Universidade de São Paulo
Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz"

Bases para o manejo da resistência de *Diaphorina citri* (Hemiptera: Liviidae) ao inseticida neonicotinoide imidacloprid em pomares de citros

Alex Sandro Poltronieri

Tese apresentada para obtenção do título de Doutor
Em Ciências: Área de concentração: Entomologia

Piracicaba
2013

Alex Sandro Poltronieri
Engenheiro Agrônomo

Bases para o manejo da resistência de *Diaphorina citri* (Hemiptera: Liviidae) ao inseticida neonicotinoide imidacloprid em pomares de citros

versão revisada de acordo com a resolução CoPGr 6018 de 2011

Orientador:
Prof. Dr. **CELSO OMOTO**

Tese apresentada para obtenção do título de Doutor Em Ciências. Área de Concentração: Entomologia

Piracicaba
2013

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
DIVISÃO DE BIBLIOTECA - ESALQ/USP

Poltronieri, Alex Sandro
Bases para o manejo da resistência de *Diaphorina citri* (Hemiptera: Liviidae) ao inseticida neonicotinoide imidacloprid em pomares de citros / Alex Sandro Poltronieri.- - versão revisada de acordo com a resolução CoPGr 6018 de 2011. - - Piracicaba, 2013.
131 p: il.

Tese (Doutorado) - - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", 2013.

1. Citros 2. Inseticidas 3. Manejo da resistência de insetos 4. Mistura de inseticidas 5. Psilídeo dos citros 6. Tamarixia radiata 7. Taxa instantânea de crescimento I. Título

CDD 634.3
P779b

"Permitida a cópia total ou parcial deste documento, desde que citada a fonte – O autor"

A Deus, por ter me colocado entre pessoas melhores que eu, e com elas ter aprendido.

AGRADEÇO

À minha esposa Andrea Poltronieri e a meus pais Marino e Sueli Poltronieri pelo apoio e amor

DEDICO

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Celso Omoto pela oportunidade para realização deste trabalho, e também pela orientação, compreensão, ensinamentos e exemplo.

Ao Dr. Everaldo Batista Alves pelo auxílio em todas as etapas deste trabalho.

À prof. Dra. Clarisse Garcia Borges Demétrio, à Dra. Renata Alcarde, ao MSc. Leandro do Prado Ribeiro e ao mestrando Rafael Moral pela ajuda nas análises estatísticas.

Ao Dr. Oderlei Bernardi, Dra. Eloisa Salmeron, Dra. Mônica Silva Santos e Dr. Everaldo Batista Alves, pela revisão da tese e importantes sugestões.

Aos acadêmicos Renato Augusto do Carmo de Lacerda e Fernando do Amaral Semmelroth, pela ajuda, dedicação e esmero na realização das atividades de laboratório e campo.

Aos professores do Programa de Pós-Graduação em Entomologia da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” (ESALQ/USP).

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa de Estudo.

Ao departamento técnico do Fundecitrus e Cutrale pelo apoio para realização deste estudo, em especial o Dr. Marcelo Pedreira Miranda, Fábio Luiz dos Santos, Ricardo Violante e Alexandre Amaral. Ao senhor Luis Pavan pelas indicações de pomares com insidência de *D. citri* na região de Mogi-Mirim.

Aos amigos Maria Aparecida Cassilha Zawadneak, Braulio Santos e Marcos Botton que acreditaram, me apoiaram e auxiliaram, contribuindo para meu crescimento profissional.

Aos amigos e colegas do Programa de Pós-Graduação em Entomologia (ESALQ/USP) pelo agradável convívio e companheirismo.

Aos amigos e colegas do Laboratório de Resistência de Artrópodes a Pesticidas (ESALQ/USP), Eloisa Salmeron, Nádia Fernanda Bertan Casarin, Oderlei Bernardi, Daniel

Bernardi, Karina Cordeiro Albernaz, Felipe Antônio Domingues, Oscar Arnaldo Batista Neto e Silva, Edgar Francisco Gaona Mena, Juliano Ricardo Farias, José Bruno Malaquias, Dariane Sagaseta de Oliveria Souza, Vitor Antônio Correa Pavinato, Pablo Fresia Coronel, Danielle Thomazoni, Patrick Dourado, Rogério Nascimento, Rebeca Ribeiro, Beatriz Maria Ferrari, Renato Jun Horikoshi, Gislaine Aparecida Amâncio de Oliveira Campos e Luiz Ricardo Sesso pelo convívio, companheirismo, boas conversas e auxílio prestado na condução deste trabalho.

Aos meus amigos de república Rafael Major Pitta e Pedro Rogério Giongo por tornarem meus primeiros dias em Piracicaba mais amenos.

Aos funcionários do Departamento de Entomologia e Acarologia da ESALQ/USP, Dino, Willian, João Gorá, Carlinhos e o saudoso Tutu pelos serviços prestados e as agradáveis conversas de todas as manhas saboreando um café.

A bibliotecária Silvia Maria Zinsly da Biblioteca Central (ESALQ/USP), pelo auxílio na formatação deste trabalho.

A todos aqueles que de modo direto ou indireto contribuíram para a realização deste trabalho.

Meus sinceros agradecimentos.

SUMÁRIO

RESUMO..... 11
ABSTRACT..... 13
1 INTRODUÇÃO 15
Referências 17
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA 19
2.1 *Diaphorina citri* Kuwayama, 1908 (Hemiptera: Liviidae) 19
2.2 Controle de *Diaphorina citri* 22
2.2.1 Controle químico 22
2.2.2 Controle biológico 25
2.3 Resistência a neonicotinoides 26
2.4 Manejo da Resistência 27
2.4.1 Fatores que afetam o manejo da resistência 27
2.4.2 Estratégias para o manejo da resistência 29
Referências 30

3 MONITORAMENTO DA SUSCETIBILIDADE DE *Diaphorina citri* (HEMIPTERA: LIVIIDAE) A IMIDACLOPRID E OUTROS INSETICIDAS EM POMARES CITRÍCOLAS DO ESTADO DE SÃO PAULO 43
Resumo 43
Abstract 43
3.1 Introdução 44
3.2 Material e Métodos 45
3.2.1 Coleta e manutenção de populações de *D. citri* 45
3.2.2 Inseticidas 48
3.2.3 Linhas básicas de suscetibilidade 48
3.2.4 Monitoramento da suscetibilidade de *D. citri* a inseticidas 49
3.3 Resultados 49
3.3.1 Linhas básicas de suscetibilidade 49
3.3.2 Monitoramento da suscetibilidade de *D. citri* a inseticidas 51
3.4 Discussão..... 61
3.5 Conclusões 64
Referências 64

4 INTERAÇÃO DE IMIDACLOPRID COM INSETICIDAS E FUNGICIDAS NO MANEJO DE *Diaphorina citri* (HEMIPTERA: LIVIIDAE) 67
Resumo 67
Abstract 67
4.1 Introdução 68
4.2 Material e métodos 69
4.2.1 Coleta e manutenção de insetos em laboratório 69
4.2.2 Produtos fitossanitários utilizados 69
4.2.3 Linha básica de suscetibilida 70
4.2.3.1 Adutos de *D. citri* 70
4.2.3.2 Ninfas de *D. citri* 71
4.2.4 Avaliação da mistura de imidacloprid e outros inseticidas na mortalidade de adultos de *D. citri* 72
4.2.5 Avaliação da mistura de imidacloprid e fungicidas sobre a mortalidade de adultos de *D. citri* 73
4.2.6 Avaliação da mistura de imidacloprid e inseticidas RCIs na mortalidade de ninfas de *D. citri* 73
4.2.7 Avaliação da persistência de imidacloprid isolado e em mistura com outros inseticidas sobre a mortalidade de adultos de *D. citri* 74
4.2.8 Avaliação da persistência de inseticidas isolados e em mistura sobre ninfas de 1º instar de *D. citri* 74
4.3 Resultados 76
4.3.1 Linhas básicas de suscetibilidade 76
4.3.2 Avaliação da mistura de imidacloprid e outros inseticidas na mortalidade de adultos de *D. citri* 76
4.3.3 Avaliação da mistura de imidacloprid e fungicidas sobre a mortalidade de adultos de *D. citri* 77
4.3.4 Avaliação da mistura de imidacloprid e inseticidas RCIs na mortalidade de ninfas de *D. citri* 79
4.3.5 Avaliação da persistência de inseticidas isolados e em mistura sobre adultos de *D. citri* em condições de campo e casa de vegetação 81
4.3.6 Avaliação da persistência de inseticidas isolados e em mistura sobre ninfas de 1º instar de *D. citri* 87
4.4 Discussão 96

4.5 Conclusões 102

Referências..... 102

5 TOXICIDADE DE IMIDACLOPRID E SUA ASSOCIAÇÃO COM *Tamarixia radiata* (HYMENOPTERA: EULOPHIDAE) SOBRE A DEMOGRAFIA DE *Diaphorina citri* (HEMIPTERA: LIVIIDAE) 109

Resumo 109

Abstract 109

5.1 Introdução 110

5.2 Material e Métodos 111

5.2.1 Coleta e manutenção de insetos 111

5.2.2 Determinação do período de avaliação (Δt) para taxa instantânea de crescimento (r_i) 112

5.2.3 Efeito da toxicidade residual sobre a demografia de *D. citri* 112

5.2.4 Estimativa da linha básica de suscetibilidade de *D. citri* a imidacloprid 113

5.2.5 Efeito da toxicidade de imidacloprid associado a *T. radiata* sobre a demografia de *D. citri* 114

5.2.6 Análises estatísticas 114

5.3 Resultados 115

5.3.1 Determinação do período de avaliação (Δt) para taxa instantânea de crescimento (r_i) 115

5.3.2 Efeito da toxicidade residual sobre a demografia de *D. citri* 116

5.3.3 Estimativa da linha básica de suscetibilidade de *D. citri* a imiadacloprid 117

5.3.4 Efeito da toxicidade de imidacloprid associado a *T. radiata* sobre a demografia de *D. citri* 117

5.4 Discussão 123

5.5 Conclusões 127

Referências 127

RESUMO

Bases para o manejo da resistência de *Diaphorina citri* (Hemiptera: Liviidae) ao inseticida neonicotinoide imidacloprid em pomares de citros

Um dos inseticidas mais utilizados para o controle do psilídeo *Diaphorina citri* (Hemiptera: Liviidae) em pomares de citros no Brasil tem sido o neonicotinoide imidacloprid. Para subsidiar um programa de Manejo da Resistência de *D. citri* a imidacloprid foram realizados estudos de monitoramento da suscetibilidade a inseticidas em populações de *D. citri* provenientes das principais regiões citrícolas do Estado de São Paulo, interações de imidacloprid com inseticidas e fungicidas, e avaliação da viabilidade de associação de imidacloprid com o parasitoide *Tamarixia radiata* (Hymenoptera: Eulophidae). Para a caracterização de linhas básicas de suscetibilidade de *D. citri* aos inseticidas imidacloprid, deltamethrin e dimethoate foram utilizados bioensaios de contato residual. Foram definidas as concentrações diagnósticas de 56 mg de imidacloprid/L água (CL_{95}), 32 mg de deltamethrin/L água (CL_{90}) e 56 mg de dimethoate/L água (CL_{95}) para o monitoramento da suscetibilidade de 25 populações de *D. citri* entre 2010 e 1012. Não ocorreram diferenças na sobrevivência aos inseticidas testados em populações de psilídeos coletados em pomares de citros com diferentes intensidades de pulverização com inseticidas. A maior sobrevivência de insetos nas concentrações diagnósticas foi observada em 2010, com valores de sobrevivência variando de 4,7% a 24,0% para imidacloprid, de 0,9% a 11,8% para deltamethrin e de 5,2% a 13,0% para dimethoate. Não foram observados aumentos significativos na sobrevivência de *D. citri* nos monitoramentos realizados em 2011 e 2012. As interações de imidacloprid com deltamethrin ou dimethoate foram testadas com as CL_{25} dos respectivos inseticidas em bioensaio de contato residual. As interações foram aditivas sobre a mortalidade de adultos em condições de campo e de casa de vegetação. A mistura de imidacloprid com buprofezin e pyriproxyfen sobre ninfas de 3º instar também foi aditiva. A atividade biológica das concentrações campo de imidacloprid (40µL/mL) e buprofezin (375µg/mL) e da mistura dos mesmos mostrou uma degradação da atividade similar para o controle de *D. citri* em condições de campo e casa de vegetação. A avaliação da persistência da mistura de imidacloprid e pyriproxyfen (avaliado nas concentrações de 6,25µg/mL e 100µg/mL) indicou que pyriproxyfen teve degradação mais rápida que imidacloprid. A mistura de imidacloprid na CL_{25} para *D. citri* com a concentração de campo dos fungicidas Benzimidazol (500µg/mL de tiofanato-metilico), estrubilurina (37,5µg /mL de piraclostrobina) e triazol (50µg/mL de difenenoconazol) não afetaram o desempenho de imidacloprid. Houve significativa redução na taxa instantânea de crescimento (r_i) de *D. citri* quando expostas a diferentes idades de resíduos de imidacloprid pulverizado na concentração de 40µg/mL, mesmo sobre resíduos com 56 dias de idade, levando à extinção da população ou em processo de extinção. A exposição a CL_5 (0,501µg/mL), CL_{10} (0,804µg/mL), CL_{25} (1,995µg/mL) e CL_{50} (5,213µg/mL) de imidacloprid para *D. citri* reduziu o crescimento populacional de *D. citri*, mas não causou sua extinção. Contudo, essas concentrações de imidacloprid afetaram a r_i do parasitoide com a CL_{50} causando sua extinção.

Palavras-chave: Citros; Psilídeo dos citros; *Tamarixia radiata*; Manejo da resistência de insetos; Mistura de inseticidas; Taxa instantânea de crescimento

ABSTRACT

Bases for resistance management of *Diaphorina citri* (Hemiptera: Liviidae) to the neonicotinoid insecticide imidacloprid in citrus groves

One of the most widely used insecticides for control of *Diaphorina citri* (Hemiptera: Liviidae) in citrus groves in Brazil has been the neonicotinoid imidacloprid. To implement an Insect Resistance Management program of *D. citri* to imidacloprid, studies were conducted to monitor the susceptibility to insecticides in *D. citri* populations collected from main citrus production regions of São Paulo State, to evaluate the interactions of imidacloprid with insecticides and fungicides, and to assess the feasibility of imidacloprid association with the parasitoid *Tamarixia radiata* (Hymenoptera: Eulophidae). Residual contact bioassays were used to characterize the baseline susceptibility of *D. citri* to the insecticides imidacloprid, deltamethrin and dimethoate. Diagnostic concentrations of 56 mg of imidacloprid/L water (LC_{95}), 32 mg of deltamethrin/L water (LC_{90}) and 56 mg of dimethoate/L water (LC_{95}) were defined for monitoring the susceptibility in 25 populations of *D. citri* from 2010 to 2012. There were no differences in survival to the insecticides tested in *D. citri* populations collected in citrus groves with different regimes of insecticide use. The highest survival of insects at diagnostic concentrations was observed in 2010, with survival values ranging from 4.7% to 24.0% for imidacloprid, from 0.9% to 11.8% for deltamethrin and 5.2% to 13.0% dimethoate. There were no significant increases in survival of *D. citri* on monitoring conducted in 2011 and 2012. The interactions of imidacloprid with deltamethrin or dimethoate were tested with the LC_{25} of each insecticide with residual contact bioassays. The interactions of these insecticides were additive on *D. citri* adult mortality under field or greenhouse conditions. The interactions of imidacloprid with buprofezin and pyriproxyfen were additive on 3rd instar nymphs. The biological activity at field rates of imidacloprid (40µl/mL) and buprofezin (375µg/mL) as well as the mixture of these insecticides showed a similar degradation in the activity to control *D. citri* under field and greenhouse conditions. The evaluation of the persistence of the mixture of pyriproxyfen and imidacloprid (evaluated at concentrations of 6.25 µg/mL and 100µg/mL) indicated that pyriproxyfen degradation was faster than imidacloprid. The mixture of LC_{25} of imidacloprid to *D. citri* with fungicides field rates of benzimidazole (500µg/mL of thiophanate-methil), strobilurin (37.5 µg/mL of pyraclostrobin), and triazole (50µg/mL of difenoconazole) did not affect the performance of imidacloprid. A significant reduction in the instantaneous rate of increase (r_i) of *D. citri* was observed when exposed to different residue ages of imidacloprid sprayed at concentration of 40µg/mL, even when exposed to residues of 56-day old, by leading to their extinction or in extinction process. The exposure to CL_5 (0.501 µg/mL), CL_{10} (0.804 µg/mL), LC_{25} (1.995 µg/mL) and LC_{50} (5.213 µg/mL) of imidacloprid to *D. citri* did not cause their extinction. However, these concentrations of imidacloprid affected the r_i of the parasitoid causing their extinction at LC_{50}.

Keywords: Citrus; Citrus psyllids; *Tamarixia radiata*; Insect resistance management; Insecticide mixture; Instantaneous rate of increase

1 INTRODUÇÃO

O psilídeo dos citros *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Liviidae) é a principal praga da citricultura por ser o vetor da bactéria causadora do Huanglongbing (HLB). O controle químico de *D. citri* é a principal medida empregada para reduzir a incidência de HLB nos pomares (TIWARI et al., 2011), mediante pulverizações sequenciais e preventivas visando evitar inóculos primários do HLB (STUCHI ; GIRARDI, 2010; MASCHIO, 2011). Outras táticas de controle poderiam ser utilizadas, como o controle biológico por parasitoides (GÓMEZ TORRES et al., 2006). Entretanto seu uso em pomares é inviabilizado devido ao elevado número de pulverizações de inseticidas (GÓMEZ TORRES, 2009).

Dentre os grupos químicos de inseticidas, os neonicotinoides são amplamente utilizados na citricultura brasileira para controle do complexo de cigarrinhas transmissoras da bactéria causadora da clorose variegada dos citros (CVC) e de *D. citri*, o que torna de grande importância à preservação da eficiência deste grupo (DIVELY, 2003). Na citricultura o uso de inseticidas neonicotinoides como imidacloprid se inicia nas mudas de citros nos viveiros e é continuado em pulverização nos pomares de citros (YAMAMOTO, 2008). Assim, devido ao grande uso de imidacloprid e a inexistência de trabalhos visando o manejo pró-ativo da resistência de *D. citri*, faz-se necessário estabelecer estratégias de Manejo da Resistência de Insetos (MRI), com o intuito de evitar ou retardar a evolução da resistência de *D. citri* a esse inseticida.

