apresentou a maior DL_{50} (0,14 ng.i.a./pulgão) e P1 a menor (0,01 ng.i.a./pulgão). De maneira análoga, a fecundidade do clone C2R foi a maior, de P1 a menor e os indivíduos do mesmo clone C1 não apresentaram diferença no número de ninfas produzidas. Portanto, não se pode afirmar que a resistência ao parasitoide está associada à resistência ao inseticida, e o controle químico com acetamiprido é uma opção para o controle de *L. pseudobrassicae* resistente ao parasitoide *D. rapae*.

Palavras-chave: Controle biológico, Controle químico, Manejo Integrado de Pragas, Pulgão.

ABSTRACT

SILVA, Paula de Freitas. **Acetaprimid resistance of *Lipaphis pseudobrassicae* (Davis) (Hemiptera: Aphididae) resistant and susceptible to parasitoid *Diaeretiella rapae* (Mc'Intosh) (Hymenoptera: Braconidae, Aphidiinae).** 2016. 34p. Dissertation (Masters in Agronomy/Fitotecnia) – Federal University of Uberlândia.

The aphid *Lipaphis pseudobrassicae* (Davis) has been shown low parasitism to parasitoid *Diaeretiella rapae* (Mc'Intosh) in Uberlândia region, probably due to secondary endosymbionts association. These symbionts can provide adaptive advantages to aphids such as increased resistance to parasitoids and heat. Moreover, symbionts can increase the production of cytochrome P450, which is the main enzyme on degradation of insecticides. Therefore, the objective of this study was to evaluate the resistance relationship of *L. pseudobrassicae* to the parasitoid *D. rapae* with the resistance to acetaprimid insecticide. This was done in order to verify if the resistance to parasitoid can increase the resistance to insecticide. To do so, the lethal dose of acetaprimid to kill 50% of the individuals (LD_{50}) and the fecundity of the insects submitted to insecticide application were evaluated for aphids resistant and susceptible to parasitoid. We used four groups of *L. pseudobrassicae* collected in Uberlândia, MG. The first two groups were formed, respectively, by individuals of the same clone (C1), resistant (C1R) and susceptible (C1S) to parasitoid. The third group was formed by resistant individuals of a clone collected in canola (C2R) and the fourth group was formed by individuals from a population of commercial farming of cabbage (P1). To determine the LD_{50} we used 30 individuals of each aphid group, separated in three repetitions of 10 insects, which were submitted to dose-response trials with five concentration of acetaprimid insecticide (0.01, 0.1, 1, 10 and 100 ng. i.a/aphid). Besides, a control treatment using only acetone was done. The mortality and the number of nymphs produced 72 hours after the product application were observed and the LD_{50} was determined. There was no difference to LD_{50} for individuals of the same clone, C1R and C1S (0,06 e 0,06 ng. ia./aphid, respectively). The clone C2R showed the highest LD_{50} (0,14 ng. i.a/aphid) and P1 had the lowest (0,01 ng. i.a/aphid). Analogously, fecundity of C2R clones was the highest one while P1 had the lowest. The individuals of the same clone C1 did not show any difference on the number of nymphs produced. Thus, it cannot be assumed that resistance to the parasitoid is associated with resistance to the insecticide and the chemical control with acetaprimid is an option for controlling *L. pseudobrassicae* resistant to parasitoid *D. rapae*.

Keywords: Biological control, Chemical control, Integrated pest management, Aphid.

SUMÁRIO

RESUMO.....	i
ABSTRACT.....	ii
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. OBJETIVOS.....	3
2.1 Objetivo geral.....	3
2.2 Objetivos específicos.....	3
2.2.1.1 Determinar os valores de DL ₅₀ para os pulgões resistentes e suscetíveis ao parasitoide <i>D. rapae</i>	3
2.2.2 Verificar o efeito subletal do inseticida acetamiprido na fecundidade dos pulgões resistentes e suscetíveis ao parasitoide <i>D. rapae</i>	3
2.2.3 Verificar se os pulgões resistentes ao parasitoide <i>D. rapae</i> apresentam alteração na resistência ao inseticida.	3
3. REVISÃO DE LITERATURA.....	4
3.1 Morfologia e biologia dos pulgões.....	4
3.2 Pulgões em brássicas.....	5
3.3 Controle biológico.....	6
3.4 Parasitoide <i>Diaeretiella rapae</i>	7
3.5 Resistência do hospedeiro <i>Lipaphis pseudobrassicae</i> ao parasitoide <i>Diaeretiella rapae</i>	8
3.6 Modo de ação dos inseticidas neonicotinoides.....	9
3.7 Resistência a neonicotinoides.....	10
4. MATERIAL E MÉTODOS.....	13
4.1 Produção de mudas, coleta e criação de insetos.....	13
4.2 Seleção do clone C2R de <i>L. pseudobrassicae</i> coletado em canola.....	14
4.3 Análises dos dados.....	16
5. RESULTADOS.....	17
5.1 Determinação da toxicidade aguda do inseticida acetamiprido em <i>L. pseudobrassicae</i> resistente e suscetível a <i>D. rapae</i>	17
5.2 Efeito subletal do inseticida acetamiprido na fecundidade de <i>L. pseudobrassicae</i> resistente e suscetível a <i>D. rapae</i>	19
6. DISCUSSÃO.....	21
7. CONCLUSÕES.....	24
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	25

1. INTRODUÇÃO

O pulgão *Lipaphis pseudobrassicae* (Davis) (Hemiptera: Aphididae) é uma praga cosmopolita de brássicas, que causa danos diretos ao se alimentar das folhas, provocando encarquilhamento e amarelecimento destas, além de danos indiretos, pela transmissão de mais de 10 tipos de vírus fitopatogênicos, entre eles o anel negro da couve, mosaicos da couve-flor, nabo e rabanete (PEÑA-MARTINEZ, 1992; BLACKMAN; EASTOP, 2007). Por ser uma praga de ampla distribuição, seu controle é extremamente importante em áreas de produção de brássicas, como canola, couve, brócolis e couve-flor (BLACKMAN; EASTOP, 2000).

O uso do controle biológico se insere em programas de Manejo Integrado de Pragas e tem potencial de ser de baixo custo e livre de substâncias químicas (BELLOWS, 2001; PARRA et al., 2002). O principal inimigo natural de pulgões em brássicas é o parasitoide *Diaeretiella rapae* (McIntosh) (Hymenoptera: Braconidae, Aphidiinae) (CIVIDANIS, 2002; STARÝ et al., 2007; HUBAIDE, 2011), entretanto, Hubaide (2011) verificou baixo parasitismo de *D. rapae* em *L. pseudobrassicae* e Oliveira et al. (2013) e Ferreira (2013) sugerem que a população de *L. pseudobrassicae* em Uberlândia-MG seja formada por maioria de clones resistentes a esse parasitoide.

Embora não tenha sido confirmada a presença de simbioses secundários em *L. pseudobrassicae*, segundo Ferreira (2013), a provável causa dessa resistência é a presença de endossimbiontes, por não haver estruturas de encapsulamento dos parasitoides no interior dos pulgões resistentes e por haver perda de resistência na prole de clones idênticos, produzidos por partenogênese telítoca. A associação dos pulgões com esses simbioses pode resultar em vantagens adaptativas, como o aumento da resistência ao calor e capacidade de utilizar plantas hospedeiras, as quais somente são utilizadas pelos pulgões se houver os simbioses (CHEN et al., 2000; OLIVER et al., 2003; TSUCHIDA et al., 2002). Dos estudos realizados por nosso grupo de trabalho, *L. pseudobrassicae* resistente apresentou longevidade e período reprodutivo mais longos e maior taxa líquida de reprodução (R_0), indicando vantagens adaptativas em clones resistentes (OLIVEIRA, 2016). Porém, ainda não foram desenvolvidos estudos para verificar se a resistência ao parasitoide pode alterar a resistência aos inseticidas.

O controle químico é muito utilizado no controle de pragas agrícolas, porém a frequência de utilização e o uso incorreto (sem respeitar as doses recomendadas, os

intervalos de aplicação e a rotação de ingredientes ativos) têm levado ao aumento da resistência das populações aos inseticidas (HEMINGWAY; RANSON, 2000). Para insetos resistentes, a dose necessária para matar 50% da população (DL_{50}) é maior do que para indivíduos suscetíveis (FERRARI, 1996). A determinação dos valores da DL_{50} é utilizada no monitoramento do progresso da resistência em uma determinada população (FINNEY, 1971). Porém, não é só o efeito letal do inseticida que determina seu efeito sobre os insetos, o efeito subletal, como diminuição da fecundidade e da longevidade e alterações do período de desenvolvimento, também é um importante componente da avaliação da resistência de insetos aos inseticidas (VINSON, 1974; STARK; RANGUS, 1994; STORCH et al., 2007; FERRARI, 2009.)

A resistência a inseticidas pode ocorrer em virtude de modificações comportamentais do inseto, modificações na composição da cutícula, reduzindo a penetração, resistência metabólica e modificação nos sítios alvo dos inseticidas (STONE; BROWN, 1969; MBOGO et al., 1996; HEMINGWAY, 2000; MATHENGE et al., 2001; FFRENCH-CONSTANT et al., 2004). Recentemente, foi evidenciado que simbiontes secundários podem alterar a produção de enzimas, como o citocromo P450, responsável pela degradação de inseticidas (GUIDOLIN, 2016), o que pode levar à maior resistência aos inseticidas em pulgões que apresentam associação com simbiontes secundários.

Estudos de nosso grupo de trabalho têm demonstrado que o controle biológico com o parasitoide *D. rapae* não é viável para o pulgão *L. pseudobrassicae*, sugerindo que outras formas de controle precisam ser avaliadas (HUBAIDE, 2011; FERREIRA, 2013; OLIVEIRA, 2016). Por isso, foi considerado o controle químico com neonicotinoides, como o acetamiprido, por ser um inseticida sistêmico que é rapidamente absorvido pela planta e translocado pela seiva para várias regiões em quantidades letais para os insetos sugadores, como os pulgões (MARICONI, 1977; TOMIZAWA; CASIDA, 2003; FARIA, 2009). No entanto, não se sabe se a resistência de *L. pseudobrassicae* ao parasitoide *D. rapae* pode levar ao aumento da resistência a inseticidas, o que dificultaria ainda mais o controle de *L. pseudobrassicae*. Dessa forma, o objetivo deste trabalho foi verificar a DL_{50} do inseticida acetamiprido e o seu efeito subletal na fecundidade de clones de *L. pseudobrassicae* resistentes e suscetíveis ao parasitoide *D. rapae*, visando verificar se existe relação entre a resistência ao parasitoide e a resistência ao inseticida.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Avaliar a relação da resistência de *L. pseudobrassicae* ao parasitoide *D. rapae* com a resistência ao inseticida acetamiprido.

2.2 Objetivos específicos

2.2.1.1 Determinar os valores de DL₅₀ para os pulgões resistentes e suscetíveis ao parasitoide *D. rapae*.

- Hipótese nula (H₀): os valores de DL₅₀ para os pulgões resistentes e suscetíveis ao parasitoide *D. rapae* são semelhantes.
- Hipótese alternativa (H₁): os valores de DL₅₀ para os pulgões resistentes e suscetíveis ao parasitoide *D. rapae* são diferentes.