A evolução da resistência a neonicotinoides é reportada para diversas pragas, sendo comum a ocorrência de resistência cruzada entre neonicotinoides (WANG et al., 2009) e entre neonicotinoides e inseticidas de outros grupos químicos (WANG; YAO; WU, 2009). No Brasil, o elevado número de pulverizações associado a características bioecológicas de *D. citri* pode acelerar a evolução da resistência, como ocorreu na Flórida (TIWARI et al., 2011). Entre as características bioecológicas de *D. citri*, destaca-se a baixa mobilidade de ninfas (MEAD, 2007), capacidade de dispersão de adultos (BOINA et al., 2009b), várias gerações anuais (GÓMEZ TORRES, 2009) e monofagia funcional devido à erradicação de hospedeiros alternativos como *Murraya paniculata* L. em áreas de produção citrícola (BELASQUE Jr et al., 2009).

Nessa situação, programas de Manejo Integrado de Pragas (MIP) e MRI para *D. citri* devem ser implementados. Em termos de MRI, o passo inicial é a obtenção das linhas básicas de suscetibilidade para os inseticidas usados contra *D. citri*, e o monitoramento da suscetibilidade a neonicotinoides como o imidacloprid e outros inseticidas empregados no controle do psilídeo. O monitoramento da suscetibilidade de *D. citri* para outros inseticidas é uma estratégia interessante para verificar a mortalidade proporcionada por produtos que poderiam ser empregados em associação com imidacloprid visando implementar uma estratégia para o manejo da resistência

como a rotação ou uso de misturas de inseticidas. Adicionalmente, devem ser realizados estudos para subsidiar estratégias que reduzam pulverizações de inseticidas e que preservem as moléculas inseticidas e minimizem efeitos sobre organismos não alvos como os inimigos naturais.

A mistura de inseticidas é uma estratégia para controlar insetos resistentes ou até mesmo retardar a evolução da resistência (MANI, 1985). O princípio da mistura para o MRI assume que os insetos que poderiam estar sendo selecionados para resistência ao produto A sejam controlados pelo produto B, e vice-versa. Embora a mistura seja uma eficiente estratégia de manejo da resistência (GEORGHIOU, 1983) são poucos os trabalhos que avaliam sua eficiência. Para a mistura ser eficiente para o MRI algumas premissas devem ser atendidas, como a compatibilidade dos produtos e persistênca similar. Quando estas duas condições não são observadas podem ocorrer falhas de controle devido à incompatibilidade dos produtos em mistura ou mesmo a seleção de indivíduos resistentes aos inseticidas da mistura devido à persistência biológica dos produtos não ser semelhante.

Na citricultura, devido ao grande número de pulverizações para controle de insetos e doenças, os custos de produção têm sido elevados. Este cenário tem estimulado o emprego da mistura de inseticidas e fungicidas em tanque de pulverização, visando à redução de custos e tempo de trabalho. Entretanto, o efeito resultante da interação destes produtos é desconhecido sobre *D. citri*. Neste cenário o estudo do efeito causado por fungicidas sobre a eficiência de imidacloprid pode desempenhar um importante papel em um manejo pró-ativo da resistência.

O emprego de análises toxicológicas demográficas podem auxiliar na elaboração de estratégias de MRI, como a redução de pulverizações contra *D. citri*. Estes estudos permitem abordagens amplas como à avaliação do efeito letal e subletal de imidacloprid sobre populações de *D. citri*, sendo possível avaliar períodos residuais ou concentrações do inseticida que apesar de afetar taxa instantânea de crescimento (r_i) da população de *D. citri*, viabilizem o emprego de inimigos naturais como o parasitoide *Tamarixia radiata* (Hymenoptera: Eulophidae). Este conhecimento é relevante quando se visualiza o manejo regional de *D. citri*, com pulverizações sincronizadas, envolvendo pomares de toda uma região. Neste tipo de estratégia, se sabe a idade residual e a concentração do inseticida, o que poderia viabilizar o emprego de *T. radiata* a partir de uma determinada concentração ou de um período residual de um inseticida que, apesar de afetar negativamente a população de *D. citri*, possibilita a sobrevivência do parasitoide.

Deste modo, visando gerar subsídios para um programa de manejo da resistência de *D. citri* ao inseticida imidacloprid este trabalho teve por objetivo:

- Monitorar a suscetibilidade de populações de *D. citri* a imidacloprid e também a alguns inseticidas piretroides e organofosforados;

- Verificar os efeitos da mistura de imidacloprid com outros inseticidas com modo de ação distintos como tática no manejo pró-ativo da resistência de *D. citri* a inseticidas, além de avaliar o efeito da mistura entre imidacloprid e fungicidas;

- Avaliar o impacto do controle químico com imidacloprid e sua associação com o controle biológico com *T. radiata* sobre a taxa instantânea de crescimento populacional de *D. citri*.

Referências

BELASQUE JR. J.; BERGAMIN FILHO, A.; BASSANEZI, R. B.; BARBOSA, J.C.; FERNANDES, N.G.; YAMAMOTO, P.T.; LOPES, S.A.; MACHADO, M.A.; LEITE JR, R.P. AYERES, A.J.; MASSARI, C.A. **Greening:** A instrução Normativa n.53 e a necessidade de um controle efetivo no Brasil. Disponível em: <http://www.fundecitrus.com.br/ImageBank/FCKEditor/file/pdf/artigo_controle_greening.pdf > Acesso em;08 jul. /2009.

BOINA, D.R.; ONAGBOLA, E.O.; SLYANI, M.; STELINSKI, L.L. Inflence of posttreatment temperature on the toxicity of insecticides against *Diaphorina citri* (Hemiptera: Psyllidae). **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v. 102, n. 2, p. 685 - 691, 2009a

BOINA, D.R.; MEYER, W.L.; ONAGBOLA, E.O.; STELINSKI, L.L. Quantifying dispersal of *Diaphorina citri* (Hemipera: Psyllidae) by immunomarking and potential impact of managed groves on commercial citrus management. **Environmental Entomology**, College Park, v. 38, n. 4, p. 1250 - 1258, 2009b.

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: 12 jul. 2012.

GEORGHIOU, G.P. Management of resistance in arthropods. In: GEORGHIOU, G.P.; SAITO, T. **Pest resistance to pesticides**. New York: Plenun, 1983. 809p.

GÓMEZ TORRES, M.L. **Estudos bioecológicos de *Tamarixia radiata* (Waterston, 1922) (Hymenoptera: Eulophidae) para o controle de *Diaphorina citri* Kuwayama, 1907 (Hemiptera: Psyllidae).** 2009. 83p. Tese (Doutorado em Entomologia) – Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2009.

GÓMEZ TORRES, M.L.; NAVA D.E. ; GRAVENA S.N.; COSTA V.A.; PARRA, J.R.P. Registro de *Tamarixia radiata* (waterston) (Hymenoptera: Eulophidae) em *Diaphorina citri* kuwayama (Hemiptera: Psyllidae) em São Paulo, Brasil. **Revista de Agricultura**, Piracicaba, v. 81, n. 1, p. 112-117, 2006

HALL, D.J. Na experimental aproach to the dyamics of natural population of *Daphnia galeata mendotae*. **Ecology**, Tempo, . 45, p. 94-112, 1964.

MASCHIO, F. **Ações adotadas pelo citricultor para o manejo do Huanglongbing (HLB, Greening) no parque citrícola paulista**. 2011. 30p. Dissertação (Mestrado profissionalizante) - Fundo de Defesa da Citricultura. Araraquara, 2011.

MANI G.S. Evolution of resistance in the presence of two insecticides. **Genetics**, Rockville Pike, v. 109, p. 761-783, 1985

MEAD, F.W. **Asian citrus psyllid, *Diaphorina citri* Kuwayama (Insecta: Hemiptera: Psyllidae)**. Gainesville: IFAS/ University of Florida, 2007, 6 p. Disponível em:< http://edis.ifas.ufl.edu/pdffiles/IN/IN16000.pdf> Acesso em: 08 jul. 2012.

STARK, J.D.; BANKEN, J.A.O. Importane of population structure at the time of toxicant exposure. **Ecotoxicology and Environmental Safety**. New York, v. 42, p. 282-287, 1999.

STUCHI, E.S.; GIRARDI, E.A. Utilização de práticas culturais na citricultura frente ao Huanglongbing. **EMBRAPA Mandioca e Fruticultura**, Cruz das Almas, BA. MAPA, 2010. 77 p.

TIWARI, S.; MANN, R.S.; ROGERS, M.E.; STELINSKI, L.L. Insecticide resistance in field populations of asian citrus psyllid in Florida. **Pest Management Science**, Sussex, v. 67, n. 10, p. 1258-1268, 2011.

WALTHALL, W.K.; STARK, J.D. Comparison of two populations-level ecotoxicological endpoints: The intrinsic (rm) and instantaneous (ri) rates of increase. **Environmental Toxicology Chemistry**, New York, v. 16, p. 1068-1073, 1997.

WANG, Y.A.; WU, S.H.; ZHU, Y.C.; CHEN, J.; LIU, F.Y.; ZHAO, Y.D.; WANG, Q.; LI, Z.; BO, X. P.; SHEN, J.L. Dynamcs of imidacloprid resistance and cross-resistance in the brown planthopper, *Nilaparvata lugens*. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, Dordrecht, v. 131, p. 20-29, 2009.

WANG, Z.; YAO, M. WU, Y. Cross-resistance, inheritance and biochemical mechanisms of imidacloprid resistance in B-biotype *Bemicia tabaci*. **Pest Management Science**, Sussex, n. 65, p. 1189-1194, 2009.

YAMAMOTO, P.T. Controle de insetos vetores de bactérias causadoras de doenças em citros. In: _____. **Manejo Integrado de Pragas dos Citros**. Piracicaba:Editora Piracicabana, 2008.Cap.8 p. 237

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 *Diaphorina citri* Kuwayama, 1908 (Hemiptera: Liviidae)

O psilídeo dos citros *Diaphorina citri* é um inseto sugador da ordem Hemiptera. Sua importância está associada à capacidade de hospedar e transmitir a bactéria *Candidatus* liberibacter causadora da doença conhecida como Huanglongbing (HLB) (MICHAUD, 2004). Além de *D. citri*, o psilídeo *Trioza erytreae* (TAMESSE, 2009) e recentemente *Cacopsylla citrisuga* (CEN et al., 2012) são relatados como vetores de *Ca*. liberibacter.

O psilídeo dos citros está presente nas principais regiões citrícolas do mundo (HALBERT; NUÑEZ, 2004). No Brasil seu primeiro registro foi em 1942 (COSTA LIMA, 1943). Os adultos medem de 2,8 a 3,2 mm de comprimento, os jovens possuem coloração marrom-clara e à medida que envelhecem adquirem manchas escuras (GALLO et al., 2002). Possuem variação na cor do abdome, estando esta associada ao peso corporal e fecundidade (WENNINGER et al., 2009). Entretanto, Tiwari et al. (2012a) verificaram que a coloração abdominal também está ligada à produção de enzimas que degradam xenobióticos, como as enzimas oxidativas do citocromo P450, influenciando a suscetibilidade do inseto a inseticidas.

A oviposição de *D. citri* inicia um dia após o acasalamento (WENNINGER; HALL, 2007). Os ovos recém ovipositados apresentam coloração amarelada e à medida que se aproximam da eclosão de ninfas se tornam mais escuros (GÓMEZ TORRES, 2009). Os ovos não estão inseridos nas brotações, mas sobre um pedúnculo oco fixado na folha (GUIDOLIN, 2011). O período embrionário varia em função da temperatura. Tsai e Liu (2000) verificaram uma variação de 9,7 dias (15°C) a 3,5 dias (28°C), com uma oviposição média de 857 ovos por fêmea sobre citros e 626 ovos sobre murta, com viabilidade de ovos superior a 80%. Nava et al. (2007) observaram uma variação entre 7,7 dias (18ºC) e 2,6 dias (32ºC) com oviposição média de 348 ovos sobre murta, e viabilidade superior a 80%. Já Liu e Tsai et al. (2000) observaram para o período embrionário uma variação de 9,74 dias (15ºC) a 3,29 dias (30ºC). Ovos de *D. citri* possuem tolerância a baixas temperaturas, pois a exposição por até 8 horas a temperaturas negativas (-7ºC) apresentaram eclosão superior a 40% (HALL et al., 2010).

As ninfas possuem 5 instares com aspecto achatado, convexo e com pernas curtas (NAVA et al., 2007). A duração da fase ninfal é dependente da temperatura, variando de 10,6 a 39,6 dias, em uma temperatura entre 15° e 28°C, com viabilidade acima de 80% nos dois primeiros ínstares e nos três últimos pode chegar a 90% (LIU; TSAI, 2000; TSAI; LIU, 2000; NAVA et al., 2007; HALL; WENNINGER; HENTZ, 2010). Em estudos de desenvolvimento

sobre diferentes hospedeiros a fase de ninfal pode oscilar entre 10,7 e 39,3 dias, quando expostas as temperaturas de 18°C e 30°C, respectivamente (NAVA et al. 2007).

A fase adulta é a mais longa e a sua duração está associada à temperatura e ao sexo. Nava et al. (2007) encontraram para fêmeas e machos, mantidos a 25ºC sobre murta, uma longevidade de 32 e 23 dias respectivamente. Já Tsai e Liu (2000) verificaram para fêmeas mantidas a 25ºC uma variação entre 39 e 47 dias, dependendo do hospedeiro. Entretanto, fêmeas podem apresentar uma sobrevivência de até 88 dias a 18ºC (LIU; TSAI, 2000), sendo os adultos a fase mais sensível a baixas temperaturas (HALL; WENNINGER; HENTZ, 2010). Visando a maior compreenção do efeito de diferentes fatores sobre o desenvolvimeto do psilídeo a origem geográfica e distintos hospedeiros foram estudados e a temperatura foi o fator que mais influênciou o desenvolvimento de *D. citri* (NAVA et al., 2010).

O Estado de São Paulo apresenta condições favoráveis ao desenvolvimento de *D. citri*, como a região Norte, onde o clima pode variar de favorável a muito favorável (HAMADA et al., 2005). Estudo sobre as exigências térmicas e higrométricas mostraram que em São Paulo o psilídeo pode apresentar entre 3,95 e 13,05 gerações anuais, (GÓMEZ TORRES, 2009), sendo este número superior ao registrado na China (YANG et al., 2006). Segundo Hodkinson (1974), em climas tropicais, as várias gerações do psilídeo durante o ano também são influenciadas pelo estágio fisiológico de seus hospedeiros.

Neste contexto, as maiores flutuações populacionais de *D. citri* ocorrem durante o período vegetativo das plantas (YAMAMOTO; PAIVA; GRAVENA, 2001), pois o psilídeo é estimulado pelos voláteis emitidos por fluxos vegetativos, acasalado e realizado oviposições sobre as brotações (PATT; SÉTAMOU, 2010). No EUA os fluxos vegetativos e a temperatura são os principais fatores que contribuem para o aumento populacional de *D. citri* (ROGERS; STANSLY, 2007). Entretanto, apesar de *D. citri* ter seus maiores níveis populacionais durante o período vegetativo, é encontrado durante todo o ano, caracterizando-se como uma espécie constante, ocorrendo em maiores números que várias espécies de cigarrinhas transmissoras de *Xylella fastidiosa* (YAMAMOTO; GRAVENA, 2000).

Até o ano de 2004 o psilídeo era considerado uma praga secundária na citricultura. Seus danos diretos são causados pela sucção de seiva, injeção de toxinas e picadas sucessivas, que causam o enrolamento das folhas e retorcimento dos brotos, afetando o desenvolvimento das plantas (HALBERT; MANJUNATH, 2004). Michaud (2004) observou a ocorrência de deformações foliares após a alimentação de uma ninfa por 24 horas. Os danos diretos, causados pela alimentação de *D. citri*, são mais acentuados durante períodos de brotação,

onde ocorrem condições ambientais favoráveis ao seu desenvolvimento. Entretanto é devido ao dano indireto que o psilídeo adquiriu o status de praga primária na citricultura.

D. citri é o único vetor da bactéria *Candidatus* Liberibacter, causadora do HLB no Brasil (COLETTA FILHO et al., 2004). Embora sejam necessários mais estudos para melhor compreensão sobre a transmissão desta bactéria em condições brasileiras (PAIVA, 2009), este inseto é um eficiente vetor do patógeno na Ásia, onde grupos formados por 5 psilídeos adultos transmitiram a bactéria para 95% das plantas disponibilizadas, em um período de 15 minutos (CAPOOR; RAO; VISWANATH., 1974). Roistacher, (1991) relata que o período de aquisição do patógeno por um psilídeo adulto é de 30 minutos. No Brasil, o estado de São Paulo é o maior produtor nacional de citros (NEVES et al., 2010), e tem-se verificado o aumento no número de pomares com a doença, bem como a sua disseminação ano após ano o que pode ser um indicativo da eficiência de transmissão do patógeno pelo psilídeo.

Apesar do volume de informações, o conhecimento na aquisição e transmissão do patógeno é pouco conhecido. Para a maior compreensão da relação patógeno e hospedeiro, Bonani et al. (2010) empregaram a técnica *eletrical penetration graph* (EPG) para caracterizar particularidades da alimentação de *D. citri*, contribuindo para o melhor entendimento sobre a aquisição e transmissão de *Ca*. Liberibacter por *D. citri*. Estudos envolvendo EPG também buscaram identificar os tipos de onda quando o inseto está se movimentando e quando está parado sobre a superfície de frutos (YOUNGNAM et al., 2011) ou o efeito de inseticidas sobre a alimentação do psilídeo (BOINA et al., 2011). Entretanto, apesar dos avanços no conhecimento sobre a interação do psilídeo e a bactéria, a alimentação não é o único método de aquisição do patógeno.

A bactéria *Ca*. Liberibacter é transmitida verticalmente. Em estudos realizados por Hung et al. (2004) não foram detectados ovos de *D. citri* com a bactéria, entretanto Pelz-Stelinski et al., (2010), mostraram que apesar de baixa a transmissão da bactéria de fêmeas infectadas para seus ovos ocorre, sendo que a bactéria também pode ser transmitida durante a cópula de um inseto infectado para outro saudável (MANN et al., 2011). Hung et al. (2004) verificaram que com exceção do primeiro instar, todos os demais adquirem e transmitem o patógeno de modo persistente (XU et al., 1990). Adultos originários de ninfas infectadas são vetores mais eficientes que adultos que adquiriram o patógeno (INOUE et al., 2009). Isso pode ser atribuído ao maior período que as ninfas passam alimentando-se de plantas doentes, uma vez que são pouco móveis (MEAD, 2007).