2.2.2 Verificar o efeito subletal do inseticida acetamiprido na fecundidade dos pulgões resistentes e suscetíveis ao parasitoide *D. rapae*.

- Hipótese nula (H₀): o efeito subletal na fecundidade dos pulgões resistentes e suscetíveis ao parasitoide *D. rapae* são semelhantes.
- Hipótese nula (H₁): o efeito subletal na fecundidade dos pulgões resistentes e suscetíveis ao parasitoide *D. rapae* são diferentes.

2.2.3 Verificar se os pulgões resistentes ao parasitoide *D. rapae* apresentam alteração na resistência ao inseticida.

- Hipótese nula (H₀): os pulgões resistentes ao parasitoide *D. rapae* não apresentam alteração na resistência ao inseticida.
- Hipótese nula (H₁): os pulgões resistentes ao parasitoide *D. rapae* apresentam alteração na resistência ao inseticida.
- Hipótese alternativa (H_{1.1}): os pulgões resistentes ao parasitoide *D. rapae* apresentam redução na resistência ao inseticida.
- Hipótese alternativa (H_{1.2}): os pulgões resistentes ao parasitoide *D. rapae* apresentam aumento na resistência ao inseticida.

3. REVISÃO DE LITERATURA

3.1 Morfologia e biologia dos pulgões

Os pulgões são insetos pequenos pertencentes à ordem Hemiptera, superfamília Aphidoidea, que sugam a seiva de plantas penetrando nos tecidos foliares por meio de seus estiletes. São um grupo de insetos com origem predominantemente das regiões temperadas do hemisfério norte e com poucas espécies tropicais (BLACKMAN; EASTOP, 2000). Sua reprodução em regiões temperadas se dá por partenogênese cíclica, alternando entre reprodução sexuada e partenogenética. Porém, em condições tropicais e subtropicais, só ocorre a reprodução partenogenética, a qual proporciona alta capacidade reprodutiva para esses insetos (BLACKMAN; EASTOP, 2000). A partenogênese nos pulgões é do tipo telítoca, e nesse tipo de reprodução são originadas fêmeas, clones de suas mães e que podem ser ápteras, com grande capacidade de reprodução, ou aladas, com grande capacidade de dispersão (DIXON, 1973; HOLMAN, 1974; MINKS; HARREWIJN, 1988; BLACKMAN; EASTOP, 2007).

Os afídeos possuem características morfológicas bem específicas que são utilizadas na identificação das espécies, como o sifúnculo, que é um órgão secretor, antenas com cinco ou seis segmentos e a cauda, usada para eliminar gotas das fezes açucaradas (“honeydew”) (BLACKMAN; EASTOP, 2007).

Os danos causados pela alimentação dos pulgões podem ser diretos, como a sucção da seiva que causa encarquilhamento e amarelecimento das folhas e brotos, prejudicando o crescimento das plantas; e indiretos, como a injeção de toxinas, transmissão de viroses em plantas e a excreção de “honeydew”, que propicia o crescimento do fungo causador da fumagina (*Capnodium* sp.), depreciando frutos e flores e reduzindo a capacidade fotossintética das plantas (CARRERA, 1973; PEÑAMATÍNEZ, 1992; DREES; JACKMAN, 1999; BLACKMAN; EASTOP, 2000; BRITO, 2003; SAMPAIO, 2004). Estima-se que mais da metade dos 600 vírus de plantas conhecidos hoje, sejam transmitidos por pulgões (LOZANO, 2005) e um único indivíduo pode contaminar diversas plantas, causando grandes perdas na produção, o que se agrava com a ampla distribuição mundial desses insetos (SOUZA-SILVA; ILHARCO, 1995; DIXON, 1998).

3.2 Pulgões em brássicas

Nas plantas da família Brassicaceae são encontradas três espécies de pulgões, *Brevicoryne brassicae* (Linné) e *Lipaphis pseudobrassicae*, que são espécies especialistas em brássicas, e *Myzus persicae* (Sulzer), que é uma espécie generalista (BLACKMAN; EASTOP, 2000). As brássicas são plantas que produzem glucosinolatos (compostos tioglicosídeos que contêm azoto e enxofre). Esses compostos são produzidos quando o tecido da planta é danificado, e a sua hidrólise resulta na formação de compostos tóxicos para diversas espécies. Os herbívoros capazes de se alimentar dessas plantas metabolizam, excretam ou sequestram em vacúolos esses compostos tóxicos (HOPKINS et al., 2009). Especialistas em brássicas, como *L. pseudobrassicae* e *B. brassicae*, conseguem se alimentar, pois sequestram esses glucosinolatos, evitando que sofram hidrólise em compostos tóxicos (BRIDGES et al., 2002; KAZANA et al., 2007). Já a espécie generalista *M. persicae* consegue colonizar as Brassicaceas, porém somente tolera e excreta esses compostos tóxicos (WEBER et al., 1986).

O pulgão *L. pseudobrassicae* é uma praga cosmopolita de brássicas, com ampla distribuição mundial (BLACKMAN; EASTOP, 2007). Sua forma áptera é de tamanho pequeno a médio, podendo apresentar coloração amarela, cinza ou verde oliva, com uma pequena camada de cera branca. Possuem de 1,85 a 2,05 mm de comprimento, fronte sinuosa, sífúnculos ligeiramente escurecidos 2,08 a 2,36 vezes mais compridos que a cauda que, por sua vez, apresenta uma ligeira constrição no ápice. Os alados têm coloração verde oliva, com franjas transversais nos últimos segmentos do abdome, após os sífúnculos (PEÑA-MARTINEZ, 1992; BLACKMAN; EASTOP, 2007).

A espécie *L. pseudobrassicae* ataca folhas completamente desenvolvidas (HUBAIDE, 2011) e coloniza a parte inferior dessas folhas, partes terminais de talos e inflorescências (PEÑA-MARTINEZ, 1992). Seu ataque causa o encarquilhamento e amarelecimento das folhas, além de atuar como vetor de 10 tipos de vírus não persistentes, entre eles o vírus do mosaico do nabo (potivirus) do rabanete (comovirus) e da couve-flor (caulimovirus) e o vírus responsável pelo anel negro da couve (potivirus) (BLACKMAN; EASTOP, 2007).

Segundo Godoy e Cividanes (2002), os pulgões da espécie *L. pseudobrassicae* apresentam pico reprodutivo a 25°C, reprodução intermediária a 20°C e reprodução mais baixa a 15 e 30°C, apresentando maior fecundidade diária e menor longevidade no verão do que no inverno.

3.3 Controle biológico

O método de controle de insetos pragas não poluente, de baixo impacto ambiental, que visa a redução da população da praga ao nível de equilíbrio, a partir do uso de populações de inimigos naturais, é denominado controle biológico (PARRA et al., 2002; OLIVEIRA et al., 2013a). Segundo DeBach e Schlinger (1964), o controle biológico é definido como a ação de parasitoides, predadores e patógenos na manutenção da densidade populacional de um outro organismo a um nível mais baixo do que quando na ausência do inimigo natural. O controle biológico pode ser definido ainda como uma técnica para reduzir a população de uma espécie que tem a capacidade de provocar algum dano econômico, ou ainda para reduzir populações de insetos-praga, plantas daninhas, patógenos de plantas e nematoides (MELO; AZEVEDO, 1998; ROMEIRO, 2007).

O Manejo Integrado de Pragas (MIP) de sistemas convencionais de cultivo tem empregado muito o uso do controle biológico, tornando possível a utilização harmoniosa com outros métodos de controle, como o controle cultural, físico, de resistência de plantas a insetos e até mesmo integrado com o controle químico na utilização de produtos seletivos (BUENO; VAN LETEREM 2011; OLIVEIRA et al., 2013a).

Uma das formas mais comuns de controle biológico consiste em introduzir um inimigo natural exótico nos agroecossistemas afetados por uma praga, nos quais esse inimigo natural vai se estabelecer, sendo denominado de controle biológico clássico. Esse tipo de controle ocorre de forma lenta e gradativa, sendo melhor utilizado em culturas perenes ou semi-perenes. O controle biológico conservativo ou natural consiste na manipulação do ambiente para que este se torne favorável ao desenvolvimento e manutenção dos inimigos naturais. E o controle biológico aplicado ou aumentativo consiste na liberação inundativa de inimigos naturais, visando a rápida redução da população da praga (PARRA et al., 2002).

Os principais agentes do controle biológico são entomopatógenos (fungos, vírus, bactérias e nematoides) e os entomófagos, divididos em predadores e parasitoides. Os predadores são indivíduos de vida livre, geralmente maiores que suas presas e precisam de inúmeras presas para completar seu ciclo, podendo apresentar um comportamento predatório tanto no estágio de ninfas ou larvas quanto no estágio adulto (DEBACH; SCHILINGER, 1964; WAAGE, 1986; VAN LENTEREN et al., 2003). Já os

parasitoides não matam imediatamente seu hospedeiro, permanecendo como parasitas por períodos variáveis e utilizando-o para o desenvolvimento do parasitoide, o qual exige somente um indivíduo para completar seu desenvolvimento, sendo que o estágio adulto tem vida livre (VINSON, 1997; PARRA et al., 2002).

Para o controle biológico de pulgões, o uso de parasitoides tem se mostrado mais eficiente (CARVER, 1988). Acredita-se que existam cerca de 800 mil espécies de parasitoides, sendo que 70 mil já foram descritas. Dessas 70 mil, 80% é pertencente à ordem Hymenoptera, 15% à ordem Diptera e 5% a outras ordens (GODFRAY, 1994).

No Brasil, várias espécies de parasitoides apresentam potencial para serem utilizadas no controle de pulgões (OLIVEIRA et al., 2013a). Dentro da ordem Hymenoptera, a família Aphelinidae recebe destaque, e a subfamília Aphidiinae é a mais importante e numerosa. No Brasil, os principais gêneros encontrados que compõe essa subfamília são *Aphidius* Nees, *Binodoxys* Haliday, *Diaeretiella* Starý, *Lysiphlebus* Foster, *Praon* Haliday e *Xenostigmus* Ashmead (STARÝ et al., 2007).

As espécies de parasitoides *Aphidius colemani* Viereck, *Lysiphlebus testaceipes* (Cresson) e *D. rapae* são abundantes na América do Sul e possuem uma diversidade de pulgões como hospedeiros (STARÝ; DELFINO, 1987; STARÝ; CERMELI, 1989; STARÝ et al., 1993; STARÝ, 1995; STARÝ et al., 2007). Esses parasitoides são utilizados comercialmente no controle de pulgões em cultivos protegidos na Europa (VAN LENTEREN, 2000).

3.4 Parasitoide *Diaeretiella rapae*

O parasitoide *D. rapae* é o principal inimigo natural dos pulgões da couve (PIKE et al., 1999) e apresenta três ínstares na fase de larva, sendo que nos dois estágios iniciais se alimenta da hemolinfa do hospedeiro e o último estágio se alimenta dos tecidos (STARÝ, 1988; BUENO; SAMPAIO, 2009). Ao final do seu desenvolvimento, a larva do parasitoide ataca o ventre do afídeo, colando-o na folha em meio a secreções produzidas em glândulas especializadas. Assim, a pupa do parasitoide é formada e, como nessa fase só resta a epiderme do hospedeiro, esta endurece formando a múmia (STARÝ, 1988; BUENO; SAMPAIO, 2009).