Apesar da baixa mobilidade ninfal, os adultos apresentam elevada dispersão. Segundo Gómez Torres (2009), os adultos são ativos, locomovendo-se entre ramos e plantas, entretanto

este tipo de deslocamento ocorre quando o psilídeo é estimulado (MEAD, 2007), e ainda assim a distâncias de 3 a 5 metros (AUBERT; XIA, 1990) ou voos mais longos, entre 25 e 30 metros (GOTTWALD; AUBERT; LONG, 1991). Entretanto em trabalhos recentes, Boina et al. (2009a) verificaram que adultos podem locomover-se entre pomares com até 100 metros de distância, sendo possível que o psilídeo consiga atingir grandes distâncias, pois apresenta asas e musculatura alar desenvolvidas e beneficiam-se de correntes de vento (SAKAMAKI, 2005).

2.2 Controle de *Diaphorina citri*

Entre as estratégias para reduzir a incidência de HLB nos pomares estão a erradicação de plantas sintomáticas, o plantio de mudas isentas de patógenos e o controle do vetor (BELASQUE Jr et al., 2009a). Entretanto o uso de inseticidas para controle de *D. citri* tem sido a principal estratégia para reduzir o HLB (YAMAMOTO et al., 2009).

Embora, o uso de inseticidas químicos seja o método mais usado no controle do psilídeo (GRAVENA, 2009; TIWARI et al., 2011a), estudos têm indicado a possibilidade do uso de outras estratégias, tais como fungos entomopatogênicos (PADULLA; ALVES, 2009), caulim (TURATI, 2008), voláteis visando a repelência (ONAGBOLA et al., 2011; MANN et al., 2012; POERWANTO et al., 2012), óleos minerais (RAE et al., 1997; POERWANTO et al., 2012; MICELLI, 2011) e inseticidas botânicos (WEATHERSBEE; McKENZIE, 2005; KHAN et al., 2012). Inimigos naturais também são eficazes no manejo de *D. citri* (PARRA; GÓMES TORREZ; PAIVA, 2007). Entretanto, trabalhos devem ser feitos visando gerar conhecimento para que inimigos naturais sejam associados ao controle químico. O uso de inseticidas seletivos como reguladores de crescimento pode desempenhar um importante papel neste aspecto, conciliando o controle químico e o biológico, realizado por meio do parasitoide *T. radiata* (QURESHI et al., 2009).

2.2.1 Controle químico

O controle químico de *D. citri* tem sido a principal estratégia para reduzir o HLB nos pomares. O uso de inseticidas se inicia nos viveiros, sendo realizado em todas as fases da planta (YAMAMOTO, 2008) por meio de produtos sistêmicos ou de contato aplicados no solo, no tronco ou na parte aérea (FUNDECITRUS, 2008). Produtos sistêmicos após translocados na planta, apresentam altas concentrações nas folhas (SÉTAMOU et al., 2010) com longo efeito residual (YAMAMOTO, 2008; YAMAMOTO et al., 2009). Já as pulverizações foliares apresentam como principal característica as suas realizações

sequenciais e preventivas, com tratamentos quinzenais (GRAVENA, 2009; MASCHIO, 2011). Apesar do alto número de pulverizações, o número de inseticidas recomendados pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) para o controle de *D. citri* é limitado a produtos pertencentes a poucos grupos químicos (MAPA, 2012), sendo o neonicotinoide imidacloprid o inseticida mais representativo.

Os inseticidas pertencentes ao grupo químico dos neonicotinoides atuam como agonistas de receptores nicotínicos da acetilcolina localizados no neurônio pós-sináptico (NAUEN et al., 2000). Entretanto, ao contrário da acetilcolina que é hidrolisada pela enzima acetilcolinesterease, os neonicotinoides não são degradados, transmitindo de modo contínuo os impulsos nervosos, levando à hiperexcitação do sistema nervoso do inseto (TOMIZAWA; CASIDA, 2005). Este grupo de inseticida foi incluído na lista de produtos liberados para uso na Produção Integrada de Citros no Brasil (JOAQUIM et al., 2006).

A eficiência dos neonicotinoides no controle de *D. citri* foi reportada por Nakano et al. (1999), com um controle acima de 80% após três dias do pincelamento do troco. Em pomares recém-implantados, imidacloprid foi eficiente no controle de adultos e ninfas de *D. citri*, reduzindo de modo significativo a transmissão de *Ca.* liberibacter (GATINEAU et al., 2010). Roberto e Yamamoto (1998) também verificaram que neonicotinoides são eficazes no controle de cigarrinhas vetoras da Clorose Variegada dos Citros (CVC), além de apresentar elevado poder residual. Nakano et al. (1999) verificaram um percentual de controle de até 70% com inseticidas neonicotinoides, mesmo após 60 dias da aplicação. Roberto e Yamamoto (1998) verificaram que em plantas cítricas de até seis anos, o período de controle foi de 80 dias para cigarrinhas. Yamamoto et al. (2009) observaram um período de controle para *D. citri* de 60 dias com imidacloprid, sendo que estes autores verificaram que baixas doses de neonicotinoides, quando comparados com organofosforados e piretroides, proporcionaram alta mortalidade do psilídeo. Além do efeito letal, há registros de feitos subletais de imidacloprid sobre a fecundidade, fertilidade, longevidade do psilídeo, além de afetar a capacidade de alimentação do inseto (BOINA et al., 2009b).

Os inseticidas neonicotinoides também foram eficientes no controle do psilídeo *Triozoida* sp, a principal praga da goiabeira (BARBOSA et al., 2003). Estes autores relatam a seletividade dos neonicotinoides a inimigos naturais. Estudos realizados no Paquistão para verificar a eficiência de seis inseticidas no controle de *D. citri* mostraram que o neonicotinoide thiamethoxam teve o melhor desempenho, apresentando controle satisfatório até a sexta semana após a aplicação (FARMANULLARH; RAKHMIN, 2005).

Em pomares de citros da Flórida, os neonicotinoides fazem parte dos tratamentos fitossanitários para controle de *D. citri* (GRAFTON-CARDEWELL et al., 2006; TIWARI et al., 2011a). As pulverizações oscilam entre 6 e 8 por safra (BOINA et al., 2010). Entretanto, os tratamentos são baseados em aplicações sistêmicas, proporcionando um controle duradouro e reduzindo efeitos indesejados sobre organismos não alvos, além da preocupação constante em aplicar estratégias que minimizem as chances de seleção de indivíduos resistentes (GODFRAY et al., 2009; ROGERS; STANSLY; STELINSKI, 2009).

Recentemente, alguns estudos estão avaliando o potencial de novos inseticidas como pymetrozine e Reguladores de Crescimento (IRCs) para o controle de *D. citri*. Pymetrozine é um inseticida seletivo que se liga aos receptores neuronais promovendo a liberação de serotonina nos espaços sinápticos, e uma vez ativados, estes receptores promovem a inibição nervosa do aparelho sugador de insetos. Pymetrozine é eficiente contra afídeos (BEDFORD et al., 1998) e mosca-branca (POLSTON; SHEWOOD, 2003), reduzindo a aquisição e transmissão de fitopatógenos. Para *D. citri*, pymetrozine apresentou uma baixa capacidade de reduzir a aquisição e a transmissão de *Ca* liberibacter (BOINA et al., 2011).

Entre os IRCs, destaca-se o pyriproxyfen, buprofezin e diflubenzuron. Pyriproxyfen é um agonista do hormônio juvenil. Aplicações exógenas causam desequilíbrios nos níveis do hormônio juvenil afetado todas as fases dos insetos (ABO-ELGHAR et al., 2004; LIU, 2003). Boina et al. (2010) verificaram que pyriproxyfen afetou a fecundidade, inibiu a eclosão de ninfas, causou alta mortalidade em ninfas de *D. citri*, com destaque para insetos nos primeiros instares, sendo que indivíduos de 5º instar que atingiram a fase adulta não conseguiram se desprender da exúvia ou apresentavam deformações corporais. Os IRCs buprofezin e diflubenzuron são inibidores da síntese de quitina, interferindo no processo de muda do exoesqueleto dos insetos (DHADIALLA; CARLSON; LE, 1998). Essa interferência causa uma anormal deposição da endocutícula e a interrupção da equidise, causando a morte das formas jovens (MEOLA; MAYER, 1980; PRABHAKER; TOSCANO, 2007). Osinseticidas buprofezin e diflubenzuron reduziram a viabilidade de ovos, afetaram a emergência de adultos e promoveram a supressão de ninfas do 1º ao 3º instar de *D. citri* (TIWARI et al., 2012a).

Apesar da possibilidade do uso de IRCs, atualmente inseticidas neurotóxicos como imidacloprid são os produtos mais empregados para o controle do psilídeo dos citros. Neste contexto, trabalhos devem ser realizados no intuito de gerar conhecimentos que possibilitem a redução da pressão causada por estes inseticidas sobre *D. citri* e viabilizar o emprego de produtos seletivos, o que pode tornar possível o emprego do controle biológico com o emprego de inimigos naturais.

2.2.2 Controle biológico

O controle biológico de *D. citri* vem sendo amplamente estudado, e já foram comprovados a eficiência de fungos entomopatogênicos e inimigos naturais no controle do psilídeo. Em trabalhos com fungos entomopatogênios Padulla e Alves (2009), avaliaram doze espécies de fungos sobre ninfas de *D. citri*, sendo que *Beauveria bassiana* foi a que causou a maior mortalidade, evidenciando ser um promissor agente para o controle microbiano deste psilídeo. Neves et al. (2001) mostraram a existência de compatibilidade de fungos entomopatogênicos com inseticidas neonicotinoides.

Insetos predadores são importantes agentes de controle de *D. citri* (GÓMEZ TORRES, 2009). Michaud (2004) destacou a presença de um complexo de coccinelídeos formados por *Harmonia axiridis*, *Olla v-nigrum*, *Cycloneda sanguinea* e *Exochomus childuni*, além de aranhas, e sirfídeos. Em Taiwan, Chien e Chu (1996) registraram a importância do coccinelídeo *Menochilus sexmaculatus* e do crisopídeo *Chrysopa bonemsis* no controle de *D. citri*. No México, Cortez-Mondaca et al. (2009) verificaram os coccinelídeos *C. sanguinea* e *O. v-nigrum* e os crisopideos *Chrysoperla comanche* e *C. rufilabris* alimentando-se do psilídeo.

Os parasitoides também desempenham um importante papel no controle natural de *D. citri*. *Tamarixia radiata* (Hymenoptera: Eulophidae), vem sendo empregado em programas de controle biológico em várias regiões produtoras do mundo, reduzindo de modo eficaz as populações do psilídeo (SKELLEY; HOY, 2004; CORTEZ-MONDACA et al., 2009). Em coletas de ninfas de *D. citri* em *M. paniculata* e *Citru*s, em regiões produtoras de São Paulo, Gómez Torres et al. (2006), registraram a ocorrência natural de *T. radiata*. Parra et al. (2007) verificaram o potencial de parasitismo deste inseto que variou entre 51,5 e 72,7%, comprovando sua eficiência como agente do controle biológico de *D. citri*.

As fêmeas de *T. radiata* alimentam-se de ninfas jovens e parasitam ninfas de 4º e 5º instar (GÓMEZ TORRES, 2009), com uma única fêmea podendo eliminar até 500 imaturos quando se soma a predação e o parasitismo (CHIEN; CHU, 1996). A cópula de *T. radiata* ocorre entre dois e três dias após a emergência dos adultos, com as fêmeas ovipositando aproximadamente 300 ovos durante a vida (HOY; NGUYEW, 2000), e um parasitismo médio avaliado em laboratório que variou entre 115 e 230 ninfas de *D. citri* (GÓMEZ TORRES, 2009).

Em estudos realizados por Gómez Torres (2009) sobre o provável número de gerações de *D. citri* e *T. radiata* em quatro regiões produtoras de laranjas de São Paulo evidenciaram que enquanto o psilídeo apresenta entre 3,95 e 13,5 gerações, o parasitóide *T. radiata* oscila

entre 19,45 e 35,23 gerações, comprovando o alto potencial desse parasitoide como agente de controle biológico. Entretanto seu emprego em pomares comerciais é inviabilizado pelo alto número de pulverizações (GÓMEZ TORRES, 2009).

2.3 Resistência a neonicotinoides

A resistência de pragas a inseticidas vem crescendo de modo exponencial e se tornando um problema em programas de controle de pragas, com casos registrados para praticamente todos os grupos químicos (GEORGHIOU, 1986; APRD, 2013). A resistência é definida como um processo pré-adaptativo e hereditário, onde se verifica a mudança na suscetibilidade de uma população de insetos praga, refletida pelo fracasso de um inseticida, utilizado de acordo com as recomendações técnicas para controlar esta população (IRAC, 2009). O fator determinante no desenvolvimento da resistência a pressão contínua de seleção por meio de pulverizações constantes de um mesmo produto químico.

Os principais fatores que afetam a evolução da resistência têm sido agrupados em operacionais, genéticos e bioecológicos (GEORGHIOU; TAYLOR, 1986), sendo os dois últimos de difícil manipulação, mas importantes para a compreensão e avaliação do desenvolvimento da resistência. Estudos sobre a evolução da resistência a inseticida geralmente associam este fenômeno a fatores bioecológicos, pois há um custo adaptativo do indivíduo (HAUBRUGE; ARNAUD, 2001), onde os organismos resistentes são menos aptos que os suscetíveis na ausência de pressão (ROUSH; McKENZIE, 1987).

Casos de resistência a neonicotinoides já foram reportados para várias espécies de pragas como *Leptinotarsa decemlineata* (Coleoptera: Chrysomelidae) (DIVELY, 2003). De acordo com esse autor com a introdução de imidacloprid em 1995, houve uma alta eficiência no controle, entretanto pelo uso sistemático, em apenas 7 anos já havia registros de populações com diferença de suscetibilidade ao inseticida, ocorrendo um risco de resistência cruzada pela introdução de novos neonicotinoides. Mota Sanchez et al. (2006) avaliaram a suscetibilidade de *L. decemlineata* a dez neonicotinoides por meio de bioensaios de aplicação tópica. Estes autores encontraram uma razão de resistência de 309 vezes a imidacloprid.

A mosca branca *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae), uma praga chave na cotonicultura indiana, tem apresentado altos índices de resistência a imidacloprid (SETHI; DILAWARI, 2008). No Brasil, Silva et al. (2009) relatam a resistência de *B. tabaci* a thiamethoxam e imidacloprid. Na Espanha, Elbert e Nauen (2000) detectaram a resistência de *B. tabaci* a imidacloprid, ocorrendo resistência cruzada com thiamethoxam. Ishaaya et al.,

(2005) verificaram que duas populações de mosca-branca expostas a thiamethoxam por 12 e 20 gerações, apresentaram razões de resistência 600 vezes maiores que a população suscetível

A resistência a imidacloprid também já foi detectada para o afídeo *Myzus persicae* (Hemiptera: Aphididae) (FOSTER; DENHOLM; THOMPSON, 2003). Nauen e Denholm, (2005) constataram razões de resistência em populações de *M. persicae* de até 20 vezes. Segundo estes autores, a resistência de afídeos pode estar associada a um aumento na capacidade de destoxificar o inseticida ou uma alteração no sitio de ação do produto. Trabalhos de Rauch e Nauen (2003) com *B. tabaci* sugeriram que seja a capacidade de detoxificação o mecanismo que confere a resistência a neonicotinoides.

O primeiro caso de resistência de *D. citri* foi reportado na Flórida para vários grupos químicos de inseticidas com modo de ação distinto, sendo que para o imidacloprid foi encontrada uma razão de resistência superior a 30 vezes (TIWARI et al., 2011a). É importante destacar que insetos de campo, infectados com *Ca*. Liberibacter são mais suscetíveis que insetos sem a bactéria (TIWARI; PELZ-STELINSKI; STELINSKI, 2011b) por expressarem menores níveis de enzimas que degradam xenobióticos como as glutationa-S-transferase e o complexo do citocromo P450 (TIWARI et al., 2011c; TIWARI et al., 2011d).

2.4 Manejo da Resistência

2.4.1 Fatores que afetam o manejo da resistência

No Brasil há preocupação com relação à evolução da resistência de *D. citri* a inseticidas (GÓMEZ TORRES, 2009). Carvalho (2008) verificou diferenças significativas na suscetibilidade de populações de *D. citri* a neonicotinodes em pomares de citros do Estado de São Paulo. Em hipótese, este diferencial na suscetibilidade, pode ser um indicativo da redução da heterogeneidade, sugerindo a eliminação de indivíduos menos tolerantes. Neste contexto a preservação dos neonicotinoides está ligada a adoção de estratégias de MRI. Uma das primeiras etapas a identificação dos principais fatores que podem afetar a evolução da resistência de um inseto.

Segundo Georghiou e Taylor (1977 a, b) estes fatores podem ser divididos em genéticos, bioecológicos e operacionais. Entretanto o conhecimento dos fatores genético e o bioecológico são de difícil mensuração, mas de grande importância para elaboração de estratégias de manejo da resistência de insetos como *D. citri*.

Fazem parte do fator genético o número de genes envolvidos na resistência, padrão de herança e o custo adaptativo destes indivíduos (ROUSH; McKENZIE, 1987). Neste contexto

deve-se considerar que *D. citri* apresenta capacidade de dispersão (BOINA et al., 2009a) e reprodução sexuada (WENNINGER; HALL, 2008), o que permite a ocorrência fluxo gênico entre diferentes populações (GUIDOLIN, 2011). Neste contexto, apesar da elevada pressão de seleção, alta capacidade de dispersão e a presença de pomares de citros abandonados podem contribuir para redução do risco de evolução da resistência no Brasil. Estes pomares podem estar atuando como áreas de refúgio de indivíduos suscetíveis que ao dispersarem para pomares com alta pressão de seleção podem acasalar com os poucos remanescentes destas áreas, reduzindo o risco de seleção. Assim, diante de um cenário com intenso uso de inseticidas e a ausência de relatos de falha de controle, pode-se induzir que a o alelo que confere a resistência seja recessivo. Casos de retardo na evolução da resistência são observados para outros hemípteros sugadores, como no caso de *Nilaparvata lugens* que devido ao hábito migratório teve o desenvolvimento da resistência mitigado (ZHUANG, et al., 2004).

Entre os fatores bioecológicos que afetam a resistência de insetos a inseticidas, destaca-se o seu modo e a taxa de reprodução, sua capacidade de dispersão e o seu hábito alimentar (GEORGHIOU; TAYLOR, 1986). O modo e a taxa de reprodução são de grande importância para o desenvolvimento da resistência, pois ambos estão ligados tanto na transmissão de alelos que conferem esta característica para progênie, como na velocidade da evolução deste fenômeno, pois quanto maior o número de gerações do inseto praga que ocorrem durante o ciclo da cultura, mais rápida será a evolução da resistência (GEORGHIOU; TAYLOR, 1986). Neste contexto o estado de São Paulo apresenta condições favoráveis para o desenvolvimento do psilídeo (HAMADA et al., 2005), com capacidade de ocorrência de até 13 gerações anuais do psilídeo (GÓMEZ TORRES, 2009).