As fêmeas de *D. rapae* tem um período de desenvolvimento de 12 dias a 23°C em *L. pseudobrassicae*, *B. brassicae* e *M. persicae*. Já os machos se desenvolvem em 11 dias em *L. pseudobrassicae* e 12 dias em *B. brassicae* a 23°C (OLIVEIRA et al.,

2013b). A longevidade varia de 9 a 12 dias a 21°C, e as fêmeas emergem com cerca de 50 ovos em seus ovários (BERNAL; GONZALEZ, 1997). O parasitoide *D. rapae* é o principal parasitoide de afídeos que atacam as brássicas e é o único parasitoide de *B. brassicae* que apresenta importante papel no controle de *L. pseudobrassicae* no Brasil (SOUZA; BUENO, 1992; BUENO; SOUZA, 1993; DEVI et al., 1999; CIVIDANES, 2002; MUSSURY; FERNANDES, 2002; VAZ et al., 2004; STARÝ et al., 2007).

3.5 Resistência do hospedeiro *Lipaphis pseudobrassicae* ao parasitoide *Diaeretiella rapae*

A resistência do hospedeiro ao parasitoide pode ser de dois tipos: comportamental ou fisiológica. Quando a resistência acontece antes do parasitoide ovipositar em seu hospedeiro, ela é chamada de resistência comportamental, onde o hospedeiro evita o ataque do parasitoide. Estas táticas de defesa podem estar relacionadas ao comportamento evasivo ou agressivo do hospedeiro, à utilização de indivíduos como guarda-costas ou ainda a alguma estrutura de defesa (HENTER, 1995).

Já quando a resistência acontece após a oviposição do parasitoide no hospedeiro, ela é chamada de resistência fisiológica. Os parasitoides vão depositar seus ovos no interior do hospedeiro e este então desenvolve uma resposta imune que mata o parasitoide e garante a sua sobrevivência (HENTER, 1995). Na maioria dos parasitoides, essa resposta imune se baseia no encapsulamento de seus ovos pelo hospedeiro, que é um processo onde células de hemolinfa do hospedeiro unem-se ao embrião do parasitoide, formando uma cápsula. Nessa cápsula são lançadas moléculas reativas que matam o parasitoide (CARVER; SULLIVAN, 1988). Em afídeos, o encapsulamento não é um processo muito comum, provavelmente por causa do número reduzido de hemócitos nesses insetos (CARVER; SULLIVAN, 1988; GWYNN et al., 2005).

Um processo de defesa comumente observado em pulgões ocorre sem o encapsulamento, impedindo o desenvolvimento do ovo do parasitoide (HENTER, 1995; GWYNN et al., 2005). Esse processo se dá por meio de bactérias simbiotas dos pulgões, que atuam como mutualistas de defesa (OLIVER; MORAN, 2009; HANSEN et al., 2012). Oliveira et al. (2013b) verificaram a existência de resistência fisiológica em *L. pseudobrassicae* e Ferreira (2013), por sua vez, constatou que a causa mais provável dessa resistência de *L. pseudobrassicae* a *D. rapae* é em função da presença de

endossimbiontes secundários. Estudos recentes relatam que a maioria dos indivíduos de *L. pseudobrassicae* na região de Uberlândia-MG é resistente ao parasitoide *D. rapae* (HUBAIDE, 2011; OLIVEIRA et al., 2013b; FERREIRA, 2013).

A relação com simbiotes pode promover menor aptidão, ou *fitness*, em pulgões resistentes ao parasitoide, por meio de custos adaptativos, como na ausência do parasitoide, em que populações de pulgões não infectados pelos simbiotes se sobrepujam a populações dos pulgões infectados (CHEN et al., 2000). Gwynn et al. (2005) relatam que o pulgão da ervilha *Acyrtosiphon pisum* (Harris) resistente ao parasitoide *Aphidius ervi* Haliday sobrevive mais tempo fora da planta em que se alimenta, mas se reproduz menos, sugerindo que clones resistentes investem mais em sobrevivência do que na reprodução. No entanto, em alguns casos, ocorre o oposto, com a simbiose aumentando a *fitness* dos pulgões resistentes. Vorburger et al. (2013) relatam que pulgões da espécie *A. fabae* infectados por simbiotes apresentaram aumento na sua longevidade e fecundidade quando expostos ao parasitoide *Lysiphlebus fabarum*. Oliver et al. (2008) relataram, ainda, que clones de *A. pisum* quando infectados por simbiotes, tiveram tendência para uma maior fecundidade.

3.6 Modo de ação dos inseticidas neonicotinoides

Em virtude da resistência de *L. pseudobrassicae* contra seu principal inimigo natural, o controle químico tem sido a principal forma de controle do pulgão e os inseticidas mais utilizados são os neonicotinoides. Esse grupo químico é classificado como inseticidas neurotóxicos que atuam na transmissão sináptica (GALLO et al., 2002).

Os neonicotinoides são uma classe de inseticidas, derivados da molécula de nicotina, descoberta por volta de 1970. Esses defensivos neonicotinoides são mais seletivos devido à sua excelente atividade sistêmica, sendo bastante utilizados no controle de insetos sugadores, como mosca branca, tripes e afídeos, além de serem pouco tóxicos para mamíferos (RENZO et al., 1997; TOMIZAWA; CASIDA, 2003; MOREIRA et al., 2013). Esses inseticidas atuam no corpo do inseto como agonistas da acetilcolina, ligando-se aos receptores nicotínicos da acetilcolina, que estão localizados no neurônio pós-sináptico. Normalmente, a acetilcolina é hidrolisada pela enzima acetilcolinesterase após a transmissão do impulso nervoso, porém os neonicotinoides não são degradados imediatamente, ficando ligados no sítio de ação da acetilcolina,

causando transmissão contínua dos impulsos nervosos e, conseqüentemente, uma hiperexcitação e posterior colapso do sistema nervoso, acarretando em morte do inseto (GALLO et al., 2002; MOREIRA et al., 2013).

Imidacloprido, nitenpiran, tiaclopride, tiametoxam e acetamiprido são alguns dos princípios ativos encontrados no grupo químico dos neonicotinoides (TOMIZAWA; CASIDA, 2003). Por serem inseticidas sistêmicos, são altamente tóxicos para insetos, principalmente sugadores, uma vez que, quando aplicados sobre folhas, ramos e raízes das plantas, são rapidamente absorvidos e translocados com a seiva para as várias partes da planta (FARIA, 2009). O inseticida acetamiprido apresenta alta eficiência no controle de pulgões (YAMAMOTO et al., 2000; PEREIRA et al., 2003; TAILLEBOIS et al. 2015; ZUO et al., 2016), inclusive quando usado em tratamento de sementes por causa de seu elevado potencial sistêmico (PEREIRA et al., 2011) e tem por característica alta seletividade a insetos não-alvo (MOURA et al., 2004).

Apesar do pouco tempo de utilização desse grupo químico, algumas espécies de insetos praga já apresentam resistência, caracterizada como insensibilidade no alvo do inseticida (WYSS et al., 2003; SHONO E SCOTT, 2003; BIELZA et al. 2007; WANG et al., 2009).

3.7 Resistência a neonicotinoides

Resistência é um processo pré-adaptativo no qual um organismo passa a tolerar doses de um produto tóxico que é letal para a maioria dos indivíduos da mesma população, sendo um fenômeno estritamente genético com mutações que afetam as proteínas alvo dos inseticidas e/ou seu metabolismo (LI et al., 2007; IRAC, 2007).

A maior frequência de utilização de um mesmo composto químico está relacionada à resistência a inseticidas em insetos, fazendo uma pressão de seleção desses indivíduos. Ademais, essa característica pode ser herdada para as gerações seguintes (HEMINGWAY; RANSON, 2000). Esses indivíduos possuem maior probabilidade de sobrevivência a tratamentos com inseticidas e contribuem com um maior número de descendentes do que indivíduos suscetíveis, resultando em maior frequência do gene que confere resistência (BEATY; MARQUARDT, 1996).

Segundo Tomita e Scott (1995), existem três mecanismos envolvidos no processo de resistência a inseticidas: a redução na penetração cuticular devido a modificações na sua composição, o aumento da taxa de desintoxicação do produto

químico via metabolismo e modificação nos sítios alvos dos inseticidas, aumentando a insensibilidade nos locais de maior ação do produto.

A resistência metabólica pode ser alcançada pelo aumento da detoxificação de inseticidas, que se dá pela mudança estrutural nas moléculas das enzimas que promovem essa detoxificação, sendo algumas dessas enzimas as glutathione-S-transferases (GSTs), esterases (ESTs) e citocromo P450 (CYPs). Esse aumento na atividade dessas enzimas pode estar associado à elevação dos níveis de expressão dos genes que as codificam ou ainda ser resultante da substituição de aminoácidos que modificam sua afinidade pelo composto tóxico, aumentando o nível de resistência (HEMINGWAY, 2000; PERRY et al., 2011; ORTELLI et al., 2003). Já a resistência por modificação nos sítios alvo dos inseticidas dificulta ou impede a interação entre essas substâncias (PERRY et al., 2011). Essas modificações podem ocorrer em aminoácidos ou em genes específicos, ou ainda na enzima acetilcolinesterase (MOREIRA et al., 2013).

Os mecanismos de resistência podem ainda se combinar, conferindo um amplo espectro de resistência, podendo resultar em resistência cruzada ou múltipla. A primeira se refere a casos em que um único mecanismo de defesa confere resistência a inseticidas de uma ou mais classes e a segunda se caracteriza pela defesa ocorrer por meio de mecanismos de resistência múltiplos e coexistentes (MILANI, 1963; BUSVINE, 1968; HEMINGWAY et al., 2004; MOREIRA et al., 2013).

Alguns casos de resistência a neonicotinoides já foram descritos. Segundo Dively (2003), com a introdução de imidacloprido em 1995, a alta eficiência no controle de insetos praga apresentada pelo inseticida levou ao seu uso contínuo e, em apenas sete anos, já havia registros de populações com diferença na suscetibilidade ao produto, podendo ainda haver o risco de resistência cruzada com outros neonicotinoides. Silva et al. (2009) relatam a resistência de mosca-branca *Bemisia tabaci* (Gennadius) a imidacloprido e tiametoxam no Brasil. Horowitz et al. (2005) verificaram que duas populações dessa mesma espécie de mosca-branca expostas a tiametoxam por 12 e 20 gerações, apresentaram razões de resistência 600 vezes maiores que a população suscetível. Resistência a imidacloprido também já foi encontrada em pulgões. Nauen e Denholm (2005) relataram razões de resistência em populações de *M. persicae* de até 20 vezes, sendo que essa resistência pode estar associada à detoxificação do inseticida ou a uma alteração em seu sítio de ação.

A resistência ao inseticida pode gerar um custo adaptativo ao inseto (HAUBRUGE; ARNAUD, 2001), sendo que os indivíduos resistentes são menos aptos que os suscetíveis na ausência de pressão de seleção, no caso, na ausência da utilização do produto químico (ROUSH; McKENZIE, 1987). Essa menor aptidão pode estar relacionada ao maior tempo de desenvolvimento do inseto resistente, à menor viabilidade, à menor fecundidade, à menor competição para acasalamento e à maior suscetibilidade a inimigos naturais (GEORGHIOU, 1972; ROUSH e McKENZIE, 1987).

A associação com simbiossiontes pode causar alterações nas enzimas que causam a detoxificação dos inseticidas. Segundo Guidolin (2016), a associação do pulgão *Aphis (Toxoptera) citricidus* com o endossimbionte secundário *Spiroplasma* aumenta a produção do citocromo P450, responsável pela detoxificação de xenobióticos. Sendo assim, a resistência de *L. pseudobrassicae* ao parasitoide *D. rapae* em populações localizadas na região de Uberlândia-MG, pode influenciar na sensibilidade desses insetos aos inseticidas neonicotinoides, amplamente utilizado no controle dessa praga.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Produção de mudas, coleta e criação de insetos

Para esse ensaio, mudas de couve (*Brassica oleracea* var. *acephala* L.), variedade Manteiga da Geórgia, foram produzidas em casa de vegetação do Instituto de Ciências Agrárias (ICIAG) da Universidade Federal de Uberlândia (UFU), com sementes da marca comercial TopSeed[®]. Foram utilizadas bandejas de isopor com 128 células preenchidas com substrato orgânico da marca Bioplant[®]. Em cada célula, foram semeadas duas sementes de couve e quando as plantas apresentaram um par de folhas definitivas foram transplantadas para vasos plásticos (15 cm de altura e 13 cm de diâmetro) contendo substrato orgânico Bioplant[®]. Quando as plantas apresentaram 6 folhas definitivas, as mesmas foram utilizadas para a criação dos pulgões e/ou condução do experimento.

Colônias de *M. persicae* e *L. pseudobrassicae* foram mantidas em laboratório. Para a criação dos pulgões foram utilizados discos foliares de couve de 90 mm de diâmetro, posicionados em placas de Petri de 100 mm de diâmetro contendo, solução ágar/água 1%. As placas foram mantidas em câmara climática (23±2°C, UR = 70±10%, fotofase de 12 horas) e os discos foliares foram trocados a cada quatro dias.

Para a utilização no experimento, foram mantidas criações de manutenção de *L. pseudobrassicae* em quatro grupos de pulgões coletados em Uberlândia. Os dois primeiros grupos foram formados por criações de manutenção já existentes no laboratório (OLIVEIRA, 2016). Essas criações foram formadas por indivíduos de um mesmo clone coletado na casa de vegetação do ICIAG (18°53'04.7" S e 48°15'36.6" W) e selecionados como resistentes (C1R) e suscetíveis (C1S) ao parasitoide *D. rapae* por Oliveira (2016). Um terceiro grupo foi formado por indivíduos resistentes de um clone (C2R) coletado em plantas de canola na Fazenda Água Limpa da UFU (ver item 4.2). O quarto grupo, por sua vez, foi formado por indivíduos de uma população (P1) coletados em uma lavoura comercial de couve (19°1'54" S e 48°11'26" W).

Para a criação de parasitoides, colônias de *M. persicae*, *B. brassicae* e *L. pseudobrassicae* contendo pulgões parasitados (múmias) por *D. rapae*, foram coletadas em lavoura comercial de couve manteiga na zona urbana de Uberlândia – MG e na casa de vegetação. As múmias foram individualizadas e mantidas em tubo eppendorf (2,0

mL) no laboratório ($23\pm 2^{\circ}\text{C}$, UR = $70\pm 10\%$, fotofase de 12 horas) até a emergência dos adultos. Após a emergência, os adultos foram alimentados com gotículas de mel diluídas em água (mel 50%). Os parasitoides foram mantidos em casais nos tubos e, após a observação do acasalamento, as fêmeas foram utilizadas para a criação de parasitoides e para a seleção de pulgões resistentes e suscetíveis a *D. rapae*. Para a criação do parasitoide, foram utilizadas ninfas de 2º 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 1º instar. Após mais 24 horas, as ninfas se encontravam no 2º instar e foram utilizadas na multiplicação de *D. rapae*. Uma fêmea de *D. rapae* acasalada e sem experiência prévia de oviposição foi liberada em placa de Petri contendo 40 ninfas de 2º instar de *M. persicae* e mantida por duas horas para oviposição. Depois desse período, a fêmea foi retirada e as ninfas foram mantidas na placa em câmara climática (22°C e 12 h de fotofase) até a formação das múmias, em torno de dez a 15 dias.

4.2 Seleção do clone C2R de *L. pseudobrassicae* coletado em canola

Colônias de *L. pseudobrassicae* foram coletadas em plantas de canola na Fazenda Capim Branco da UFU ($18^{\circ} 52' 50,63''$ S e $48^{\circ} 20' 32,07''$ W). Folhas contendo pulgões foram levadas para o laboratório e, então, dois indivíduos (clone C2 e C3) foram colocados cada um em duas placas de Petri, contendo disco foliar de couve sobre solução ágar/água 1%, para formar uma colônia de cada clone por placa. Os pulgões se reproduzem por partenogênese telítoca, então cada colônia proveniente de um único indivíduo é formada por clones, indivíduos geneticamente idênticos (BLACKMAN; EASTOP, 2000). Após o crescimento populacional das colônias, adultos de cada clone foram mantidos em placa de Petri separadas, contendo disco foliar de couve sobre a solução ágar/água a 1%, e retirados após 24 horas, mantendo-se apenas as ninfas de 1º instar. Após 72 horas, essas ninfas de *L. pseudobrassicae* se encontravam no 4º instar e foram utilizadas para a obtenção do clone de *L. pseudobrassicae* coletado em canola resistente a *D. rapae*.

Para a obtenção do clone resistente de canola, utilizou-se a mesma metodologia de Ferreira (2013) e Oliveira (2016). Foram separadas 10 ninfas de 4º instar de um mesmo clone de *L. pseudobrassicae* em placa de Petri com disco foliar de couve, onde uma fêmea, de até 48 horas de idade de *D. rapae* acasalada, sem experiência prévia de

oviposição e proveniente da criação de manutenção foi liberada na placa e o parasitismo foi observado sob microscópio estereoscópico. Cada fêmea do parasitoide foi utilizada para ovipositar de seis a 10 pulgões até se obter 23 pulgões parasitados por clone. Os pulgões parasitados foram individualizados em nova placa de Petri e mantidos em câmara climática. Foram realizadas observações diárias, durante 10 dias e avaliados o número de pulgões que atingiram a fase adulta e permaneceram vivos (resistentes) e os que se transformaram em múmias (suscetíveis) (FERREIRA, 2013). Foram utilizadas ninfas de 4º instar porque mesmo pulgões suscetíveis parasitados por *D. rapae* nessa fase de desenvolvimento atingem a fase adulta e se reproduzem antes de morrerem e virarem múmias (FERREIRA, 2013).

Nenhum dos 23 indivíduos do clone C2 se transformou em múmia, sendo considerados resistentes ao parasitoide. Já para o C3, um indivíduo se transformou em múmia e 22 foram considerados resistentes. Dessa forma, C2 foi escolhido para ser utilizado no experimento.

Para a confirmação da resistência, vinte ninfas de 2º instar de C2 foram submetidas a uma única oviposição de *D. rapae*. Foram realizadas observações diárias, durante 10 dias para verificar a formação de múmias. Como todos os 20 indivíduos chegaram a fase adulta e não se transformaram em múmias, foi confirmado que o clone C2 apresentou resistência a *D. rapae* sendo designado como C2R.

4.3 Determinação da toxicidade aguda do inseticida acetamiprido e seu efeito subletal na fecundidade de *L. pseudobrassicae* resistente e suscetível a *D. rapae*

Para avaliar a suscetibilidade ao inseticida acetamiprido de *L. pseudobrassicae* resistentes e susceptíveis ao parasitoide *D. rapae*, foram realizados ensaios do tipo dose-resposta para determinar a DL₅₀. As doses administradas para cada pulgão foram determinadas em testes preliminares. A solução do inseticida foi preparada com base no produto técnico e usando acetona como solvente. Foram utilizadas cinco concentrações do inseticida acetamiprido (0,01; 0,1; 1; 10 e 100 ng. i.a/pulgão) e um tratamento controle utilizando apenas acetona. Para aplicação, foi utilizada uma micro seringa acoplada a um dispenser automático, liberando um volume de 0,20µL sobre cada pulgão. Este volume foi baseado na massa corporal média de um pulgão adulto (0,4809

mg), obtida a partir da avaliação da massa de 350 pulgões adultos, pesados em 10 grupos de 35 indivíduos em balança de precisão com cinco casas decimais.

Para cada concentração do inseticida e cada grupo de pulgões, foram utilizadas três repetições, cada uma formada por uma placa de Petri de 100 mm de diâmetro, contendo a solução ágar/água 1% e um disco foliar de couve com 10 adultos de *L. pseudobrassicae* de 24 horas de idade. Após a aplicação tópica do inseticida, as placas foram acondicionadas em câmara climática de $25\pm 2^{\circ}\text{C}$, UR: 70% e 12 h de fotofase. As avaliações ocorreram 24, 48 e 72 horas após a aplicação, determinando o número de indivíduos mortos bem como o número de descendentes produzidos (número de ninfas) ao final das 72 horas da aplicação.

4.3 Análises dos dados

O experimento foi realizado em delineamento inteiramente casualizado (DIC) e as análises foram realizadas com o software R (2016). Os dados foram submetidos aos testes de Shapiro e Fligner para verificação dos pressupostos de normalidade dos erros e homogeneidade das variâncias, respectivamente. Dados de mortalidade foram analisados utilizando-se o pacote DRC (RITZ; STREIBIG, 2005), utilizou-se o teste de qui-quadrado e foram determinados os valores de toxicidade aguda (dose letal 50 - DL_{50}) e o intervalo de confiança a 95% considerando-se a mortalidade 48 horas após a aplicação do produto, pois foram os dados que melhor se ajustaram as análises. Os valores da DL_{50} foram expressos em nanograma de ingrediente ativo (ng.i.a.) por pulgão (ng.i.a./pulgão) e em nanograma de ingrediente ativo por miligrama de pulgão (ngia/mg de pulgão). Já para a comparação da fecundidade dos adultos de *L. pseudobrassicae* (número de ninfas ao final de 72 horas), foi adotado o esquema fatorial 4 x 6 (grupos de pulgões x diluições), com 3 repetições. Os dados foram analisados por meio do Modelo Linear Generalizado e se ajustaram à distribuição de "Poisson" com função de ligação "log".

5. RESULTADOS

5.1 Determinação da toxicidade aguda do inseticida acetamiprido em *L. pseudobrassicae* resistente e suscetível a *D. rapae*

Na determinação da toxicidade aguda do inseticida acetamiprido, após a aplicação tópica, pode-se verificar que nas concentrações 0,01 e 0,1 ng.i.a./pulgão, a maior mortalidade foi observada para o clone C1S e a população P1 com valores de 16, 16 e 23 e 20 indivíduos mortos, respectivamente. Na concentração 1 ng.i.a./pulgão do produto acetamiprido após 72 horas, observou-se a mortalidade de 28, 16 e 27 indivíduos nos clones C1R, C1S e população P1, respectivamente. A mortalidade do clone C2R foi menor do que dos outros grupos testados nas concentrações de 0,01, 0,1 e 1 ng.i.a./pulgão. Nas duas últimas concentrações avaliadas, 10 e 100 ng.i.a./pulgão, o produto acetamiprido causou 100% de mortalidade, enquanto no tratamento controle durante todas as avaliações não se verificou nenhuma mortalidade causada pela acetona (Tabela 1).