A capacidade de dispersão de um organismo também contribui de modo positivo na evolução da resistência (MIRANOWSKI; CARLSON, 1986), pois indivíduos pouco móveis sofrem uma maior exposição a inseticidas, o que acarreta em uma maior pressão de seleção de indivíduos pré-adaptados. Para *D. citri*, a fase ninfal é pouco móvel e está sujeita a um grande número de pulverizações de inseticidas. Já adultos do psilídeo, apresentam capacidade de dispersão, o que pode favorecer a evolução da resistência devido ao fluxo gênico.

O hábito alimentar, também possui grande importância na evolução da resistência, pois indivíduos que apresentam como característica alimentar a monofagia são impossibilitados de alimentar-se em outras plantas localizadas em áreas sem pressão de inseticidas. Este fato atribui a espécies monófagas uma maior tendência a desenvolver a resistência de modo mais rápido que espécies polífagas (HANUR, 2008). No Brasil, *D. citri* tem sua alimentação restrita a plantas cítricas e a murta. Entretanto, por ser hospedeira do

psilídeo e da bactéria é preconizada a erradicação da murta (BELASQUE Jr. et al., 2009b, 2010) tornando o psilídeo um inseto funcionalmente monófago, alimentando-se exclusivamente nos pomares e estando sujeito a intensa pressão de seleção.

2.4.2 Estratégias para o manejo da resistência de *D. citri*

A premissa de um programa de MRI é a redução da pressão de seleção. Entre as principais estratégias para manejo da resistência para inseticidas estão o manejo por moderação, saturação e ataque múltiplo (GEORGHIOU, 1986a). Para *D. citri*, a estratégia de MRI adotada é o manejo por ataque múltiplo (BOINA et al., 2010). Nesta estratégia os inseticidas são aplicados em rotação ou em mistura.

O conceito para o emprego da rotação de inseticidas com modos de ação distintos está no fato de que se a frequencia de indivíduos resistentes a um pesticida estiver alta, esta pode ser reduzida com a aplicação de um pesticida alternativo com modo de ação distinto, pois se assume que os indivíduos resistentes ao primeiro pesticida são suscetíveis ao segundo, ou seja, para o uso de rotação se assume que há redução no valor adaptativo associado à resistência e que não existe resistência cruzada entre os pesticidas empregados em rotação (GEORGHIOU, 1983a; TABASHNIK, 1989). A dispersão de insetos suscetíveis de zonas de refúgio também auxilia na redução da frequencia de artrópodes resistentes, contribuindo para o êxito da rotação (GEORGHIOU, 1983b).

O conceito para o emprego da mistura está baseado no fato de que se a resistência para um pesticida é independente e rara, no caso de dois ou mais pesticidas é extremamente rara (GEORGHIOU, 1983b; CURTIS, 1985). O principio da mistura diz que artrópodes resistentes a um produto podem ser controlados por outro com modo de ação distinto.

Em um programa de MRI de *D. citri* a mistura de inseticidas pode preservar a eficiência de neonicotinoides. O emprego da mistura no manejo da resistência é uma estratégia viável (MARTIN et al., 2003) e sob certas condições, pode retardar o desenvolvimento da resistência de modo mais efetivo que a rotação de inseticidas (ROUSH, 1993). Entretanto para seu sucesso, devem ser observados fatores como a baixa frequência de resistência, ausência de resistência cruzada, presença de áreas de refúgio, além da compatibilidade e persistência biológica semelhante entre os inseticidas (RUSH, 1989; TABASHNIK, 1989). Neste contexto estudos sobre persistência e compatibilidade de inseticidas em mistura são de grande importância para viabilizar esta estratégia em um programa de MRI de *D. citri*.

A persistência de inseticidas está ligada à duração de sua atividade biológica. Neste contexto, em um programa de MRI empregando a mistura, a persistência semelhante dos inseticidas em mistura está ligada ao fato de que se um produto perder a atividade biológica mais rápida irá favorecer a seleção de insetos resistentes ao produto com a maior persistência (DENHOLM; ROWLAND, 1992).

Na avaliação da compatibilidade de inseticidas podem ocorrer interações sinérgicas, aditivas ou antagônicas. No sinergismo há a potencialização dos inseticidas em mistura (ALL et al., 1997; GUNNING; MOORES; DEVONSHIRE, 1999; ARCHER; BYNUM; PLAPP, 1994; CORBEL et al., 2002, 2003). No antagonismo um produto age de modo negativo sobre o outro, com uma baixa mortalidade da mistura quando comparada com os produtos isolados (JONES; ROBERTSON; WEINZIERL. 2012). Já no efeito aditivo a toxicidade dos produtos é independente, a toxicidade da mistura é igual à soma da toxicidade dos produtos individualmente (ALVES ; OMOTO; FRANCO, 2000).

Referências

ABO-ELGHAR, G.E.; EL-SEIKH, A.E.; EL-SAYED, F.M.; EL-MAGHABY, H.M. EL-ZUN, H.M. Persistence and residual activity of an organophosphate, pirymipos-methyl, and three IGRs, hexafumuron, teflubenzuron and pyriproxyfen, against the cowpea weevil, *Callosobrucus maculatus* (Coleoptera: Bruchidae). **Pest Management Science**, Sussex, v. 60, p. 95 – 102, 2004.

ALL, J.N.; ALI, M.; HORNYAK, E.P.; WEAVER, J.B. Joint action of two pyrethroids with methyl-parathon, methomyl, and chlorpyrifos on *Heliothis zea* and *H. virescens* in the laboratory and in cotton and sweetcorn. **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v. 70, n. 6 p. 813-817, 1997.

ALVES, E.B.; OMOTO, C.; FRANCO, C.R. Mistura de dicofol com fempiroximato no manejo da resistência de *Brevipalpuls phoenicis* (Geijskes (Acari: Tenuipalpidae) ao dicofol. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Londrina, v. 29, n. 4, p. 789-797, 2000.

APRD – **Arthropod Pesticide Resistance Database**. Disponível em: < http://www.pesticideresistance.com/index.php> Acesso em: 19 fev. 2012.

ARCHER, T.L.; BYNUM, E.D.; PLAPP, F.W. Chlorpyrifos resistance in greenbugs (Homoptera: Aphididade): Cross-Resistance and synergism. **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v. 87, n. 6, p. 1437-1440, 1994.

AUBERT, B.; XIA, Y.H. Monitoring flight activity of *Diaphorina citri* on citrus band *Murraya* canopies. In: Aubert, B., Tontyaporn, S., Buangsuwon, D. (Ed..). INTERNATIONAL ASIA PACIFIC CONFERENCE ON CITRUS REHABILITATION**,** 4. 1990. Chiang Mai, Thailand.**Proceedings…** Rome:FAO UNDP, , 1990. p. 181–187.

BARBOSA, F.R.; FERREIRA, R.G.; KIILL, L.H.P.; SOUZA, E.A.; MOREIRA, W.A.; ALENCAR, J.A.; HAJI, F.N.P. Nível de dano, plantas invasoras hospedeiras, inimigos naturais e controle do psilídeo da goiabeira (*Triozoida* sp.) no submédio São Francisco. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Cruz das Almas, v. 25, n. 3, p. 425-428, 2003.

BEDFORD, I.D.; KELLY, A.; BANKS, G.K; FUOG, D; MARKHAN, P.G. the effect of pymetrozine, a feeding inhibitor of Homoptera, in preventing transmissionof cauli flower mosaic virus by the aphid species *Myzus persicae* (Sulzer). **Annals of Applied Biology**, Warwick , v. 132, p. 453 – 462, 1998.

BELASQUE JR. J.; YAMAMOTO, P.T.; MIRANDA, M.P.; BASSANEZI, R.B.; AYRES, A.J.; BOVÉ, J.M. Controle do huangongbing no estado de São Paulo, Brasil. **Citrus Research & Technology**, Cordeirópolis v. 31, n. 1, p. 53-64, 2010.BELASQUE Jr, J.; BERGAMIN FILHO, A.; BASSANEZI, R.B.; BARBOSA, R.B.; BARBOS, J.C.; FERNANDES, N.G.; YAMAMOTO, P.T.; LOPES, S.A.; MACHADO, M. A.; LEITE Jr, P.R.; AYRES, A.J.; MASSARI, C.A. Base científica para a erradicação de plantas sintomáticas e assintomáticas de Huanglongbing (HLB, Greening) visando o controle efetivo da doença. **Tropical Plant Pathology**, Brasilia, v. 34, n. 3, p. 137 - 145, 2009a.

BELASQUE JR. J.; BERGAMIN FILHO, A.; BASSANEZI, R.B.; BARBOSA, J.C.; FERNANDES, N.G.; YAMAMOTO, P.T.; LOPES, S.A.; MACHADO, M.A.; LEITE JR, R. P. AYERES, A.J.; MASSARI, C.A. **Greening**: A instrução Normativa N° 53 e a necessidade de um controle efetivo no Brasil. Disponível em: <http://www.fundecitrus.com.br/ImageBank/FCKEditor/file/pdf/artigo_controle_greening.pdf> Acesso em: 08 jul. 2009b.

BOINA, D.R.; MEYER, W.L.; ONAGBOLA, E.O.; STELINSKI, L.L. Quantifying dispersal of *Diaphorina citri* (Hemipera: Psyllidae) by immunomarking and potential impact of managed groves on commercial citrus management. **Environmental Entomology**, College Park, v. 38, n. 4, p. 1250 - 1258, 2009a

BOINA, D.R.; ONAGBOLA, E.O.; SALYANI, M.; STELINSKI, L.L. Antifeedant and sublethal effects of imidacloprid on asian cirus psyllid, *Diaphorina citri*. **Pest Management Science**, Sussex, v. 6, p. 870 - 877, 2009b

BOINA, D.R.; ONAGBOLA, E.O.; SLYANI, M.; STELINSKI, L.L. Inflence of posttreatment temperature on the toxicity of insecticides against *Diaphorina citri* (Hemiptera: Psyllidae). **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v. 102, n. 2, p. 685 - 691, 2009c

BOINA, D.R.; ROGERS, M.E.; WANG, N.; STELINSKI, L.L. Effect of pyriproxyfen, a juvenile hormone mimic, on egg hatch, nymph development, adult emergence and reproduction

of the Asian citrus psyllid, *Diaphorina citri* Kuwayama. **Pest Management Science**, Sussex, v. 66, p. 349 - 357, 2010

BOINA, D.R.; YOUN, Y.; FOIMONOVA, S.; STELINSKI, L.L. Effects of pymetrozine, an antifeedant of Hemipera, on asian citrus psyllid, *Diaphorina citri*, feeding behavior, survival and transmission of *Candidatus* Liberibacter asiaticus. **Pest Management Science**, Sussex, v. 67, p. 146 - 155, 2011

BONANI, J. **Caracterização do aparelho bucal e comportamento alimentar de *Diaphorina citri* (Hemiptera: Psyllidae) em Citrus sinensis (L.) Osbeck**. 2009. 83p. Tese (Doutorado em Entomologia) – Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2009.

BONANI, J.P.; FERERES, A.; GARZO, E.; MIRANDA, M.P.; APPEZZATO-DA-GLORIA, B.; LOPES, J.R.S. Characterization of electrical penetration graphs of the asian citrus psyllid, *Diaphorina citri*, in seed orange seedlings. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, Dordrecht, v. 134, p. 35-49, 2010.

BOVÉ, J.M. Huanglongbing: A destructive, newly-emerging, century-old disease of citrus. **Journal of Plant Pathology**, Pisa, v. 88, n. 1, p. 7 – 37, 2006.

CAPOOR, S.P.; RAO, D.G.; VISWANATH, S.M. Greening disease of citrus in the Deccan Trap Country and its relationship with the vector, *Diaphorina citri* Kuwayama. In: WEATHERS, L. G.; COHEN, M. In: CONFERENCE OF THE INTERNATIONAL ORGANIZATION OF CITRUS VIROLOGISTS, 1974. Richmond. **Proceedings...** Richmond: University of California, 1974. p. 43 - 49.

CARVALHO, S.P.L. **Toxicidade de inseticidas neonicotinóides sobre o psilídeo *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemitera: Psyllidae) e o parasitóide *Tamarixia radiata* (Waterson) (Hymenoptera: Eulophidae)**. 2008. 59p. Tese (Doutorado em Entomologia) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2008.

CEN, Y.; ZHANG, L.; XIA, Y.; GUO, J.; DENG, X.; ZHOU, W.; SEQUEIRA, R.; GAO, J.; WANG, Z.; YUE, J.; GAO, Y. Detection of '*Candidatus* Liberibacter Asiáticus' in *Cacopsylla* (*Psylla*) *citrisuga* (Hemiptera: Psyllidae). **Florida Entomologist**, Gainesville, v. 95, n. 2, p. 304- 311, 2012.

CHIEN, C.C.; CHU, Y.I. Biological control of citrus psyllid, *Diaphorina citri* in Taiwan. Biological Pest Contol in Systems of Integrated Pest management. Reprinted from Food and **Fertilizer Technology Center Book Series**, Taipei, n. 47, p. 93 – 104, 1996.

COLETTA FILHO, H.D.; TARGON, M.L.P.N.; TAKITA, M.A.; DE NEGRI, J.D.; POMPEU JR., J.; do AMARAL, A.M.; MULLER, G.W.; MACHADO, M.A. First report of the causal agent of huanglongbing ("*Candidatus* Liberibacter asiaticus") in Brazil. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 88, p.1382, 2004.

CORBEL, V.; DARRIET, F.; CHANDRE, F.L.; HOUGARD, J. M. Insecticide mixtures for mosquito net impregnation against malaria vectors. **Parasite**, Moulineaux, v. 9, p. 255-259, 2002.

CORBEL, V.; RAYMOND, M.; CHANDRE, F.; DARRIET, F. ;HOUGARD, J M. Efficacy of insecticide mixtures against larvae of *Culex quinquefasciatus* (Say) (Diptera: Culicidae) resistant to pyrethroids and carbamatos. **Pest Management Science,** Sussex, v. 60, p. 375-380, 2003.

CORTEZ-MONDACA, E.; LUGO-ÂNGULO, N.E.; PÉREZ-MARQUEZ; APODACA-SÁNCHEZ, M.A. First report of *Diaphorina citri* Kuwayama natural enemies and parasitism in Sinaloa, Mexico. **Southwestern Entomology**, Mexico, v. 35, n. 1, p. 113-116, 2009.

COSTA LIMA, A. **Insetos do Brasil**. Rio de Janeiro: Escola Nacional de Agronomia, 1943. 141p.

CRAFTON-CARDWELL, E.E.; GODFREY, K.E.; ROGERS, M.E.; CHILDERS, C.C.; STANSLY, P.A**. Asian Citrus Psyllid**. University of California, Publication 8205, 2006. Disponível em: <http://ucanr.org/freepubs/docs/8205.pdf.> Acesso em: 05 jul. 2012

CURTIS, C.F. Theorical models of the use of insecticide mixtures for the management of resistance. **Bulletin of the Entomological Research**, Cambridge, v. 75, p. 259 - 265, 1985.

DHADIALLA, T.S.; CARLSON, G.R.; LE, D.P. New insecticides with ecdysteroidal and juvenile hormone activity. **Annual Review of Entomology**, Santford, v. 43, p. 545 - 569, 1998.

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: 12 jul. 2012.

DENHOLM, I.; ROWLAND, M.W. Tatics for managing pesticide resistance in arthropods: Theory and practice. **Annual Review Entomology**, Stantford, v. 37, p. 91-112, 1992.

ELBERT, A.; NAUEN, R. Resistance of *Bemisia tabaci* (Homopera: Aleyrodidae) to insecticides' in southern Spain with special reference to neonicotinids. **Pest Management Science**, Sussex, v. 56, p. 60 – 64, 2000

FARMANULLAH, H.B.; RAKHMIN, G. Evaluation of six different groups of insecticides for the control of citrus psylla *Diaphorina citri* (Hemiptera: Psyllidae). Songklanakarin **Journal Science of Technology**, Kumasi, v. 27, n. 1, p. 17 – 23, 2005.

FOSTER, S.P.; DENHOLM, I.; THOMPSON, R. Variation in response to neonicotinoid insectidides in peach-potato aphids, *Myzus persicae* (Hemiptera: Aphididae). **Pest Management Science**, Sussex, v.59, 166-173, 2003.

FUNDECITRUS. GRENNING. **Manual técnico, 12 p. 2008**. Disponível em: <http://www.fundecitrus.com.br/Pagina/Manuais-tecnicos,21>. Acesso em: 04 jul. 2012.

GALLO, D.; NAKANO, O.; SIVEIRA NETO, S.; CARVALHO, R.P L.; BAPTISTA, G.C.; BERTI FILHO, E.; PARRA, J.R.P.; ZUCCHI, R.A.; ALVES, S.B.; VENDRAMIM, J.D.; MARCHINI, L.C.; LOPES, J.R.S.; OMOTO, C. **Entomologia agrícola**. Piracicaba: FEALQ, 2002. 920p.2002.

GATINEAU, F.; BONNOT, F.; YEN, T.T.H.; TUAN, H.D.; TUYEN, N.D.; TRUC, N.T.N. Effects of imidacloprid and fenobucarb on the dynamics of the psyllid *Diaphorina citri* Kuwayama on the incidence of *Candidatus* Liberibacter asiaticus. **Fruits**, Paris, vl. 65, n. 4, p. 209 – 220, 2010.

GEORGHIOU, G.P.; TAYLOR, C.E. Genetic and biological influences in the evolution of insecticide resistance. **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v. 70, n. 3, p. 319 - 323, 1977a

GEORGHIOU, G P.; TAYLOR, C E. Operational influences n the evolution of insecticide resistance. **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v. 70, n. 5, p. 653 - 658, 1977b

GEORGHIOU, G.P. The magnitude of the resistance problem. In: **Pesticide Resistance:** Strategies and Tactics for Management. Committee on Strategies for the Management of Pesticide Resistant Pest Populations Board on Agriculture National Research Council. Washington, D.C.:National Academy Press, 1983a. p. 14 – 44.

GEORGHIOU, G.P.; TAYLOR, C.E. Factors influencing the evolution of resistance. In: **Pesticide Resistance:** Strategies and Tactics for Management. Committee on Strategies for the Management of Pesticide Resistant Pest Populations Board on Agriculture National Research Council. Washington, D.C.:National Academy Press, 1983b. p. 157-169.