O clone C2R foi o que apresentou maior valor de DL_{50} (Tabela 2). A população P1, apresentou menor valor de DL_{50} , sendo, portanto, mais suscetível ao inseticida acetamiprido. Os indivíduos resistentes e suscetíveis do mesmo clone, respectivamente C1R e C1S, apresentaram os mesmos valores de DL_{50} , indicando que a resistência ao parasitoide não alterou a resistência a acetamiprido em *L. pseudobrassicae* (Tabela 2). Além disso, a DL_{50} dos dois clones resistentes testados foram diferentes. O clone C2R apresentou DL_{50} maior do que a apresentada pelo clone C1R, indicando que a resistência ao inseticida acetamiprido está relacionada ao clone e não à resistência ao parasitoide (Tabela 2).

Tabela 1. Mortalidade em quatro grupos de *Lipaphis pseudobrassicae* resistentes e suscetíveis ao parasitoide *Diaeretiella rapae*, após aplicação tópica de cinco doses do inseticida acetamiprido em nanogramas de ingrediente ativo por pulgão (ng.i.a/pulgão) e no controle (acetona).

		Mortalidade			
Concentração (ng.i.a/pulgão)	Clones e população	Exposição (horas) ¹			Número de indivíduos mortos ⁿ
		24	48	72	
0,01	C1R	0	3	5	8
	C1S	1	4	11	16
	C2R	0	1	4	5
	P1	12	1	3	16
0,1	C1R	3	3	2	8
	C1S	3	7	13	23
	C2R	1	2	1	4
	P1	18	1	1	20
1	C1R	6	14	8	28
	C1S	6	15	5	26
	C2R	5	8	3	16
	P1	21	5	1	27
10	C1R	27	3	-	30
	C1S	20	8	2	30
	C2R	23	7	0	30
	P1	30	-	-	30
100	C1R	30	-	-	30
	C1S	30	-	-	30
	C2R	19	11	-	30
	P1	30	-	-	30
Controle	C1R	0	0	0	0
	C1S	0	0	0	0
	C2R	0	0	0	0
	P1	0	0	0	0

¹ Horas após a exposição ao produto; ⁿ Número total de insetos usados no ensaio (30 indivíduos); C1R: Clone um resistente; C1S: Clone um susceptível; C2R: Clone dois resistente; P1: População coletada em área comercial de couve. *massa corporal média de um pulgão: 0,4809 mg (n = 350).

Tabela 2. Toxicidade aguda (DL₅₀ – 48 horas) de acetamiprido em quatro grupos de *Lipaphis pseudobrassicae* resistentes e suscetíveis ao parasitoide *Diaeretiella rapae*.

Clone	DL ₅₀ ^a	IC95% ^b	DL ₅₀ ^{c*}	IC95% ^{d*}	χ^2 ^e	G ^f
C1R	0.06	0.01 – 0.10	0.12	0.02 – 0.21	12.924	10
C1S	0.06	0.03 – 0.10	0.12	0.06 – 0.21	15.194	13
C2R	0.14	0.07 – 0.20	0.29	0,14 – 0.41	12.294	10
P1	0.01	0.00 – 0.02	0.02	0.00 – 0.04	8.2731	10

^a DL₅₀ em nanograma de ingrediente ativo por pulgão (ng i.a./pulgão); ^b Intervalo de confiança de 95% em ng i.a./ pulgão; ^c DL₅₀ em nanograma de ingrediente ativo por miligrama de pulgão (ngia.mg⁻¹ de pulgão); ^d Intervalo de confiança de 95% em ngia.mg⁻¹ de pulgão; ^e Qui-quadrado do modelo; ^f Graus de liberdade; *massa corporal média d e um pulgão: 0,4809 mg (n = 350); C1R: Clone um resistente; C1S: Clone um suscetível; C2R: Clone dois resistente; P1: População coletada em área comercial de couve.

5.2 Efeito subletal do inseticida acetamiprido na fecundidade de *L. pseudobrassicae* resistente e suscetível a *D. rapae*

Houve diferença no número de ninfas produzidos por cada clone ao final das 72 horas após a aplicação do inseticida acetamiprido ($W = 1,057e^{-07}$). Quando comparado com o controle, a produção de ninfas 72 horas após a aplicação do inseticida não foi, praticamente, alterada para todos os grupos de pulgões nas doses de 0,01 e 0,1 ng.i.a./pulgão (Figura 1). Houve redução na produção de ninfas a partir da dose de 1 ng ia/pulgão para todos os grupos de pulgões. Na dose 10 ng.i.a./pulgão C1R, C1S e P1 cessaram a reprodução e nenhum grupo de pulgão produziu ninfas na maior dose testada, 100 ng.i.a./pulgão. O clone C2R foi o que apresentou a maior fecundidade, tanto na testemunha como nas doses de 0,01, 0,1, 1 e 10 ng.i.a./pulgão ($P = 2,2e^{-16}$). O clone C1R e C1S e a população P1 não diferiram entre si no controle e nas doses de 0,01, 1 e 10 ng.i.a./pulgão. Já na dose de 0,1 ng.i.a./pulgão, C1S produziu maior número de ninfas que C1R e P1. A maior reprodução do clone C2R em todas as doses de

acetamiprido em que ocorreu produção de ninfas indica que é uma característica do clone e que não está relacionada à resistência ao parasitoide ou a um menor efeito subletal do inseticida nesse clone (Figura 1). De maneira geral, nota-se que a redução da produção de ninfas está relacionada ao aumento da mortalidade dos pulgões, principalmente, 24 e 48 horas após a aplicação de acetamiprido (Tabela 1, Figura 1).

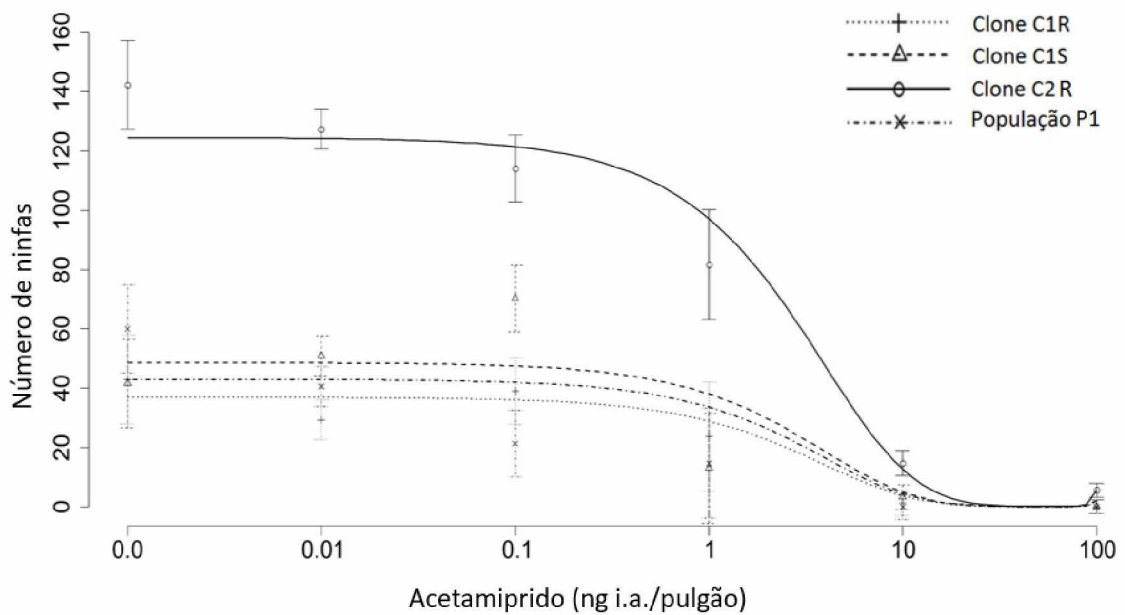


Figura 1. Número de ninfas produzidas por quatro grupos de *Lipaphis pseudobrassica* ao final das 72 horas após a aplicação de cinco doses do inseticida acetamiprido em nanograma de ingrediente ativo por pulgão (ng.i.a./pulgão) e no controle (acetona).

6. DISCUSSÃO

Poucas pesquisas foram realizadas com relação a valores de DL₅₀ de inseticidas para pulgões, sendo os estudos mais comuns foram realizados com extratos de plantas e óleos essenciais. Também são encontrados estudos utilizando valores de CL₅₀ (concentração letal mediana), provavelmente em função da maior dificuldade em realizar aplicação tópica em pulgões para o cálculo da DL₅₀, principalmente devido ao tamanho reduzido desses insetos (BREDA et al., 2011; KONNO, 2005; SILVA et al., 2009). Dessa forma, a ausência de informações demonstra a importância desse estudo para o conhecimento de valores de DL₅₀ para pulgões, o que pode melhorar o manejo da resistência e o seu controle químico.

Comparando a DL₅₀ de *L. pseudobrassicae* com outros insetos de maior tamanho corporal, fica evidente que o tamanho reduzido do pulgão faz com que a DL₅₀ de acetamiprido, a qual variou de 0,01 a 0,14 ng.i.a./afídeo, seja considerada baixa. Por exemplo, estudos realizados com a aplicação tópica de imidacloprido, um outro neonicotinoide, em abelhas da espécie *Scaptotrigona postica* (Latreille), apresentaram valores de DL₅₀ de 25,20 ng.imidacloprido/abelha em 24 horas após a aplicação (SOARES, 2012), e de 49 a 102 ng/abelha para a espécie *Apis mellifera* (Linnaeus) (NAUEN et al., 2001; SCHUMUCK et al., 2003). Por outro lado, a DL₅₀ quando calculada pelo peso corpóreo do inseto (μg de ingrediente ativo por mg de inseto) exclui o efeito do tamanho. Ainda assim, a DL₅₀ de acetamiprido pode ser considerada baixa para *L. pseudobrassicae*, evidenciando o grande efeito de acetamiprido na mortalidade dessa espécie de pulgão. Por exemplo, o valor de DL₅₀ do óleo essencial de *Tanaecium nocturnum* para *Sitophilus zeamais* Mots foi de 14,7 $\mu\text{g}.\text{mg}^{-1}$ (FAZOLIN et al., 2007), enquanto que a DL₅₀ de acetamiprido para *L. pseudobrassicae* no presente estudo variou de 0,02 a 0,29 $\text{ng}.\text{mg}^{-1}$ de pulgão. O efeito tóxico dos neonicotinoides na mortalidade de pulgões é reconhecidamente maior do que de inseticidas de outros grupos químicos. Segundo Konno et al. (2005), em *Aphis gossypii* Glover, a concentração letal de imidacloprido foi duas vezes menor do que a do carbosulfam, do grupo químico dos carbamatos, e mais de 50 vezes menor do que a do endosulfam, do grupo químico dos ciclodienoclorados.