GODFRAY, K.; ROGERS, M.; STONE-SMITH, B.; KEREMANE, J.; BARTELS, D.; SETAMOU, M.; WRIGHT, G.; GRAÇA, J.; GRAFTON-CARDWELL, B.; HUMMEL, N.; CHAIR, K.C. **Area Wide Control of Asian Citrus Psyllid (*Diaphorina citri*)** Technical Working Group Report, 2009. Disponível em: <http://www.aphis.usda.gov/plant_health/plant_pest_info/citrus_greening/downloads/pdf_files/twg/Psyllid%20Area%20Wide%20Control2.09.09.pdf>Acesso em: 11 jul. 2012.

GÓMEZ TORRES, M.L. **Estudos bioecológicos de *Tamarixia radiata* (Waterston, 1922) (Hymenoptera: Eulophidae) para o controle de *Diaphorina citri* Kuwayama, 1907 (Hemiptera: Psyllidae).** 2009. 83p. Tese (Doutorado em Entomologia) – Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2009.

GÓMEZ TORRES, M.L.; NAVA D.E. ; GRAVENA S. N.; COSTA V.A.; PARRA, J.R.P. Registro de *Tamarixia radiata* (waterston) (Hymenoptera: Eulophidae) em *Diaphorina citri* kuwayama (Hemiptera: Psyllidae) em São Paulo, Brasil. **Revista de Agricultura**, Piracicaba, v. 81, n. 1, p. 112-117, 2006.

GOTTWALD, T.R.; AUBERT, B.; LONG, H.K. Spatial pattern analysis of citrus green-ing in Shantou, China. In: R.F.L.A.P.W.T. R.H. BRIANSKY (Ed.)**.** INTERNATIONAL ORGANISATION OF CITRUS VIROLOGISTS CONFERENCE, 11., 1991. Riverside. **Proceedings…** Riverside,California, 1991. p. 421– 427.

GRAFTON-CARDWELL, E.E.; GODFREY, K.E.; ROGERS, M.E.; CHILDERS, C.C.; STANSLY, P.A. **Asian Citrus Psyllid**. University of California, Publication 8205, 2006. Disponível em: <http://ucanr.org/freepubs/docs/8205.pdf> Disponível em: 05 jul. 2009.

GRAVENA, S. **Manejo do Psilídeo e do Greening na visão da Gravena**. Disponível em: <http://www.gravena.com.br/artigo_central.pdf> Disponível em: 05 jul. 2009.

GREENHALGH, R.; BARON, R.L.; DESMORAS, J.; ENGST, R.; ESSER, H.O.; KLEIN, W. Definition of persistence in pesticide chemistry. **Pure e Applied Chemistry**, Oxford, v. 52, p. 2563-2566, 1980.

GUIDOLIN, A.S. **Diversidade genética de *Diaphorina citri* Kuwayama, 1908 (Hemiptera: Psyllidae) e caracterização molecular das linhagens de Wolbachia associadas**. 2011. 127p. Dissertação (Mestrado em Entomologia) -Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2011.

GUNNING, R.V.; MOORES, G.D.; DEVONSHIRE, A.L. Esterase Inhibitors Synergise the Toxicity of Pyrethroids in Australian *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae). **Pesticide Biochemistry and Physiology**, San Diego, v. 63, p. 50–62, 1999.

HALBERT, S.E.;Ç MANJUNATH, K.L. Asian citrus psyllids (Sternorrhyncha: Psyllidae) and greening disease of citrus: A literature review and assessment of risk in Florida. **Florida Entomologist**, Gainesville, v. 87, p. 330 – 352, 2004.

HALBERT, S.E.; NUÑEZ, C.A. Distribution of the asian citrus psyllid, *Diaphorina citri* Kuwayama (Rhynchota: Psyllidae) in the Caribbean basin. **Florida Entomologist**, Gainesville, v. 83, p. 401 – 402, 2004.

HALL, D.G. WENNINGER, E.J.; HENTZ, M.G. Temperature studies with the asian citrus psyllid, *Diaphorina citri*: Cold hardiness and temperature thresholds for oviposition. **Journal of Insect Science**, Madison, v. 2, p. 1 -15, 2010

HAMADA, E.; MORANDI, M.A.B.; TAMBASCO, F.J.; PEREIRA, D.A.; EVANGELISTA, S. Estimativa de áreas favoráveis à ocorrência de *Diaphorina citri* (vetor do greening asiático) no Estado de São Paulo. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE AGROMETEOROLOGIA, 14., 2005, Campinas **Resumos**...Campinas, 2005. p. 13.

HANUR, V. *Bt* resistance and monophagous pests: handling with prudence. **Current Science**, Bangalore, v. 95, n. 4, p. 449 – 451, 2008

HAUBRUGE, E.; ARNAUD, A. Fitness consequences malathion-specific resistance in red flour beetle (Coleoptera: Tenebrionidae) and selection for resistance in the absence of malathion. **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v. 94, p. 552 – 557, 2001.

HOY, M.A.; NGUYEN, R. Classical biological control of Asian citrus psylla. **Citrus Industry**, Tampa, v. 81, p. 48 – 50, 2000.

HODKINSON, I.D. The biology of the psylloidea (Homoptera): a review. **Buletin of Entomological Research**, Farnaha Royal, v. 64, p. 325-339, 1974.

HUNG, T.H.; HUNG, S.C.; CHEN, C.N; HSU, M.H.; SU, H. J.Detection by PCR of *Candidatus* Liberibacter asiaticus, the bacterium causing citrus huanglongbing in vector psyllids: application to the study of vector-pathogen relationships. **Plant Pathology**, Oxford, v. 53, p. 96 – 102, 2004.

KHAN, I.; ZAHID, M.; KHAN, G.Z. Toxicity of botanic and synthetic pesticide residues to citrus psyllid *Diaphorina citri* Kuwayama and Chrysoperla carnea Stephens). **Pakistan Journal Zoology**, Lahore, v. 44, n. 1, p. 197 -201, 2012

ICHINOSE, K.; BANG, D.U.; TUAN, D.H.; DIE, L.Q. Effective use of neonicotinoids for protective of citrus seedlings from invasion by *Diaphorina citri* (Hemiptera:Psyllidae). **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v. 103, n. 1, p. 127-135, 2010.

INOUE, H.; OHNICH, J.; ITO, T.; TOMIMURA, K.; MIYATA, S.; IWANAMI, T.; ASHIHARA, W. Enhanced proliferation and efficient transmission of *Candidatus* liberibacter asiaticus by adult *Diaphorina citri* after acquisition feeding in the nymphal stage. **Annals of Applied Biology**, Warwick, v. 155, p. 29-36, 2009.

ISHAAYA, L.; KONTSEDALOV, S.; HOROWITZ, A.R. Biorational Insecticides: Mechanism and Cross-Resistance. **Archives of Insect Biochemistry and Physiology**, New York, v. 58, p. 192 – 199, 2005.

IRAC – **Insecticide Resistance Action Committee**. Disponível em: <http://www.irac-online.org/Resistance/Overview.asp> Acesso em: 08 jul. 2009.

JOAQUIM, D.; PAVANI, A.T.; DUCATTI, J.V.; FUKUDA, L.A.; LIMA, R.S.; SALVA, R. A.; RODRUGUES, S.G. Agroquímicos para produção integrada de citros. **Revista Ciência e Prática**, Bebedouro, n. 22, p. 26, 2006.

JONES, M.M.; ROBERTSON, J.L.; WEINZIERL, R.A. Toxicity of Thiamethoxam and Mixtures of Chlorantraniliprole Plus Acetamiprid, Esfenvalerate, or Thiamethoxam to Neonates of Oriental Fruit Moth (Lepidoptera: Tortricidae). **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v. 105, n. 4, p. 1426-1431, 2012.

LIU, H.Y.; TSAI, J.H. Effects of temperature on biology and life table parameters of the Asian citrus Psyllid, *Diaphorina citri* Kuwayama (Homoptera: Psyllidae). **Annals of Applied Biology**, Warwick, v. 137, p. 201 – 206, 2000.

LIU, T.X. Evaluating two neonicotinoid insectides against silverleaf whitefly (Homoptera: Aleyrodidae) on spring melons in south Texas. **Subtropical Plant Science**, Texas, v. 54, p. 45 – 48, 2002.

LIU, T.X. Effects of a juvenile hormone analog, pyriproxyfen, on *Thrips tabaci* (Thysanoptera: Thripidae). **Pest Management Science**, Sussex, v. 59, p. 904 – 912, 2003.

MANN, RS.; PELZ-STELINSKI, K.; HERMANN, S.L.; TIWARI, S.; STELINSKI, L.L. Sexual transmission of a plant pathogenic bacterium, *Candidatus* Liberibacer asiaticus between Conspecific Insect Vectors during mating. **Plos One**, Oxford, v. 6, n. 12, p. 291-297, 2011

MANN, R.S.; TIWARI, S.; SMOOT, J. M.; ROUSEFF, R.L.; STELINSKI, L.L. Repelency and toxicty of plant-based essential oils and their constituents against *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae). **Journal of Applied Entomology**, Berlin, v. 136, p. 87 - 96, 2012.

MARTIN, T.; OCHOU, O.G.; VAISSAYRE, M.; FOURNIER, D. Organophosphorus Insecticides Synergize Pyrethroids in the Resistant Strain of Cotton Bollworm, *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) from West Africa. **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v. 96, n. 4, p. 468-474, 2003

MASCHIO, F. **Ações adotadas pelo citricultor para o manejo do Huanglongbing (HLB, Greening) no parque citrícola paulista**. 2011. 30p. Dissertação (Mestrado profissionalizante) - Fundo de Defesa da Citricultura. Araraquara, 2011.

MEAD, F.W. **Asian citrus psyllid, *Diaphorina citri* Kuwayama (Insecta: Hemiptera: Psyllidae)**. Gainesville: IFAS/ University of Florida. 2007. 6p. Disponível em:< http://edis.ifas.ufl.edu/pdffiles/IN/IN16000.pdf> Acesso em: 08 jul. 2012

MEOLA, S.M.; MAYER, R.T. Inhibition of cellular proliferation of imaginal epidermal cells by diflobenzuron in pupae of the stable fly. **Science,** cidade, v. 207, p. 985 - 569, 1988

MICELLI, M.L.C. **Efeito do óleo mineral sobre a preferência e residual de inseticidas no controle de *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae) em citros**. 2011. 29p. Dissertação (Mestrado profissionalizante) - Fundo de Defesa da Citricultura. Araraquara, 2011.

MICHAUD, J.P. Natural mortality of asian citrus psyllid (Homoptera: Psyllidae) in central Florida. **Biological Control**, Orlando, v. 29, p. 260-269, 2004.

MIRANOWSKI, J.A.; CARLSON, G.A. Economic Issues In Public and Private Aproaches to Preserving Pest Susceptibility. In: **Pesticide Resistance:** Strategies and Tactics for Management. Committee on Strategies for the Management of Pesticide Resistant Pest Populations Board on Agriculture National Research Council. Washington, D.C. :National Academy Press, 1986. p. 157-169.

MOTA-SANCHEEZ, D.; HOLLINGWORTH, R.M.; GRAFIUS, E.J.; MOYER, D.D. Resistance and cross-resistance to neonicotinoides and spinosad in the Colorado potato beetle, *Leptinotarsa decemlineata* (Say) (Coleoptera:Chrysomelidae). **Pest Management Science**, Sussex, v. 62, p. 30 – 37, 2006.

NAKANO, O.; LEITE, C.A.; FLORIM, A.C.P. Controle químico do psilídeo dos citros, *Diaphorina citri* (Hemiptera: Psylidae**). Revista Laranja**, Cordeirópolis, v. 20, n. 2, p. 319 – 328, 1999.

NAUEN, R.; EBBINGHAUS-KINSCHER, U.; ELBERT, A.; JESCHKE, P.; TIETJEN, K. Acetylcholine Receptors as sites for developing neonicotinoid insecticides. In: ISHAAYA, I. **Biochemical sites of insecticide Action and resistance**. Printed: Germany2000. p. 77-105.

NAUEN, R.; DENHOLM, I. Resistance of insect pests to neonicotinoid insecticides: current status and future prospects. **Archives of Insect Biochemistry and Physiology**, New York, v. 58, p. 200 – 215, 2005.

NAVA, D.E.; GÓMEZ TORRES, M.L.; RODRIGUES, M.DA.; BENTO, J.M.S.; PARRA, J.R.P. Biology of *Diaphorina citri* (Hem., Psyllidae) on different hosts and at different temperatures. **Journal of Applied Entomology**, Berlin, v. 131, p. 709 – 715, 2007.

NAVA, E.D.; GOME-TORRES, M.L.; RODRIGUES, M.D.; BENTO, J.M.S.; HADDAD, M.L.; PARRA, J.R. The effects of host, geographic origin, and gender on the thermal requirements of *Diaphorina citri* (Hemiptera: Psyllidae). **Environmental Entomology**, College Park, v. 39, n. 2, p. 678 - 684, 2010.

NEVES, P.M.O.J.; HIROSE, E.; TCHUJO, P.T.; MOINO, A. Compatibility of entomopathogenic fungi with neonicotinoid insecticides. **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 30, n. 2, p. 263 – 268, 2001.

NEVES, M. F.; TROMBIN, V.G.; MILAN, P.; LOPES, F.F.; CRESSONI, F.; KALAKI, R. **O retrato da citricultura brasileira**. Editora Ribeirão Preto, 2010. p. 30-79, 136p.

NEVES, E.M.; TROMBETA, N.C. **Defensivos agrícolas na citricultura: Demanda e perspectiva. Revista Eletrônica de citricultura**, n. 37, p. 32 – 39, 2009. Disponível em: <http://www.espacocitricola.eng.br/> Acesso em: 31 jul. 2012

OMOTO, C. Modo de Ação de Inseticidas e Resistência de Insetos a Inseticidas. In: GUEDES, J. C.; COSTA, I. D.; CASTIGLIONI, E. **Bases e técnicas do manejo de insetos**. UFSM/CCR/DEF, 2000. p. 240.

ONAGBOLA, E.O.; ROUSEFF, R.L.; SMOOT, J.M.; STELINSKI, L.L. Guava leaf volaties and dimethyl disulphide inhibit response of *Diaphorina citri* Kuwayama to host plant volatiles. **Journal of Applied Entomology**, Berlin, v. 135, p. 404 -414, 2011

PADULLA, L.F.L.; ALVES, S.B. Suscetibilidade de ninfas de *Diaphorina citri* a fungos entomopatogênicos. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 76, n. 2, p. 297-302, 2009.

PAIVA, P.E.B. **Distribuição espacial e temporal, inimigos natuaris e tabela de vida ecológica de *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemipera: Psyllidae) em citros em São Paulo.** 2009. 65p. Tese (Doutorado em Entomologia) – Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2009.

PARRA, J.R.; GÓMEZ TORRES, M.L.; PAIVA, P.E.B. Eficiência do parasitóide *Tamarixia radiata* para o controle biológico do psilídeo *Diaphorina citri* em São Paulo. **Citricultura Atual**, Cordeirópolis, v. 61, p. 123 – 128, 2007.

PATT, J.M.; SÉTAMOU, M. Response of the Asian Citrus Psyllid to volatiles emitted by the flushing shoots of its Rutaceous host plants. **Environmental Entomology**, College Park, v. 39, n. 2, p. 618-624, 2010.

PELZ-STELINSKI, K.S.; BRALANSKI, R.H.; EBERT, T.A.; ROGERS, M.A. Transmission parameters for *Candidatus* Liberibacter asiaticus by asian citrus psyllid (Hemiptera: Psyllidae). **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v. 103, n. 5, p. 1531-1541, 2010.

POERWANTO, M.E.; TRISYONO, Y.A.; ANDREW, G. BEATTIE, C.; SUBANDIYAH, S.; MARTONO, E.; HOLFORD, P. Olfactory responses of the asiatic citrus psyllid (*Diaphorina citri*) to mineral oil-treaated mandarin leaves. **American Journal of Agricultural and Biological Sciences**, New York, v. 7, n. 1, p . 50 -55, 2012.

POLSTON, J.E.; SHERWOOD, T. Pymetrozine interferes with transmission of Tomato yellow leaf curl virus by the whitefly *Bemisia tabaci*. **Phytoparasitica**, Bet Dagan, v. 31, p. 490–498, 2003.

PRABHAKER, N.; TOSCANO, N.C. Toxicity of the insect growth regulators, buprofezin and pyriproxyfen, to the glassy-winged sharpshooter, *Homalodisca coagulata* say (Homoptera: Cicadellidae). **Crop Protection**, Guildford, v. 26, p. 495-502, 2007

QURESHI, M.; MIDMORE, D.J.; SYEDA, S.S.; REID, D.J. Pyriproxyfen controls silverleaf whitefly, *Bemisia tabaci* (Gennadius), biotype B (Homoptera: Aleyrodidae) (SLW) better than buprofezin in bitter melons *Momordica charantia* L. (Cucurbitaceae). **Australian Journal of Entomology**, Tasmania, v. 48, p. 60 – 64, 2009.

RAE, D.J.; LIANG, W.G.; WATSON, D.M.; BETTIE, G.A.C.; HUANG, M.D. Evaluation of petroleum spray oils for control of the asian citrus psylla, *Diaphorina citri* (Kuwayama) (Hemiptera: Psyllidae) in China. **International Journal of Pest Management**, London, v. 43, n. 1, p. 71 -75, 1997.

RAUCH, N.; NAUEN, R. Biochemical markers linked to neonicotinoid cross-resistance in *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae). **Archives of Insect Biochemistry and Physiology**, New York, v. 54, p. 165-176, 2003.

ROBERTO, S.R.; YAMAMOTO, P.T. Seasonal fluctuation and chemical control f sharpshooters in citrus, **Laranja**, Cordeirópolis, v. 19, n.2, p. 269 – 284, 1998.

ROGERS, M. E.; STANSLY, P. A. Psyllid management update. **Citrus Industry**, Ocala, v. 88, n. 4, p. 19 -21, 2007.

ROGERS, M. E.; STANSLY, P. A.; STLINSKI, L. L. **Florida citrus pest management Guide: Asian citrus psyllid and citrus leafminer, 2009**. Disponível em: <http://edis.ifas.ufl.edu/pdffiles/IN/IN68600.pdf> Acesso em: 11 jul. 2009

ROISTACHER, C.N. **Techniques for biological detection of specific citrus graft transmissible diseases, Greening**. RomeFAO, 1991. p. 35.