Não foi observada relação entre a resistência de *L. pseudobrassicae* ao parasitoide *D. rapae* e a resistência ao inseticida acetamiprido, seja pelo efeito letal,

avaliando-se a DL₅₀, ou subletal, pela avaliação da fecundidade de *L. pseudobrassicae*. Pulgões resistentes aos parasitoides têm a óbvia vantagem adaptativa da resistência quando na presença de parasitoides (OLIVEIRA et al., 2013a), no entanto, na ausência do parasitoide pode haver vantagem (CAYETANO et al., 2014; OLIVEIRA, 2016) ou custo adaptativo (VORBURGER et al., 2013) de ser resistente ao parasitoide. Por exemplo, o pulgão *Aphis fabae* Theobald infectado com *Hamiltonella defensa*, apresentou resistência ao parasitoide e teve expectativa de vida e reprodução mais altas quando comparados com indivíduos que não apresentaram resistência (CAYETANO et al., 2014). Já Vorburger et al. (2013), relataram que *Aphis fabae* Theobald resistente ao parasitoide por estar infectado por *Hamiltonella defensa*, apresentou redução de 50% na sua fecundidade total e menor longevidade em relação aos clones suscetíveis na ausência do parasitoide. No entanto, no presente estudo, não foi observada vantagem ou desvantagem adaptativa para os pulgões resistentes a *D. rapae* em relação à resistência ao inseticida.

Além disso, quando avaliada a formação de ninfas na testemunha, sem aplicação de inseticida, percebe-se que o clone resistente ao parasitoide C2R foi o que apresentou a maior fecundidade. No entanto, isso não é um efeito da resistência ao parasitoide, mas sim do próprio clone, já que os indivíduos resistentes e suscetíveis de um mesmo clone apresentaram a mesma fecundidade. Além disso, a fecundidade do clone suscetível C1S foi semelhante à fecundidade da população P1, o que corrobora nossa afirmação de que não é possível justificar a fecundidade de C2R por causa de sua resistência.

Outro aspecto adaptativo a ser verificado é quanto à resistência ao inseticida. Insetos com maior DL₅₀ são mais resistentes aos inseticidas e tendem a ter custos adaptativos ligados a essa resistência. No presente estudo, o clone resistente ao parasitoide C2R, apresentou maior resistência ao inseticida (DL₅₀ 0,29 µg i.a./mg pulgão) e também maior produção de ninfas do que os outros clones, não apresentando custo adaptativo quando avaliada a fecundidade. Segundo Crow (1957), a desvantagem adaptativa aparece na ausência da pressão de seleção, em que a pressão de seleção pode ser, por exemplo, a presença de inimigos naturais, temperaturas acima ou abaixo da ideal para desenvolvimento do inseto e aplicações de inseticidas. Além disso, nesta pesquisa, a maior reprodução de C2R foi verificada na ausência (controle) e na presença da pressão de seleção (tratamentos com inseticida), indicando que se trata de uma característica vantajosa do clone que, por ter apresentado menor mortalidade, teve maior aumento populacional mesmo sobre o efeito do inseticida acetamiprido. Beaty e

Marquardt (1996) afirmam que indivíduos com mutações vantajosas possuem maior probabilidade de sobrevivência a tratamentos com inseticidas e contribuem com uma prole maior que os indivíduos suscetíveis, resultando no aumento da frequência de genes que conferem resistência para as próximas gerações, o que justifica o resultado apresentado neste trabalho.

Porém, trabalhos sobre o custo adaptativo associado à resistência têm se mostrado bastante distintos. Hollingsworth et al. (1997) observaram que uma linhagem de *A. gossypii*, resistente ao inseticida metomil, apresentou maior fecundidade em relação à suscetível devido ao processo de co-adaptação. Eegers-Schumacher (1983) relatou que a linhagem de *M. persicae* resistente apresentou vantagens reprodutivas com relação à linhagem suscetível, na ausência de pressão de seleção. Por outro lado, Konno et al. (2006) observaram que a linhagem de *A. gossypii* resistente ao inseticida carbosulfam apresentou desvantagem reprodutiva em relação à suscetível na ausência de pressão de seleção, assim como Stone et al. (2000), que relataram que linhagens de *Schizaphis graminum* Rondani resistentes a cinco inseticidas organofosforados, apresentaram desvantagens reprodutivas em relação às suscetíveis.

O custo adaptativo pode estar relacionado também a outras características, além das relacionadas à reprodução dos pulgões, como a mobilidade e resposta a feromônios de alarme. Foster et al. (2010) observaram que *M. persicae* resistentes a inseticidas apresentaram menor mobilidade para fugir do ataque de *D. rapae* quando comparados aos suscetíveis, apresentando maior taxa de mumificação. Contudo, no presente trabalho, não foram considerados aspectos comportamentais na avaliação da resistência a acetamiprido.

O parasitoide *D. rapae* é o inimigo natural mais importante para o controle de pulgões em brássicas (PIKE et al., 1999; CIVIDANES, 2002; STARÝ et al., 2007). A presença da maioria de indivíduos resistentes na população de *L. pseudobrassicae* de Uberlândia faz com que o controle biológico com esse parasitoide não seja uma ferramenta eficaz para o controle dessa espécie de pulgão (HUBAIDE, 2011; FERREIRA, 2013; OLIVEIRA, 2016). Por não haver relação entre a resistência ao parasitoide e a resistência ao inseticida acetamiprido, o controle químico com neonicotinoides se apresenta como uma opção para o controle de *L. pseudobrassicae* em brássicas.

7. CONCLUSÕES

- As diferenças nos valores da DL_{50} e do efeito subletal na fecundidade de *L. pseudobrassicae* estão relacionadas aos genótipos e não à resistência desse pulgão ao parasitoide *D. rapae*.
- A resistência do pulgão *L. pseudobrassicae* ao inseticida acetamiprido não está associada à resistência que ele tem ao parasitoide *D. rapae*. Dessa forma, o controle químico com acetamiprido é uma alternativa para o manejo integrado de *L. pseudobrassicae* resistente ao parasitoide *D. rapae* na região de Uberlândia-MG.

REFERÊNCIAS

- BEATY, B.J., MARQUARDT, W.C. Collecting methods for vector surveillance. In: BEATY, B.J., MARQUARDT, W.C. (Eds). **The biology of diseases vectors**. University Press of Colorado, p. 471-491, 1996.
- BELLOWS, T. S. Restoring population balance through natural enemy introductions. **Biological Control**, Orlando, v. 21, n. 3, p. 199-205, 2001.
- 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.
- BIELZA, V., QUINTO, E., FERNANDEZ, C., GRAVALOS, J. Contreras, Genetics of spinosad resistance in *Frankliniella occidentalis* (Thysanoptera: Thripidae), **J. Econ. Entomol**, Oxford, v. 100, p. 916–920. 2007.
- BLACKMAN, R. L.; EASTOP, V. P. **Aphids on the world's crops: an identification and information guide**, 2ª. ed. Chichester: J. Wiley & Sons, 2000. 466 p.
- BLACKMAN, R.L; EASTOP, V.F. Taxonomic issues. In: EMDEN, H.F., HARRINGTON, R., editors. **Aphids as Crop Pests**. Cambridge, MA, USA: CAB International. p. 1–30. 2007.
- BREDA, M.O.; OLIVEIRA, J.V.; MARQUES, E.J.; FERREIRA, R.G.; SANTANA, M.F. Inseticidas botânicos aplicados sobre *Aphis gossypii* e seu predador *Cycloneda sanguinea* em algodão-colorido. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 46, n. 11, p. 1424-1431, 2011.
- BRIDGES, M., JONES, A.M.E., BONES, A.M., HODGSON, C., COLE, R., BARTLET, E. Spatial organization of the glucosinolate-myrosinase system in brassica specialist aphids is similar to that of the host plant. **Proceedings of the Royal Society London. Series B: Biological Sciences**, London, v. 269, p. 187-191, 2002.
- BRITO, G. **Estudo das causas de mortalidade natural de joaninhas (Coleoptera: Coccinellidae) e seus efeitos sobre o crescimento populacional no ecossistema da erva-doce**. 21f., 2003. Dissertação de Mestrado – Universidade Federal da Paraíba, Bananeiras, 2003.
- 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, v. 429, p. 117-167, 2009.
- BUENO, V. H. P.; SOUZA, B. M. Ocorrência e diversidade de predadores e parasitoides em couve (*Brassica oleracea* var. *acephala*) em Lavras, MG, Brasil. IN: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENTOMOLOGIA, ANAIS, Jaboticabal, v.22, n.1, p.5-18, 1993.
- BUENO, V. H. P.; VAN LENTEREN, J. C. Controle biológico de pragas em cultivos protegidos. **Ciência & Ambiente**, v. 43, p. 211-230, 2011.

- BUSVINE, J. R. Cross and multiple resistance in mosquitoes. *Cah O.R.S.T.O.M; ser Ent. Med.*, [s.l], v. 6, p. 215-219. 1968.
- CAYETANO, 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. *Proc. R. Soc. B* 282: 20142333. <http://dx.doi.org/10.1098/rspb.2014.2333>. 2014.
- CARRERA, M. **Entomologia para você**. 4 ed. São Paulo, Edart, 185p, 1973.
- CARVER, M. Biological control of aphids. In: MINKS, A. K.; HARREWIJN, P. (Ed.). **Aphids: their biology, 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.
- 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.
- 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.
- CROW, J.F. Genetics of insect to chemicals. **Annual Review of Entomology**, Stanford, v. 2, p. 227-246, 1957.
- DEBACH, P.; SCHLINGER, E.I **Biological control of insect pests and weeds**. Reinhold Publishing Corp, London, 1964.
- DEVI, P.B.; SINGH, T.K.; SINGH, H.J.; Studies on the natural enemy complex of the green peach aphid, *Myzus persicae* (Sulzer) on Knol-Khol, *Brassica oleracea gongylodes*. **Annals of Plant Protection Sciences**, India, v. 7, p. 37-40, 1999.
- DIVELY, G.P. **Monitoring resistance in Colorado potato beetle populations to imidacloprid**, 2003. Disponível em: <<http://www.mdipm.umd.edu/programs/agriculture/dively/Review%20of%20imidacloprid%20resistance%20monitoring.pdf>> Acesso em: 14 jan. 2016
- DIXON, A. F. G. **Biology of aphids**. London: Edward Arnold, 1973, 55 p.
- DIXON, A.F.G. **Aphid ecology an optimization approach**. London, Chapman, 1998.
- DREES, B.M., JACKMAN, J. **Guia de campo para insetos do Texas**. Gulf Publishing Company, Texas, Houston: 1999.