ROUSH, R.T. Designing resistance management programs: How can you choose? **Pesticide Science**, Oxford, v. 26, n. 4, p. 423-441, 1989.

ROUSH, R.T. Occurrence, genetics and management of insecticide resistance. **Parasitology today**, Amsterdan, v. 9, n. 5, p. 174-179, 1993.

ROUSH, R.T.; McKENZIE, J.A. Ecological genetics of insecticide and acaricide resistance. **Annual Review Entomology**, Stantford, v. 32, p. 361 – 380, 1987.

SAKAMAKI, Y. Possible migration of the Asian citrus psyllid,*Diaphorina citri* Kuwayama (Homoptera: Psyllidae) between and within islands. **Occasional Papers of the Kagoshima** , Kagoshima, v. 42, p. 121–125, 2005

SÉTAMOU, M.; RODRIGUEZ, D.; SADANA, R.; SCHWARZLOSE, G.; PALRANG, D. NELSON, D. Efficacy and uptake of soil-applied imidacloprid n the control of asian citrus psyllid and a citrus leafminer, two foliar-feeding citrus pest. **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v. 103, n. 5, p. 1711 – 1719, 2010.

SETHI, A.; DILAWARI, V.K. Spectrum of insecticide resistance in whitefly from upland cotton in Indian subcontinent. **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v. 5, n. 3, p. 138 – 147, 2008.

SILVA, L.D.; OMOTO, C.; BLEICHER, E.; DOURADO, P.M. Monitoramento da suscetibilidade a inseticidas em populações de *Bemisia tabaci* (Gnnadius) (Hemiptera: Aleyrodidae) no Brasil. **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 38, n. 1, p. 116 – 125, 2009.

SKELLEY, L.H.; HOY, M.A.A. Synchronous rearing method for the Asian citrus psyllid and its parasitoids in quarantine. **Biological Control**, Orlando, v. 29, p. 14 – 23, 2004.

TABASHNIK, B.E. Influence of pesticide persistance in evolution of resistance. **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v. 82, n. 5, p. 1263 - 1269, 1989

TAMESSE, J. L. Key for identification of the hymenopteran parasitoids of the African citrus psylla *Trioza erytreae* Del Guercio (Hemiptera: Triozidae) in Cameroon. African **Journal of agricultural**, Washington, research. v. 4, n. 1, p. 85 – 91, 2009.

TIWARI, S.; MANN, R.S.; ROGERS, M.E.; STELINSKI, L.L. Insecticide resistance in field populations of asian citrus psyllid in Florida. **Pest Management Science**, Sussex, v. 67, n. 10, p. 1258-1268, 2011a

TIWARI, S.; PELZ-STELINSKI, K.; STELINSKI, L.L. Effect of *Candidatus* Liberibacer asiaticus infection on susceptibility of asian citrus psyllid, *Diaphorina citri*, to selected insecticides. **Pest Management of Science**, Sussex, v. 67, n. 94 - 99, 2011b

TIWARI, S.; PELZ-STELINSKI, K.; MANN, R.; STELINSKI, L. L. Gluathione transferase and cytocrome P450 (General Oxidadase) activity levels in *Candidatus* Liberibacter Asiaticus-Infected and uninfected asian citrus psyllid (Hemipera: Psyllidae), **Annals Entomological Society American**, Washington, v. 104, n. 2, p. 297 - 375, 20011c

TIWARI, S.; GONDHALEKAR, A.D.; MANN, R.S.; SCHARF, M.E.; STELINSKI, L.L. Characterization of five CYP4 gens from asian citrus psyllid and their expression levels in *Candidatus* Liberibacer asiaticus-infected and uninfected psyllids. **Insect Molecular Biology**, Oxford, v. 20, n. 6, p. 733 - 744, 2011d

TIWARI, S.; CLAYSON, P.J.; KUHNS, E.H.; STELINSKI, L.L. Effects of buprofezin and diflubenzuron on various developmental stages of asian citrus psyllid, *Diaphorina citri*. **Pest Management Science**, Sussex, v. 68, p. 1405 -1412, 2012b

TIWARI, S.; KILLINY, N. MANN, R.S.; WENNINGER, E.J.; STELINSKI, L.L. Abdominal color of the asian citrus psyllid, *Diaphorina citri*, is associated with susceptibility to various insecticides. **Pest Management Science**. Sussex, DOI: 10.1002/ps.3407, 2012a

TOMIZAWA, M.; CASIDA, J.E. Neonicotionoid insecticid toxicology: Mechanisms of selective action. **Annual Review of Pharmacology and Toxicology**, Palo Alto, v. 45, p. 247 – 268, 2005.

TSAI, J.H.; LIU, Y.H. Biology of *Diaphorina citri* (Homoptera: Psyllidae) on four host plants. **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v. 93, p. 1721 – 1725, 2000.

TURATI, D.T. **Efeito de filme de partículas de caulin sobre a seleção hospedeira e desenvolvimento de *Diaphorina citri* Kuwayama em Citrus sinensis (L.) Osbeck.** 2008. 74p. Dissertação (Mestrado em Entomologia) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2008.

XU, C.; XIA, U.; LI, K.; KE, C. Study on latent period of pathogen of citrus huanglongbing in citrus psylla, *Diaphorina citri Kuwayama*. **Acta Phytopathologica Sinica**, Peking, v. 20, p. 25 - 31, 1990.

WEATHERSBEE III, A.A.; McKENZIE, C.L.; Effect of a neem biopesticide on repellency, mortality, oviposition, and development of *Diaphorina citri* (Homoptera: Psyllidae). **Florida Entomologist**, Gainesville, v. 88, n. 4, p. 401 -407, 2005

WENNINGER, E.J.; HALL, D. Daily timing of mating and age at reproductive maturity in *Diaphorina citri* (Hemiptera: Psyllidae) **Florida Entomologist**, Gainesville, v. 90, n. 4, p. 715 - 722, 2007

WENNINGER, E.J.; HALL, D.G. Importance of multiple mating to female reproductive output in *Diaphorina citri*. **Physiological Entomology**, Oxford, v. 33, p. 316 -321, 2008.

WENNINGER, E.J.; STELINSKI, L.L.; HALL, D. Relationships between adult abdominal color and reproductive potential in *Diaphorina citri* (Hemiptera: Psyllidae). **Annals of the Entomological Society of America**, College Park, v. 102, n. 3, p. 476 - 483, 2009.

YANG, Y. HUANG, M.; ANDREW, G.; BEATTIE, C.; XIA, Y.; OUYANG, G.; XIONG, J. Distribution, biology, ecology and control of the psyllid *Diahorina citri* Kuwayama, a major pest of citrus. A status report for China. **International Journal of Pest Management**, London, v. 52, n. 4, p. 343 - 352, 2006.

YAMAMOTO, P.T.; GRAVENA, S.Espécies e abundância de cigarrinhas e psilídeos (Homopera) em pomares cítricos. **Anais da Sociedade entomológica do Brasil**. Londrina, v. 29, n. 1, p. 169 - 176, 2000.

YAMAMOTO, P.T.; PAIA, P.E.B.; GRAVENA, S. Flutuação populacional de *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae) em pomares de citros na região norte do estado de São Paulo. **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 30, n. 1, p. 165-170, 2001.

YAMAMOTO, P.T. Controle de insetos vetores de bactérias causadoras de doenças em citros. In: YAMAMOTO, P.T. **Manejo Integrado de Pragas dos Citros**. Editora Copyright, 2008. p. 336 p. 237-260.

YAMAMOTO, P.T.; FELIPE, M.R.; SANCHES,A.; COELHO, J.H.; GARBIM, L.F.; XIMENES, N.L. Eficácia de inseticidas para o manejo de *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae) em citros. **BioAssay**, Londrina, v. 4, n. 4, p. 1-9, 2009.

YOUNGNAM , Y.; BACKUS, E.A.; SERIKAWA, R.H.; STELINSKI, L.L. Correlation of an electrical penetration graph waveform with walking by asian citrus psyllid, *Diaphorina citri* (Hemiptera: Psyllidae).**Florida Entomologist**,Gainesville, v. 94, n. 4, p. 1084 -1087, 2011.

ZHUANG, Y.L.; SHEN, J.L.; DAI, D.J.; ZHOU, W.J. Genetic analysis of resistance to buprofezin in the brown planthopper *Nilaparvata Lugens* (Stal) (Homoptera: Delphacidade). **Acta Entomologica Sinica**, Peking, v. 47, p. 749753, 2004.

3 MONITORAMENTO DA SUSCETIBILIDADE DE *Diaphorina citri* KUWAYAMA (HEMIPTERA: LIVIIDAE) A IMIDACLOPRID E OUTROS INSETICIDAS EM POMARES CITRÍCOLAS DO ESTADO DE SÃO PAULO

Resumo

O uso de inseticidas para o controle do vetor de huanglongbing, *Diaphorina citri* (Hemiptera: Liviidae), tem sido feito de modo sequencial e preventivo em pomares de citros. O inseticida imidacloprid é um dos produtos mais utilizados em pulverizações foliares, além de inseticidas piretroides e organofosforados. No presente estudo foi realizado o monitoramento da suscetibilidade a inseticidas em populações de *D. citri* para dar subsídios a um programa de manejo da resistência. Foram utilizados bioensaios de contato residual para determinar as linhas básicas de suscetibilidade aos inseticidas imidacloprid, deltamethrin e dimethoate. Foram estabelecidas concentrações diagnósticas baseadas na CL_{95} de imidacloprid (56µL/mL), CL_{90} de deltamethrin (32µL/mL) e CL_{95} de dimethoate (56µL/mL) para o monitoramento da suscetibilidade. De 2010 a 2012 foram coletadas 25 populações de *D. citri* em diferentes regiões produtoras com exposição a diferentes regimes de uso de inseticidas no Estado de São Paulo. Não foram detectadas diferenças na suscetibilidade aos inseticidas testados entre as populações de *D. citri* expostas à baixa ou alta pressão de inseticidas no campo. Entretanto, em 2010 uma população proveniente da região de Mogi Mirim, exposta a CL_{95} de imidacloprid, apresentou uma sobrevivência de 24%. Já os insetos expostos às concentrações diagnósticas de deltamethrin (CL_{90}) e dimethoate (CL_{95}) apresentaram uma baixa variação na suscetibilidade entre as populações testadas, com sobrevivências entre 0,91% e 11,8% para deltamethrin e entre 5,2% e 13% para dimethoate. As populações de *D. citri* coletadas em 2011 e 2012 não apresentaram alterações significativas na suscetibilidade para os inseticidas testados. Fatores bioecológicos de *D. citri*, tais como a imigração de indivíduos suscetíveis de áreas não tratadas, podem explicar a manutenção da suscetibilidade a inseticidas mesmo em populações de *D. citri* expostas a alta pressão de seleção de inseticidas.

Palavras-chave: Psilídeo; Neonicotinoide; Resistência; Citros

Abstract

Insecticides to control the vector of huanglongbing, *Diaphorina citri* (Hemiptera: Liviidae), have been sprayed sequentially and in a preventive manner. The insecticide imidacloprid is one of the most used products in foliar sprays, besides pyrethroid and organophosphate insecticides. In this study, we conducted the monitoring the susceptibility to insecticides in populations of *D. citri* to implement an insect resistance management program. Residual contact bioassays were used to establish the baseline susceptibility to imidacloprid, deltamethrin and dimethoate. Diagnostic concentrations for monitoring the susceptibility were defined based on LC_{95} of imidacloprid (56µl/mL) LC_{90} of deltamethrin (32µl/mL) and LC_{95} of dimethoate (56µl/mL). From 2010 to 2012, 25 populations of *D. citri* were collected in different producing regions of São Paulo State with differential regimes of insecticide use. There were no differences in susceptibility to the insecticides tested among *D. citri* populations exposed to low or high pressure of insecticides in the field. However, in 2010 a population from Mogi Mirim region, exposed to LC_{95} of imidacloprid, showed a survival of 24%. Survival of *D. citri* populations to diagnostic concentrations of deltamethrin (CL_{90}) and dimethoate (LC_{95}) showed a low variation in susceptibility among populations tested, with survivorship between 0.91% and 11.8% for deltamethrin and between 5.2% and 13 % to dimethoate. The populations of *D. citri* collected in 2011 and 2012 showed no significant

differences in susceptibility to the insecticides tested. Bioecological factors of *D. citri*, such as immigration of susceptible individuals from untreated areas, could explain the maintenance of susceptibility to insecticides even in *D. citri* populations exposed to high selection pressure of insecticides.

Keywords: Psyllid; Neonicotinoid; Resistance; Citrus

3.1 Introdução

O controle químico de *Diaphorina citri* (Hemiptera: Liviidae) é a principal estratégia utilizada para reduzir a incidência do huanglongbing (HLB) nos pomares (TIWARI et al., 2011a). Entre os inseticidas mais utilizados estão os neonicotinoides como imidacloprid. O emprego de imidacloprid inicia nos viveiros com aplicações via solo e com pulverizações foliares nos pomares de citros em produção (YAMAMOTO, 2008). Nestas áreas, as pulverizações são sequenciais e preventivas, e além de imidacloprid também são utilizados piretroides e organofosforados, sendo o uso destes grupos químicos atribuído ao um número limitado de inseticidas registrados para controle de *D. citri*.

A alta exposição a inseticidas pode selecionar psilídeos resistentes. Nos pomares em produção são realizadas pulverizações mensais ou quinzenais (MASCHIO, 2011), chegando a pulverizações semanais em algumas áreas. Esse cenário exerce uma grande pressão sobre *D. citri*, possibilitando a seleção de insetos resistentes. Neste contexto, o risco de evolução de resistência é agravado por fatores como o uso do mesmo produto em pulverizações sequenciais, negligenciando estratégias de manejo da resistência (TIWARI et al., 2011a), ou pelo emprego dos mesmos inseticidas no controle de outras pragas em pomares de citros tais como o complexo de cigarrinhas transmissoras da clorose variegada dos citros (YAMAMOTO et al., 2000).

Além destes fatores, características bioecológicas de *D. citri* podem acelerar a evolução da resistência a inseticidas. Entre as quais se destaca a baixa mobilidade de ninfas (MEAD, 2007), várias gerações anuais (GÓMEZ TORRES, 2009), dispersão de adultos (BOINA et al., 2009a) e a monofagia funcional, devido à erradicação de hospedeiros alternativos do psilídeo e que também são hospedeiros da bactéria causadora do HLB (BELASQUE JR et al., 2009). A evolução da resistência de *D. citri* a inseticidas foi relatada na Flórida onde psilídeos apresentaram diferentes níveis de resistência para vários grupos químicos, atingindo razões de resistência de até 35 vezes para imidacloprid (TIWARI et al., 2011a). Nesse cenário, medidas que preservem este grupo químico devem ser adotadas para minimizar o risco de seleção de insetos resistentes.

A importância da preservação do imidacloprid está associada a sua eficiência contra insetos sugadores (BOINA et al., 2009b). Entretanto a sua preservação para o controle de *D. citri*

é dependente do estabelecimento de estratégias de Manejo da Resistência de Insetos (MRI). Nessa situação, o passo inicial é o estabelecimento das linhas básicas de suscetibilidade e posterior monitoramento da suscetibilidade de *D. citri* a neonicotinoides e inseticidas de outros grupos químicos, visando à adoção de estratégias de MRI como o emprego da rotação ou da mistura de inseticidas. Deste modo, o objetivo deste trabalho foi verificar a suscetibilidade de populações do psilídeo coletadas em pomares citrícolas das regiões produtoras do Estado de São Paulo ao neonicotinoide imidacloprid, ao piretroide (deltamethrin) e organofosforado (dimethoate).

3.2 Material e métodos

3.2.1 Coleta e manutenção de populações de *D. citri*

A população de *D. citri* caracterizada como suscetível de referência foi proveniente de uma criação iniciada em 2009, a partir de insetos coletados em Piracicaba, São Paulo, Brasil (22º42’29,27”S; 47º37’47,15’W), em uma área sem pulverizações com inseticidas. Os insetos foram mantidos e multiplicados sobre plantas de murta *Murraya paniculata* L. em laboratório a 25 ± 1°C, UR: 70 ± 10% e fotofase de 14 h.

Para o monitoramento da suscetibilidade de *D. citri* a inseticidas foram realizadas coletas em pomares comerciais localizados no Estado de São Paulo classificados em três categorias:

1) Áreas sem controle (pomares sem manejo do psilídeo ou com até duas pulverizações anuais de inseticidas para controle da praga);

2) Áreas com controle moderado (pomares que realizaram até seis pulverizações anuais de inseticidas para o controle do psilídeo);

3) Áreas com controle intenso (pomares onde as pulverizações de inseticidas foram sequencias e preventivas ao longo do ano, ou seja, pomares com pulverizações mensais, quinzenais ou semanais).

As vistorias foram realizadas nos talhões da propriedade observando as brotações de plantas. Os psilídeos encontrados foram capturados por meio de um dispositivo de sucção para os adultos ou do corte de ramos com as ninfas. Após a coleta, os insetos foram acondicionados em uma gaiola telada com uma planta de murta para alimentação e substrato de postura (Figura 3.1). Estas gaiolas permaneceram nas propriedades por um período de 30 dias para a coleta de número suficiente de indivíduos (pelo menos 30 insetos). A localização das áreas onde foram coletadas as populações de *D. citri* no é apresentada na Figura 3.2.

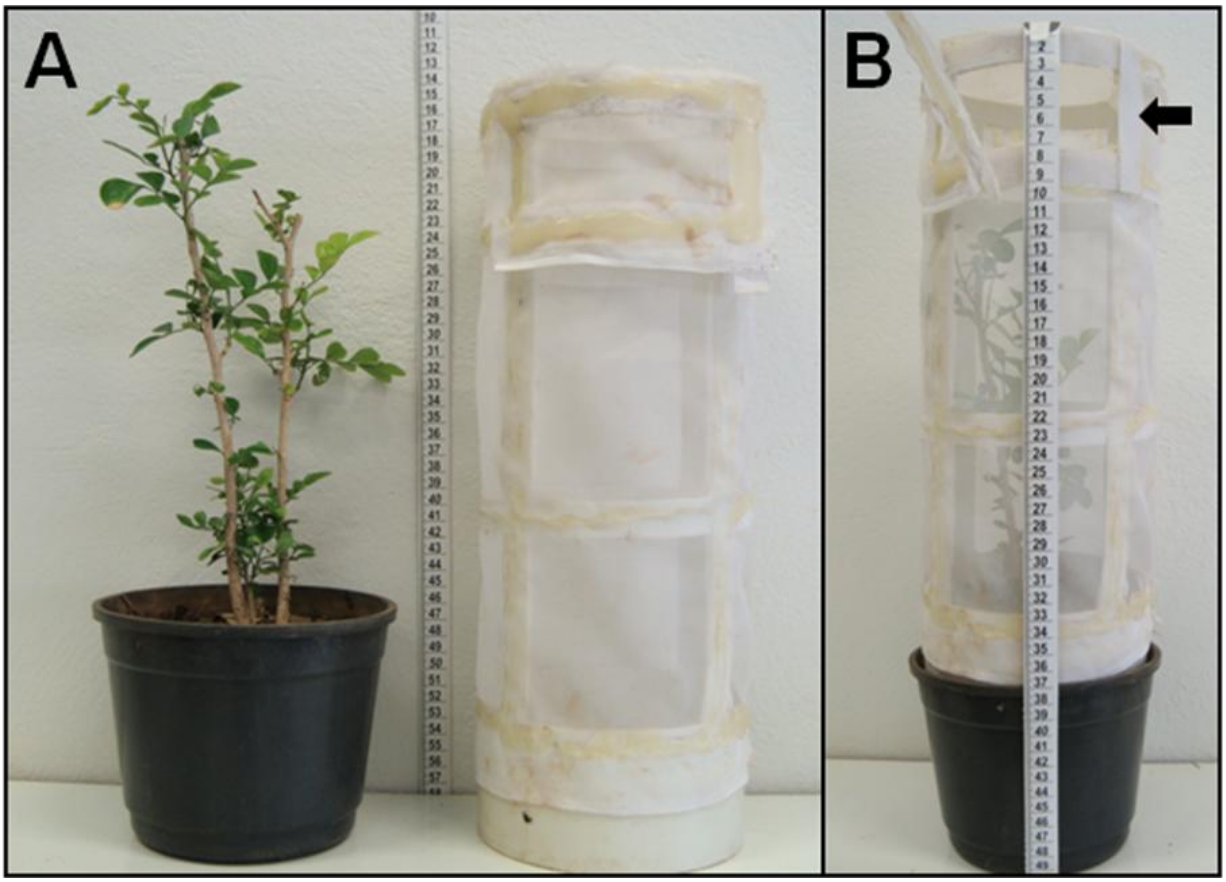
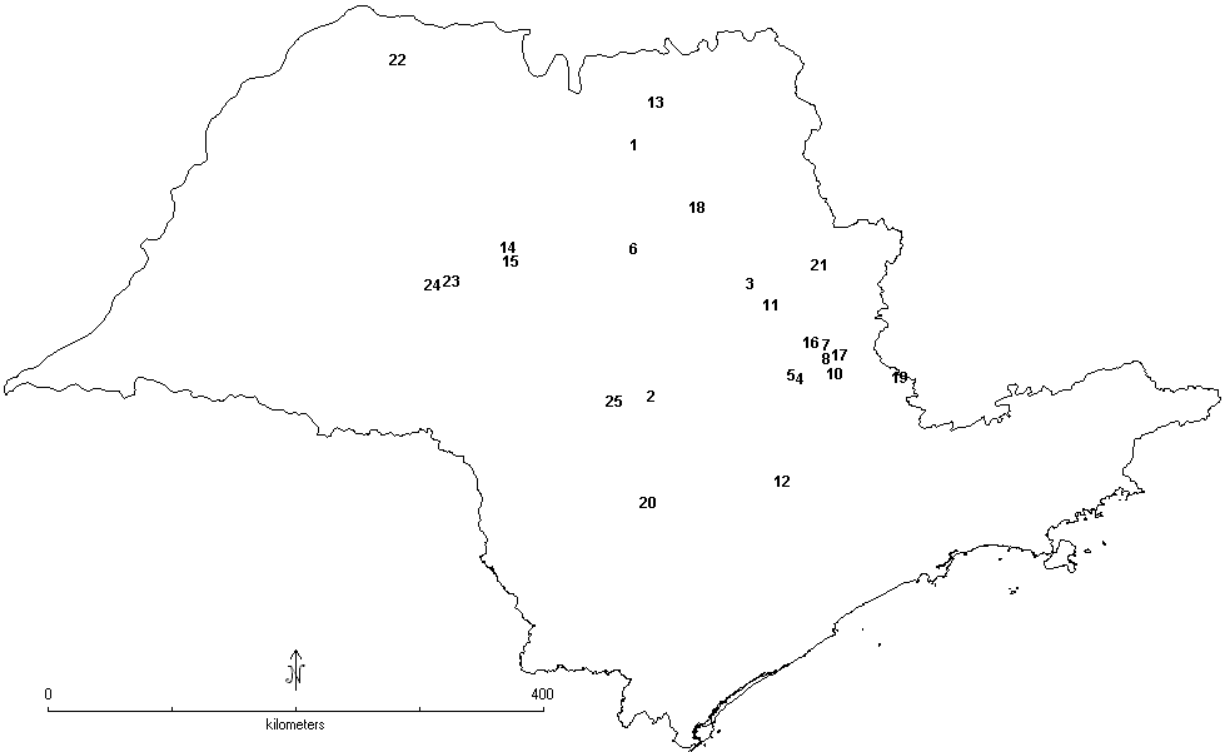


Figura 3.1 - Modelo de gaiola enviada para as propriedades rurais para armazenamento de psilídeos. **A**: Planta de murta (*Murraya paniculata*) podada para emissão de brotações para alimentação e oviposição de *D. citri* e gaiola confeccionada em tubo de PVC. **B**: Gaiola montada sobre o vaso com murta. A seta indica o local de abertura da gaiola para colocação dos insetos após sua captura



N.	Localização	Coleta	Manejo
Ano de coleta: 2010			
1	Bebedouro 1	17/02	Intenso
2	Botucatu	23/12	Moderado
3	Descalvado	27/04	Sem controle
4	Limeira 1	20/12	Moderado
5	Limeira 2	21/12	Moderado
6	Matão	11/03	Sem controle
7	Mogi Mirim 1	15/04	Intenso
8	Mogi Mirim 2	30/11	Intenso
9	Mogi Mirim 3	10/12	Moderado
10	Mogi Mirim 4	10/12	Moderado
Ano de coleta: 2011			
11	Analândia	24/11	Intenso
12	Araras	16/12	Intenso
13	Bebedouro 2	24/11	Intenso
14	Cafelândia 1	22/10	Intenso
15	Cafelândia 2	22/10	Intenso
16	Conchal	19/12	Moderado
17	Mogi Mirim 5	02/12	Moderado
18	Rincão	24/11	Intenso
19	Socorro	02/12	Moderado
Ano de coleta: 2012			
20	Angatuba	16/02	Moderado
21	Casa Branca	16/01	Moderado
22	Fernandópolis	06/01	Sem controle
23	Guaimbê 1	17/01	Intenso
24	Guaimbê 2	17/01	Intenso
25	São Manuel	16/01	Intenso

Figura 3.2 - Pomares citrícolas do Estado de São Paulo onde foram coletadas populações de *D. citri* para monitoramento da suscetibilidade a inseticidas

3.2.2 Inseticidas

Os inseticidas empregados foram os seguintes: imidacloprid (Provado 200 SC - 200 g de ingrediente ativo (i.a.) por litro – Suspensão Concentrada, Bayer CropScience Ltda.), dimethoate (Dimetoato 500 CE - 500 g de i.a. por litro – Concentrado Emulsionável, Nortox S. A.) e deltamethrin (Decis 25 EC – 25 g de i.a. por litro – Concentrado Emulsionável, Bayer CropScience Ltda.).

3.2.3 Linhas básicas de suscetibilidade

Para a estimativa das linhas básicas de suscetibilidade foram utilizadas entre cinco e seis concentrações de cada inseticida, espaçadas logaritimicamente, e que proporcionaram uma mortalidade entre 5 e 95% dos insetos da população suscetível. O biensaio empregado foi o de contato residual. Para os bioensaios, discos foliares com 3,3 cm de diâmetro foram retiradosde folhas de laranjeira 'Pera Rio' com auxílio de um vasador de metal. Após a confecção, os discos foram mantidos sobre algodão umedecido até a pulverização. A pulverização foi realizada sobre a superfície abaxial por meio de torre de Potter (Burkard Manufacturing, Rickmansworth Herts, Reino Unido) calibrada à pressão de 10 psi (68,95 kPa). Em cada pulverização foi utilizado um volume de 2 mL de solução (inseticida + água), obtendo-se uma deposição residual de 1,56 mg/cm². No tratamento controle, apenas a água foi pulverizada.

Após a pulverização, os discos foram novamente acondicionados sobre algodão umedecido até a secagem do produto, sendo em seguida acondicionados em placas acrílicas de 3,5 cm de diâmetro (Falcon 1008, Becton Dickinson Labware, Lincoln park, NJ, USA), contendo uma camada de ágar-água na concentração de 2%. Posteriormente cada disco foi infestado com 10 adultos de *D. citri*, os quais foram anestesiados com CO_2. Após a infestação, as placas foram tampadas e mantidas em câmara climatizada a 25±1°C, 70±1% UR e fotofase de 14 h. Avaliações de mortalidade foram realizadas após 24 h da pulverização. Foram considerados mortos os psilídeos que quando dispostos com a parte dorsal voltada para baixo não responderam com movimentos vigorosos ou voltaram à posição normal.

O delineamento experimental adotado foi o inteiramente casualizado, sendo que para todas as concentrações foram realizadas cinco repetições. Cada repetição foi formada por quatro placas acrílicas, com dez insetos. Os dados de mortalidade foram submetidos à análise de Probit (Polo-PC - Leora Software, 1987) e a partir da curva da concentração-resposta da população suscetível, foi estimada a CL_{50} e definida as concentrações diagnósticas empregadas no monitoramento da suscetibilidade de populações de *D. citri*.

3.2.4 Monitoramento da suscetibilidade de *D. citri* a inseticidas

A suscetibilidade das populações de *D. citri* coletadas no Estado de São Paulo (Figura 3.2) para imidacloprid, deltamethrin e dimethoate foi avaliada mediante bioensaios de contato direto e residual (Item 3.2.3). Após a estimativa das linhas básicas de suscetibilidade foram estabelecidas as concentrações diagnósticas de 56 mg de ingrediente ativo (i.a.) de imidacloprid/L água (CL_{95}), 32 mg de i.a. de deltamethrin/L água (CL_{90}) e 56 mg de i.a. de dimethoate/L água (CL_{95}).

O delineamento experimental adotado foi o inteiramente casualizado. Para cada concentração diagnóstica testada foram realizadas cinco repetições. Cada repetição foi formada por quatro placas acrílicas, com dez adultos de *D. citri*. Os dados de sobrevivência foram submetidos à análise hierárquica de variância (ANOVA), usando modelos lineares gerais (GLM). As interações significativas pelo teste *F* tiveram suas médias comparadas pelo teste de Tukey (α: 0,05) por meio da função GLHT do pacote multicomp (Software estatístico R versão 215.1) (R DEVELOPMENT CORE TEAM, 2012).

3.3 Resultados

3.3.1 Linhas básicas de suscetibilidade

A partir da linha básica de suscetibilidade de imidacloprid para a população suscetível de referência foram estimadas a CL_{50} de 5,21 µL/mL [IC 95% (4,59-5,95)], coeficiente angular de 1,61 (± 0,06), χ^2 de 8,60 e uma concentração diagnóstica baseada na CL_{95} de 56 µL/mL [IC 95% (37,85-87,06)] (Figura 3.3).

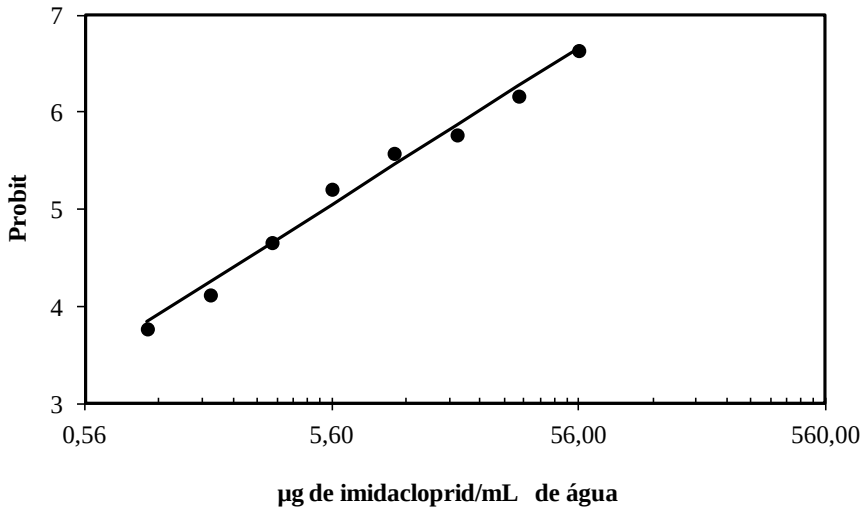


Figura 3.3 - Caracterização toxicológica da linhagem suscetível de *D. citri* a imidacloprid

Para deltamethrin foi estimada uma CL_{50} de 7,92 µL/mL (IC 95% (4,98-10,52)], coeficiente angular de 1,90 (± 0,134), χ^2 de 7,31 e uma concentração diagnóstica baseada na CL_{90} de 32 µL/mL (23,72-75,78; I.C.:95%) (Figura 3.4).

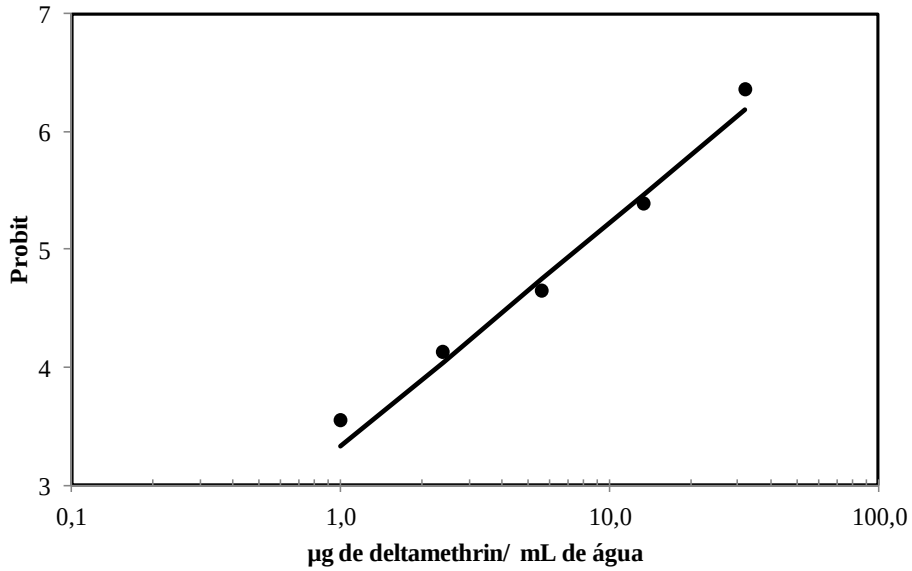


Figura 3.4 - Caracterização toxicológica da linhagem suscetível de *D. citri* a deltamethrin

Para dimethoate foi estimado uma CL_{50} de 20,73 µL/mL [IC 95% (18,8-22,8)], coeficiente angular de 3,16 (± 0,135), χ^2 de 3,81 e uma concentração diagnóstica baseada na CL_{95} de 56 µL/mL (49,31-96,92; I.C.:95%) (Figura 3.5).

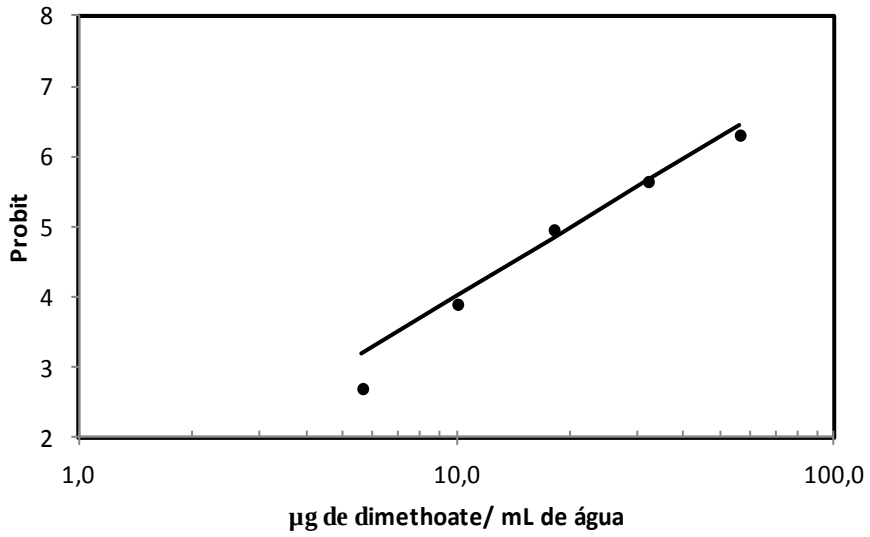


Figura 3.5 - Caracterização toxicológica da linhagem suscetível de *D. citri* a dimethoate

3.3.2 Monitoramento da suscetibilidade de *D. citri* a inseticidas

A sobrevivência de adultos de *D. citri* coletados em pomares com diferentes níveis de pulverização não apresentaram diferenças significativas quanto à sobrevivência nas concentrações diagnósticas de imidacloprid (F = 0,286; g.l. = 2, 122; p > 0,05), deltamethrin (F = 2,61; g.l. = 2, 122; p > 0,05) e dimethoate (F = 0,178; g.l. = 2, 122; p > 0,05). Entretanto, contrastando os anos de coleta ocorreram diferenças significativas na sobrevivência de *D. citri*. Para imidacloprid, o ano de 2010 apresentou sobrevivência significativamente superior a 2011 e 2012 (F = 0,286; g.l. = 2, 122; p < 0,05), (Tabela 3.1; Figura 3.6). A influência do ano de coleta também ocorreu para deltamethrin (F = 0,286; g.l. = 2, 122; p < 0,05), onde a sobrevivência dos insetos coletados em 2010 (5,81%) foi superior a 2011(1,81%) e 2012 (2,13%). Do mesmo modo para dimethoate (F = 0,286; g.l. = 2, 122; p < 0,05), com 2010 apresentando sobrevivências de 7,9%, enquanto para 2011 e 2012 as sobrevivências foram de 3,31% e 1.27% respectivamente (Tabela 3.1; Figura 3.6).