- EEGERS-SCHUMACHER, H.A. A comparison of the reproductive performance of insecticide-resistance and susceptible clones of *Myzus persicae*. **Entomol. Exp. Appl.**, Emglund, v. 34, p. 301-307, 1983.
- FARIA, A.B.C Revisão sobre alguns grupos de inseticidas utilizados no manejo integrado de pragas florestais. **Ambiência**, Guarapuava, PR, v. 5, n. 2, p. 345-358, 2009.
- FAZOLIN, M.; ESTRELA, J.L.V.; CATANI, V.; ALÉCIO, M.R.; LIMA, M.S. Propriedade inseticida dos óleos essenciais de *Piper hispidinervum* C. DC.; *Piper aduncum* L. e *Tanaecium nocturnum* (Barb. Rodr.) Bur. & K. Shum sobre *Tenebrio molitor* L., 1758. **Ciênc. Agrotec.**, Lavras, v. 31, n. 1, p. 113-120, 2007.
- FERRARI, B.M.; **Efeitos letais e subletais de inseticidas sobre *Tamarixia radiata* (Waterston, 1922) (Hymenoptera: Eulophidae)**. 77f., 2009. Dissertação de Mestrado-Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2009.
- FERRARI, J. A. Population genetics in vector biology. Em: MARQUARDT W. C.; BEATY B. J. **The Biology of Disease Vectors**. University Press of Colorado, Niwot, p. 512-525, 1996.
- FERREIRA, S.E. **Causa da resistência de *Lipaphis pseudobrassicae* (Davis, 1914) (Hemiptera: Aphididae) ao parasitoide *Diaeretiella rapae* (McIntosh, 1855) (Hymenoptera: Braconidae, Aphidiinae) e sua influência sobre o parasitismo de *Myzus persicae* (Sulzer, 1776)**. 72f., 2013. Dissertação de Mestrado – Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2013.
- FFRENCH-CONSTANT, R.H., DABORN, P.J., LE GOFF, G. The genetics and genomics of insecticide resistance. **Trends in Genetics**, Bath, v. 20, n. 3, p. 163-170, 2004.
- FINNEY, D.K. Probit analysis. 3 ed. **Cambridge Univ. Press**, Cambridge, U.K, 1971.
- FOSTER, S.P.; DENHOLM, I.; POPPY, G.M.; THOMPSON, R.; POWELL, W. Fitness trade-off in peach-potato aphids (*Myzus persicae*) between insecticide resistance and vulnerability to parasitoid attack at several spatial scales. **Bulletin of Entomological Research**, Cambridge, v. 101, p. 659-666, 2010.
- GALLO, D.; NAKANO, O.; NETO, S.S.; CARVALHO, R.P.L; BATISTA, G.C.; FILHO, E.B.; PARRA, J.R.P.; ZUCCHI, R.A.; ALVES, S.B.; VENDRAMIM, J.D.; MARCHINI, L.C., LOPES, J.R.S.; OMOTO, C. 2002. **Entomologia agrícola**. Piracicaba: FEALQ, 920p.
- GEORGHIOU, G.P. The evolution of resistance to pesticide. **Ann. Rev. Ecol. System.**, Palo Alto, v. 3, p. 133-168, 1972.
- GODFRAY, H. C. J. **Parasitoids: behavioral and evolutionary ecology**. Princeton University Press, 1994.
- GODOY, K.B., CIVIDANES, F.J. Tabelas de esperança de vida e fertilidade para *Lipaphis erysimi* (Kalt.) (Hemiptera: Aphididae) em condições de laboratório e campo. **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 31, n. 1, p. 41-48, 2002.

GUIDOLIN, A.S. **Multipartite interactions of *Aphis (Toxoptera)* and their associated symbionts.** 205 f., 2016. Tese Doutorado – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Piracicaba.

GWYNN, D. M., CALLAGHAN, 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. **Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences**, Edinburgh v. 272, n. 1574, p. 1803-1808, 2005.

HANSEN, A. K.; VORBURGER, C.; MORAN, N. A. Genomic basis of endosymbiont conferred protection against an insect parasitoid. **Genome Research**, Cold Spring Harbor, NY, v. 22, n. 1, p.106-114. 2012.

HAUBRUGE, E.; ARNAUD, A. Fitness consequences malathion-specific resistance in red flour beetle (Coleoptera: Tenebrionidae) and selection for resistance in the absence of malathion. **J. Econ. Entomol.**, Oxford, v. 94, p. 552-557, 2001.

HEMINGWAY, J. The molecular basis of two contrasting metabolic mechanisms of insecticide resistance. **Insect Biochemistry and Molecular Biology**, Oxford, v. 30, n. 11, p. 1009-1015, 2000.

HEMINGWAY, J., HAWKES, N. J., MCCARROLL, L. The molecular basis of insecticide resistance in mosquitoes. **Insect Biochem. Mol. Biol.** [s.l], v. 34, p. 653-665. 2004.

HEMINGWAY, J., RANSON, H. Insecticide Resistance in Insect Vectors of Human Disease. **Annual Review of Entomology**, Annual Reviews, Palo Alto, v.45, n. 1, p. 371-391, 2000.

HENTER, H. J. The potential for coevolution in a host-parasitoid system. II. Genetic variation within a population of wasps in the ability to parasitize an aphid host. **Evolution**, Chicago, v. 49, p. 439-445, 1995.

HOLLINGSWORTH, R.G., TABASHNIK, B.E., ULLMAN, D.E., JOHNSON, M.W., MESSING, R.H. Relationship between susceptibility to insecticides and fecundity across populations of cotton aphid (Homoptera: Aphididae). **Journal of Economic Entomology**, Oxford, v. 90, n.1, p.55-58, 1997.

HOLMAN, J. **Los áfidos de Cuba.** La Habana: Instituto Cubano del Libro, 1974, 304 p.

HOPKINS, R.J., VAN DAM, N.M., VAN LOON, J.J.A. Role of glucosinolates in insect-plant relationships and multitrophic interactions. **Annual Review of Entomology**, Stanford, v. 54, p. 57-83, 2009.

HOROWITZ, A. R.; KONTSEDALOV, S.; KHASDAN, V.; ISHAAYA, I. Biotypes B and Q of *Bemisia tabaci* and their relevance to neonicotinoid and pyriproxyfen resistance. **Arch Insect Biochem Physiol**, [s.l], v. 58, p. 216-225, 2005.

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

IRAC. Insecticide Resistance Action Committee. 2007. **The Irac eClassification: An interactive mode of action (MoA) tool.** Disponível em www.irac-online.org/eclassification/. Acesso em 13 jan. 2016.

KAZANA, E., POPE, T. W., TIBBLES, L., BRIDGES, M., PICKETT, J.A., BONES, A.M., POWELL, G., ROSSITER, J.T. The cabbage aphid: a walking mustard oil bomb. **Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences**, Edinburgh, v. 274, p. 2271-2277, 2007.

KONNO, R.H. **Subsídios para um programa de manejo da resistência de *Aphis gossypii* Glover, 1877 a inseticidas na cultura do algodão.** 83f, 2005. Tese de Doutorado – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo – Piracicaba, 2005.

KONNO, R.H.; OMOTO, C. Custo adaptativo associado à resistência de *Aphis gossypii* Glover (Hemiptera: Aphididae) ao inseticida carbosulfam. **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 35, n. 2, p. 246-250, 2006.

LI, X., SCHULER, M.A., BERENBAUM, M.R. Molecular mechanisms of metabolic resistance to synthetic and natural xenobiotics. **Annu. Rev. Entomol**, Palo Alto, v. 52, p. 231-253. 2007.

LOZANO, A.M. **Incidença e dispersión de virus transmitidos por pulgones em hortícolas de inverno y sus relaciones virus-vector.** 227f, 2005. Tese de Doutorado em Entomologia, Universidad Politécnica de Madrid, Madrid, 2005.

MARICONI, F.A.M. **Inseticidas e seu emprego no combate as pragas: com uma introdução sobre o estudo dos insetos.** 3. ed. São Paulo: Nobel, v.1, 1977.

MATHENGE, E.M., GIMNIG, J.E., KOLCZAK, M., OMBOK, M., IRUNGU, L.W., HAWLEY, W.A. Effect of permethrin-impregnated nets on exiting behavior, blood feeding success, and time feeding os malaria mosquitoes (Diptera: Culicidae) in western Kenya. **Jounal of Medical Entomology**, Oxford, v. 38, n. 4, p. 531-536, 2001.

MBOGO, C.N., BAYA, N.M., OFULLA, A.V., GITHURE, J.I., SNOW, R.W. The impact of permethrin-impregnated bednets on malaria vector of the Kenyan coast. **Medical and Veterinary Entomology**, London, v. 10, n. 3, p. 251-259, 1996.

MELO, I.S.; AZEVEDO, J.L. **Controle Biológico.** Jaguariúna, Editora EMBRAPA, 1998. v.1, 262p.

MILANI, R. Genetical aspects of insecticide resistance. **Bull World Health Org.**, p. 77-87. 1963.

MINKS A. K., HARREWIJN P., eds. **Aphids: their biology, natural enemies and control**, Amsterdam: Elsevier, 1988.

MOREIRA, M.F.; MANSUR, J.F.; FIGUEIRA-MANSUR, J. Resistência e Inseticidas: Estratégias, Desafios e Perspectivas no Controle de Insetos. In: SILVA NETO, M.A.C.;

WINTER, C.; TERMIGNONI, C. (Eds). **Tópicos avançados em entomologia molecular**: Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia em Entomologia Molecular. Itabajara da Silva Vaz Junior, 2013, p. 410- 432.

MOURA, A.P.; CARVALHO, G.A.; RIGITANO, R.L.O. Efeito residual de novos inseticidas utilizados na cultura do tomateiro sobre *Trichogramma pretiosum* Riley, 1879 (Hymenoptera: Trichogrammatidae). **Acta Scientiarum Agronomy**, Maringá, v. 26, n. 2, p. 231-237, 2004.

MUSSURY, R. M.; FERNANDES, W. D. Occurrence of *Diaeretiella rapae* (McIntosh, 1855) (Hymenoptera: Aphidiidae) parasitising *Lipaphis pseudobrassicae* (Kaltenbach, 1843) and *Brevicoryne 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.

NAUEN, R.; DENHOLM, I. Resistance of insect pests to neonicotinoid insecticides: current status and future prospects. **Arch Insect Biochem Physiol**, [s.l.], v. 58, p. 200-215, 2005.

NAUEN, R.; EBBINGHAUS-KINTSCHER, U; SCHMUCK, R. Toxicity and nicotinic acetylcholine receptor interaction of imidacloprid and its metabolites in *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae). **Pest Management Science**, West Sussex, v.57, p.577-586, jul. 2001.

OLIVEIRA, A. R. C. **Custo adaptativo e resistência à alta temperatura de *Lipaphis pseudobrassicae* (Davis, 1914) (Hemiptera: Aphididae) resistente ao parasitoide *Diaeretiella rapae* (McIntosh, 1855) (Hymenoptera: Braconidae, Aphidiinae)**. 54f, 2016. Dissertação de Mestrado – Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2016.

OLIVEIRA, R. S. ; FERREIRA, S. E. ; SAMPAIO, M.V.. Parasitoides de pulgões na agricultura: produção massal e estratégia de aplicação em campo. IN: FIGUEIREDO, M.V.B.; SILVA, D.M.P.; TABOSA, J.N.; BRITO, J.Z.; FRANÇA, J.G.E.; WANDERLEY, M.B.; SANTOS-FILHO, A.S.; GOMES, E.W.F.; LOPES, G.M.B.; OLIVEIRA, J.P.; SANTIAGO, A.D.; SILVA, F.G.; PACHECO, M.I.N.; SILVA, C.C.F. (Org.). **Tecnologias potenciais para uma agricultura sustentável**. Recife: Instituto Agronômico de Pernambuco- IPA/Emater/Seagri-AL, 2013a, p. 303-317.

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, 2013b.

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

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.; 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.
- ORTELLI, F., ROSSITER, L.C., VONTAS, J. Heterologous expression of four glutathione transferase genes genetically linked to a major insecticide resistance locus, from the malaria vector *Anopheles gambiae*. **Biochem. J.**, London, v. 373, p. 957-963. 2003.
- PARRA, J.R.P. et al. **Controle biológico no Brasil: parasitoides e predadores**. Barueri: Manole, 2002. 609 p.
- PEÑA-MARTÍNEZ, R. **Afidos como vectores de virus en Mexico**. Montecillo, Centro de Fitopatología, 1992, 135 p.
- PEREIRA, M.F.A.; BORGES, R.S.; JUSTO, C.L.; PASCHOAL, D.C. Eficácia da mistura acetamirpid + fipronil, aplicados em tratamentos de sementes de algodão, no controle de *Aphis gossypii* Glover (Hemiptera: Aphididae). **BioAssay**. Piracicaba, v. 6, n. 5, p. 1-4, 2011.
- PEREIRA, P. R. V.; HALFELD-VIEIRA, B. de A.; NECHET, K. de L.; MOURAO JUNIOR, M. Avaliação de Inseticidas no Controle de Pragas da Melancia *Citrullus lanatus* e seu Impacto na Incidência de Viroses. **Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento 2**. Boa Vista: Embrapa Roraima, 17p, 2003.
- PERRY, T., BATTERHAM, P., DABORN, P.J. The biology of insecticidal activity and resistance. **Insect Biochem. Mol. Biol.**, [s.l.], v. 41, p. 411-422. 2011.
- PIKE, K.S.; STARÝ, P.; MILLER, T.; ALLISON, D.; GRAF, G.; BOYDSTON, L.; MILLER, R.; GILLESPIE, R. 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.
- RENZO, A.; CANTONI, A.; GAMBI, E. Confidor e Gaucho: nuovi insetticidi sistemici a base di Imidacloprid. **Informatore Fitopatológico**, Milano, v. 47, n. 1, p. 25-34, 1997.
- RITZ, C.; STREIBIG, J. C. Bioassay analysis using R. **Journal of Statistical Software**, Innsbruck, v. 12, p. 5, 2005.
- ROMEIRO, R.S. **Controle biológico de doenças de plantas**. Viçosa, Editora UFV, 2007. 269p.
- ROUSH, R.T.; MCKENZIE J.A. Ecological genetics of insecticide and acaricide resistance. **Annu. Rev. Entomol.**, Palo Alto, v. 32, p. 361-380, 1987.
- SAMPAIO, M.V. **Bioecologia de Aphidius colemani Vierck, 1912 (Hymenoptera: Braconidae, Aphidiinae)**. Lavras: UFLA, 2004.
- SHONO, T., SCOTT, J.G. Spinosad resistance in the housefly, *Musca domestica*, is due to a recessive factor on autosome 1. **Pest. Biochem. Physiol**, Amsterdam, v. 75, p. 1-7. 2003.

- SILVA, L.D.; OMOTO, C.; BLEICHER, E.; DOURADO, P.M. Monitoramento da suscetibilidade a inseticidas em populações de *Bemisia tabaci* (Gennadius) (Hemiptera: Aleyrodidae) no Brasil. **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 38, n. 1, p. 116-125, 2009.
- SCHMUCK, R; NAUEN, R; EBBINGHAUS-KINTSCHER, U. Effects of imidacloprid and common plant metabolites of imidacloprid in the honeybee: toxicological and biochemical considerations. **Bulletin of Insectology**, Bologna v.56, n.1, p. 27-34, 2003.
- SOARES, H.M. **Avaliação dos efeitos do inseticida Imidacloprido para abelhas sem ferrão *Scaptotrigona postica* Latreille, 1807 (Hymenoptera, Apidae, Meliponini)**. 88f. 2012. Dissertação de Mestrado – Instituto de Biociências do Campus de Rio Claro, Universidade Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho” – Rio Claro, 2012.
- SOUZA, B. M. de; BUENO, V. H. P. Parasitóides e hiperparasitoides de múmias de *Brevicoryne brassicae* (Linnaeus, 1758) (Hemiptera – Homoptera – Aphididae). **Revista de Agricultura**, Piracicaba, v. 67, p. 55-62, 1992.
- SOUZA-SILVA, C.R.; ILHARCO, F.A. **Afídeos do Brasil e suas plantas hospedeiras**: lista preliminar. São Carlos, Editora UFSCar, 85p, 1995.
- STARK, J.D.; RANGUS, T. Lethal and sublethal effects of the neem insecticide, Margosan-O, on pea aphid. **Pest. Sci.**, [s.l.], v. 41; p. 155-160, 1994.
- STARÝ, P. Aphidiidae. In: MINKS, A. K.; HARREWIJN, P. (Ed.) **Aphids: their biology, natural enemies and control**. Amsterdam: Elsevier, p. 171-184, 1988.
- STARÝ, P. The Aphidiidae of Chile (Hymenoptera, Ichneumonoidea, Aphidiidae). **Deutsches Entomologisches Zeitschrift**, N.F, v. 42, p. 113–138, 1995.
- STARÝ, P.; CERMELI, M. Parasitoides (Hymenoptera: Aphidiidae) de afídeos em plantas cultivadas de Venezuela. **Boletín de Entomología Venezolana**, Caracas, v.5, n.10, p. 77-80, 1989.
- STARÝ, P.; DELFINO, M. A. Parasitoids (Hym., Aphidiidae) of aphids (Hom., Aphididae) in Tucumán, Argentina. **Bolletino di Laboratorio di Entomologia Agricola "Filippo Silvestri"**, Napoli, v. 43, p. 41–50, 1987.
- STARÝ, P.; GERDING, M.; NORAMBUENA, H.; REMAUDIERE, G. Environmental research on aphid parasitoid biocontrol agents in Chile (Hym., Aphidiidae Aphelinidae). **Journal of Applied Entomology**, [s.l.], v. 115, p. 292–306, 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.
- STONE, B.F., BROWN, A.W. Mechanisms of resistance to fenthion in *Culex pipiens fatigans* Wied. **Bulletin of the World Health Organization**, Geneva, v. 40, p. 401-408, 1969.
- STONE, B.S.; SHUFRAN, R.A.; WILDE, G.E. Life history study of multiple clones of insecticide resistance and susceptible greenbug *Schizaphis graminum* (Homoptera: Aphididae). **J. Econ. Entomol.**, Oxford, v. 93, p. 971-974, 2000.

- STORCH, G.; LOECK, A.E.; BORBA, R.S.; MAGANO, D.A.; MORAES, C.L.; GRÜTZMACHER, A.D. Efeitos de inseticidas aplicados em doses subletais sobre a dieta artificial e em lagartas de *Anticarsia gemmatalis* (Lepidoptera: Noctuidae). **R. Bras. Agrociência**, Pelotas, v. 13, n. 2, p. 175-179, 2007
- TAILLEBOIS, E.; ALAMIDDINE, Z.; BRAZIER, C.; GRATON, J.; LAURENT, A.D.; THANY, S.H.; LE QUESTEL, J.Y. Molecular features and toxicological properties of four common pesticides, acetamiprid, deltamethrin, chlorpyrifos and fipronil. **Bioorganic & medicinal chemistry**, [s.l], v.23, n. 7, p. 1540-1550, 2015.
- TOMITA, T., SCOTT, J.G. cDNA and deduced protein sequence of Cyp6D1: the putative gene for a cytochrome P450 responsible for pyrethroid resistance in house fly. **Insect Biochem. Mol. Biol.**, [s.l], v. 25, p. 275-283. 1995.
- TOMIZAWA, M.; CASIDA, J. E. Selective Toxicity of Neonicotinoids Attributable to Specificity of Insect and Mammalian Nicotinic Receptors. **Annual Review of Entomology**, Berkeley, Estados Unidos. v.48, p. 339-364, 2003.
- 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.
- VAN LENTEREN, J. C. Critérios de seleção de inimigos naturais a serem usados em programas de controle biológico. p. 1-19. In: BUENO, V.H.P. (ed.), **Controle biológico de pragas: produção massal e controle de qualidade**. Editora UFLA, Lavras, 196p, 2000.
- VAN LENTEREN, J.C.; BUENO, V.H.P. Augmentative biological control of arthropods in Latin America. **BioControl**, v. 48, p.123-139, 2003.
- VAZ, L. A. L.; TAVARES, M. T.; LOMÔNACO, C. Diversidade e tamanho de himenópteros parasitoides de *Brevicoryne brassicae* L. e *Aphis nerii* Boyer de Fonscolombe (Hemiptera: Aphididae). **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 33, n. 2, p. 225-230, 2004.
- VINSON, S.B. Comportamento de seleção hospedeira de parasitoides de ovos, com ênfase na família *Trichogrammatidae*, p.67-119. In J.R.P. Parra & R.A. Zucchi (Eds.), **Trichogramma e o controle biológico aplicado**. Piracicaba, Fapesp, Fealq, 324p, 1997.
- VINSON, S.B. Effect of an insect growth regulator on two parasitoids developing from treated tobacco budworm larvae. **J. Econ. Entomol.**, Oxford, v. 67, p. 335-336, 1974.
- VORBURGER, C.; GANESANANDAMOORTHY, P.; KWIATKOWSKI, M. Comparing constitutive and induced costs of symbiont-conferred resistance to parasitoids in aphids. **Ecology and Evolution**, EUA, v.3, n.3, p. 706-713, 2013.
- WAAGE, J.K. **Family planning in parasitoids**: adaptive patterns of progeny and sex allocation, In: WAAGE, J.K.; GREATHEAD, D.J. (Ed) **Insect Parasitoids**. London: Academic Press, 1986, 270p.
- WANG, Z.Y., YAO, M.D., WU, Y.D. Cross-resistance, inheritance and biochemical mechanisms of imidacloprid resistance in B-biotype *Bemisia tabaci*, **Pest. Manage. Sci.** [s.l], v. 65, p. 1189–1194. 2009.

WEBER, G., OSWALD, S., ZOLLNER, U. Suitability of rape cultivars with different glucosino-late content for *Brevicoryne brassicae* (L.) and *Myzus persicae* (Sulzer) (Hemiptera: Aphididae). **Journal of Plant Diseases and Protection**, Stuttgart, v. 93, n. 2, p. 113-124, 1986.

WYSS, C.F., YOUNG, H.P., SHUKLA, J., ROE, R.M. Biology and genetics of a laboratory strain of the tobacco budworm, *Heliothis virescens* (Lepidoptera: Noctuidae), highly resistant to spinosad. **Crop Protect**, [s.l], v. 22, p. 307–314. 2003.

YAMAMOTO, P.T.; ROBERTO, S.R.; PRIA JR, W.D. Inseticidas sistêmicos aplicados via tronco para controle de *Oncometopia facialis*, *Phyllocnistis citrella* e *Toxoptera citricida* em citros. **Scientia Agricola**, São Paulo, v. 57, n. 3, p. 415-420, 2000.

ZUO, Y.; WANG, K.; ZHANG, M.; PENG, X.; PIÑERO, J.C.; CHEN, M. Regional susceptibilities of *Rhopalosiphum padi* (Hemiptera: Aphididae) to ten insecticides. **Florida Entomologist**, Florida, v. 99, n. 3, p. 445-450, 2016.