Tabela 3.1 - Sobrevivência média (± epm) de adultos de *D. citri* coletados em pomares de São Paulo e expostos a concentrações diagnósticas de imidacloprid, deltamethrin e dimethoate

Inseticida	Concentração diagnóstica	Ano de coleta	Sobrevivência*
Imidacloprid	56µL/mL	2010	8,50 (±1,21)a
		2011	2,15 (±0,45)b
		2012	3,36 (±1,23)b
Deltamethrin	32µL/mL	2010	5,81 (±0,96)a
		2011	1,81 (±0,53)b
		2012	2,13 (±0,81)b
Dimethoate	56µL/mL	2010	7,90 (±0,88)a
		2011	3,31 (±0,78)b
		2012	1,27 (±0,53)b

* Letras diferentes na coluna diferem entre si pelo teste de Tukey (p < 0,05).

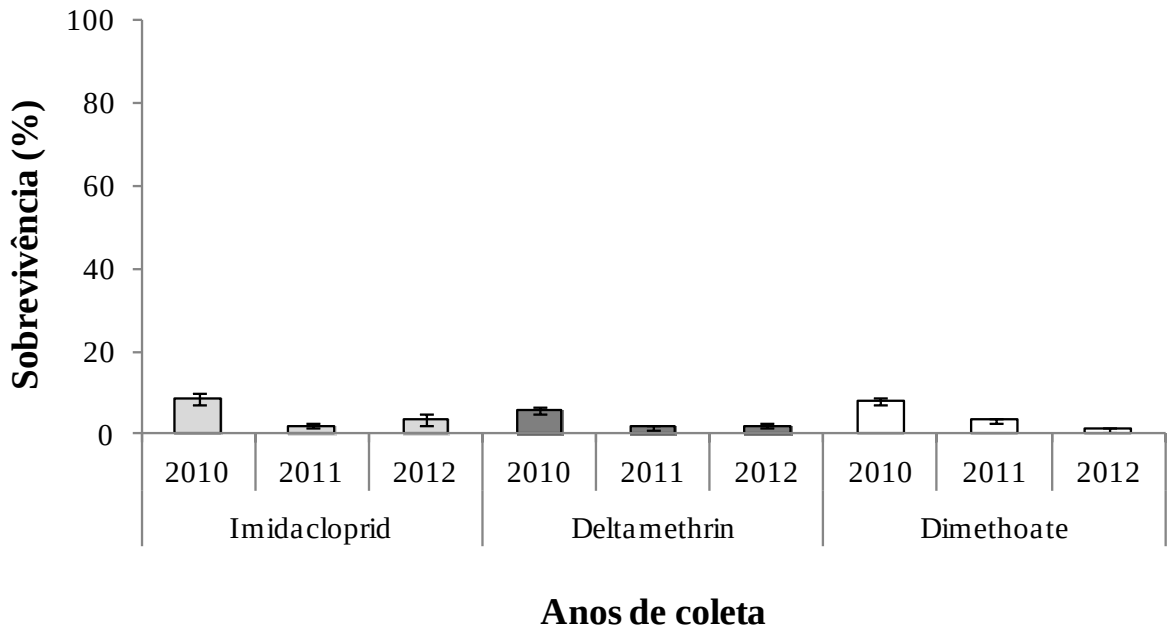


Figura 3.6 – Sobrevivência média (± epm) de populações de *D. citri* coletadas em diferentes anos em pomares de São Paulo e expostas através de contato residual à concentração diagnóstica de imidacloprid (56µL/mL), deltamethrin (32µL/mL) e dimethoate (56µL/mL)

Os resultados do monitoramento da suscetibilidade a imidacloprid revelaram para o ano de 2010 uma variação significativa da sobrevivência entre as populações (F = 4,44; g.l. = 10, 44; p = 0,0002). Essa variação na sobrevivência de adultos expostos a CL_{95} de imidacloprid (56µL/mL) variou entre 0,50% (Limeira 1) e 24,81% (Mogi Mirim3), sendo esta população a que apresentou a maior sobrevivência para imidacloprid durante os três anos de monitoramento (Tabela 3.2; Figura 3.7). Para o ano de 2011, também ocorreram diferenças significatuvas na suscetibilidade das populações monitoradas (F = 2,45; g.l. = 9, 40; p = 0,0251), entretanto a amplitude na sobrevivência foi menor, variando entre 0,45% (Conchal) e 8,91% (Rincão). Para as populações coletadas em 2012 não ocorreram diferenças significativas na suscetibilidade (F = 1,52; g.l. = 6, 28; p = 0,2079) (Tabela 3.2; Figura 3.7).

Tabela 3.2 - Sobrevivência média (± epm) de adultos de *D. citri* coletados em pomares de São Paulo e expostos a concentração diagnóstica de imidacloprid (CL_{95} de 56µL/mL)

Ano de coleta	Local de coleta	n[1]	Sobrevivência (±EP)*
2010	Mogi Mirim 3	197	24,81 (±8,4)a
	Bebedouro 1	203	9,92 (±1,5)b
	Matão	197	9,48 (±1,5)b
	Mogi Mirim 1	206	8,70 (±2,3)b
	Botucatu	205	7,28 (±3,0)b
	Mogi Mirim 4	190	6,96 (±2,5)b
	Mogi Mirim 2	211	6,85 (±1,0)b
	Limeira 2	215	6,04 (±0,9)b
	Descalvado	206	4,77 (±3,3)b
	Limeira 1	197	0,50 (±0,5)b
2011	Analândia	201	5,57 (±2,2)a
	Rincão	205	3,87 (±1,2)ab
	Araras	196	3,17 (±1,0)ab
	Cafelândia 2	200	3,11 (±1,5)ab
	Bebedouro 2	191	1,45 (±1,0)ab
	Cafelândia 1	194	1,13 (±1,1)ab
	Mogi Mirim 5	198	0,95 (±1,0)ab
	Conchal	214	0,00 (±0,0)b
	Socorro	203	0,00 (±0,0)b
2012	São Manuel	205	9,83 (±5,2)a
	Fernandópolis	192	4,81 (±3,5)a
	Guaimbê 2	190	4,04 (±2,8)a
	Angatuba	202	2,67 (±1,4)a
	Casa Branca	202	0,50 (±0,5)a
	Guaimbê 1	199	0,00 (±0,0)a

(1) Número de insetos testados.
* Letras diferentes na coluna diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

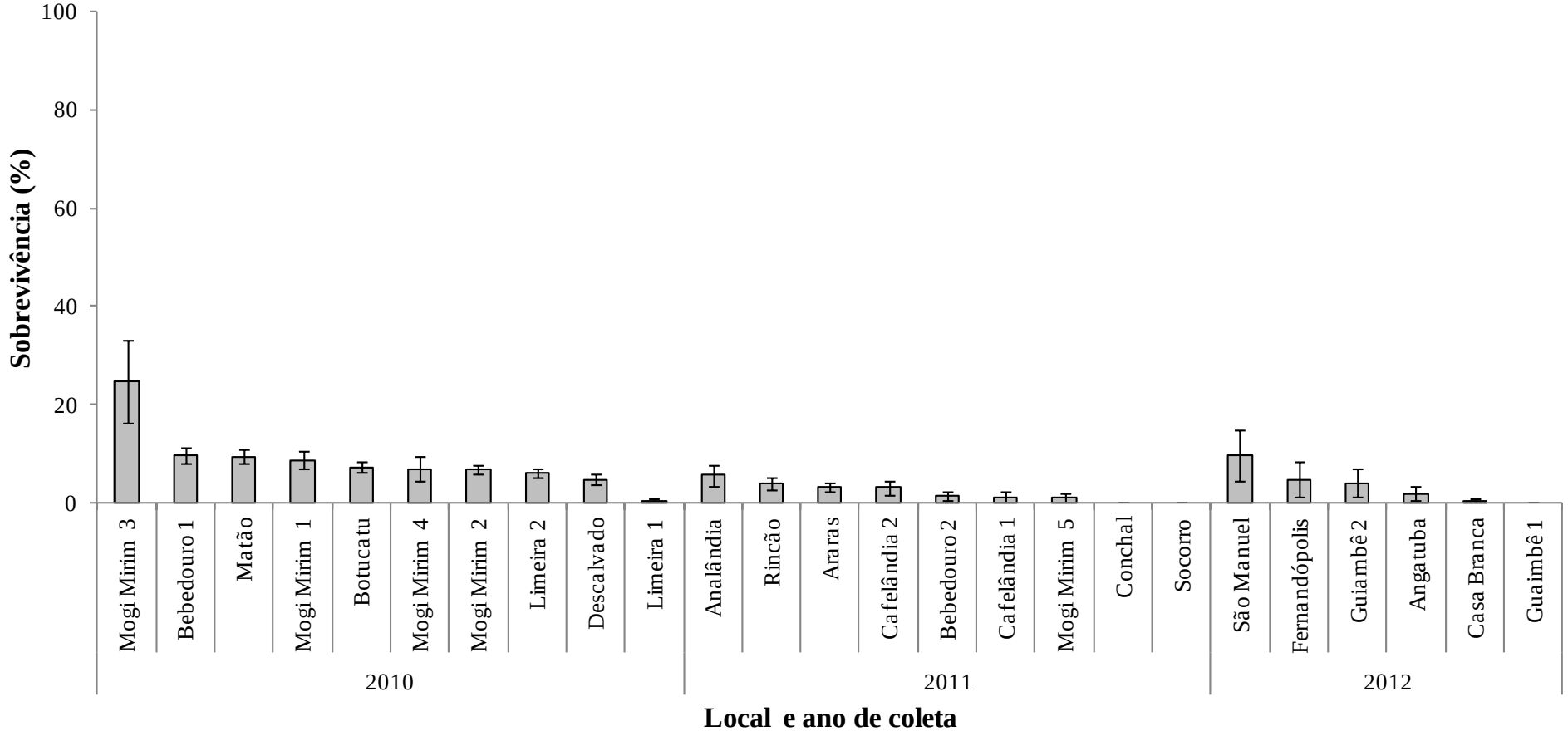


Figura 3.7 - Porcentagem média de sobrevivência (± epm) de populações de *D. citri* coletadas em pomares de São Paulo e expostas a concentração diagnóstica de imidacloprid (CL_{95} de 56µL/mL) com bioensaio de contato residual

O monitoramento da suscetibilidade de populações de *D. citri* para deltamethrin no ano de 2010 revelou uma variação entre 0,91% (Mogi Mirim 4) e 11, 82% (Bebedouro 1), entretanto estas diferenças não foram significativas (F = 1,18; g.l. =10, 44; p = 0,3293). Os monitoramentos realizados em 2011 mostraram uma variação entre 0,45% e 8,91%, com a população de Rincão apresentando uma sobrevivência similar a de Mogi Mirim 5 e superior às demais populações testadas (F = 8,91; g.l. = 9, 40; p < 0,0001) (Tabela 3.3; Figura 3.8). Entretanto, em 2012, os insetos monitorados apresentaram elevados índices de mortalidade, não sendo verificadas diferenças significativas na sobrevivência destas populações (F = 0,86; g.l. = 6, 28; p = 0,5405) (Tabela 3.3; Figura 3.8).

Tabela 3.3 - Sobrevivência média (± epm) de adultos de *D. citri* coletados em pomares de São Paulo e expostos a concentração diagnóstica de deltamethrin (CL_{90} de 32µL/mL). Letras diferentes na coluna diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$)

Ano de coleta	Local de coleta	n[1]	Sobrevivência (±EP)*
2010	Bebedouro 1	214	11,82 (±5,2)a
	Descalvado	213	8,19 (±3,5)a
	Matão	208	8,18 (±4,8)a
	Mogi Mirim 1	200	6,96 (±3,6)a
	Botucatu	218	4,37 (±2,2)a
	Mogi Mirim 3	224	4,22 (±0,8)a
	Limeira 2	204	3,81 (±1,5)a
	Mogi Mirim 2	219	3,71 (±1,3)a
	Limeira 1	217	2,70 (±1,9)a
	Mogi Mirim 4	211	0,91 (±0,9)a
2011	Rincão	198	8,91 (±1,2)a
	Mogi Mirim 5	204	2,60 (±2,4)ab
	Socorro	194	1,25 (±1,3)bc
	Araras	223	0,95 (±0,6)bc
	Conchal	196	0,45 (±0,5)bc
	Analândia	212	0,00 (±0,0)c
	Cafelândia 1	200	0,00 (±0,0)c
	Cafelândia 2	191	0,00 (±0,0)c
	Bebedouro 2	188	0,00 (±0,0)c
2012	São Manuel	196	5,63 (±4,3)a
	Fernandópolis	209	2,55 (±1,7)a
	Guaimbê 1	203	2,01 (±0,9)a
	Guaimbê 2	197	1,42 (±1,4)a
	Casa Branca	195	0,45 (±0,5)a
	Angatuba	227	0,29 (±0,4)a

(1) Número de insetos testados.

* Letras diferentes na coluna diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

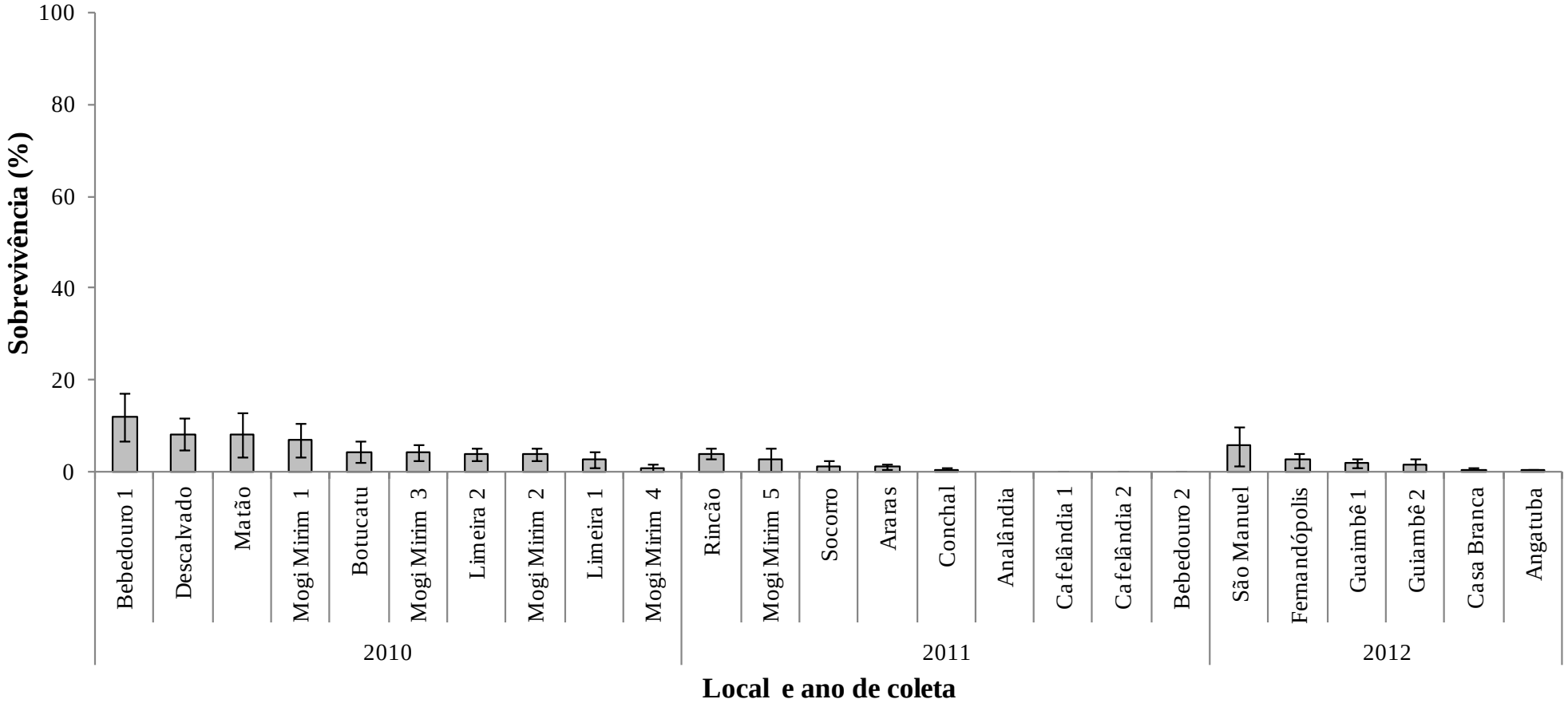


Figura 3.8 - Porcentagem média de sobrevivência (± epm) de populações de *D. citri* coletadas em pomares de São Paulo e expostas a concentração diagnóstica de deltamethrin (CL_{90} de 32µL/mL) com bioensaio de contato residual

O monitoramento realizado durante o ano de 2010 para dimethoate mostrou uma variação significava na sobrevivência entre as populações (F = 1,76; g.l. =10, 44; p = 0,0096), com a população Bebedouro 1 apresentando a maior sobrevivência (13,07%), entretanto esta população diferenciou-se de modo significativo apenas da população Limeira 1 que teve 100% de mortalidade (Tabela 3.4; Figura 3.9). Para o ano de 2011 houve uma variação na sobrevivência entre 0,63% e 7,50%, entretanto essa variação não foi significativa entre as populações (F = 1,25; g.l. = 9, 40; p = 0,2934). Do mesmo modo, as populações coletadas em 2012 apresentaram uma variação na sobrevivência entre 1,61% e 4,49%, entretanto essas populações não se diferenciaram significativamente (F = 2,52; g.l. = 6, 28; p = 0,0448) (Tabela 3.4; Figura 3.9).

Tabela 3.4 - Sobrevivência média (± epm) de adultos de *D. citri* coletados em pomares de São Paulo e expostos a concentração diagnóstica de dimethoate (CL_{95} de 56µL/mL)

Ano de coleta	Local de coleta	n[1]	Sobrevivência (±EP)*
2010	Bebedouro 1	185	13,07 (±3,1)a
	Mogi Mirim 2	210	10.50 (±4,5)ab
	Mogi Mirim 4	225	9,91 (±4,9)ab
	Descalvado	197	9,25 (±2,9)ab
	Botucatu	209	9,04 (±2,8)ab
	Limeira 2	204	8,67 (±2,0)ab
	Matão	192	6,98 (±3,1)ab
	Mogi Mirim 3	203	6,65 (±5,4)ab
	Mogi Mirim 1	194	5,20 (±2,1)ab
	Limeira 1	221	0,00 (±0,0)b
2011	Rincão	179	7,50 (±4,1)a
	Socorro	193	5,96 (±4,8)a
	Bebedouro 2	198	5,59 (±1,8)a
	Analândia	183	4,46 (±1,4)a
	Cafelândia 2	189	1,61 (±1,1)a
	Araras	185	1,58 (±0,7)a
	Conchal	204	1,45 (±0,6)a
	Cafelândia 1	199	1,00 (±0,6)a
	Mogi Mirim 5	188	0,63 (±0,6)a
2012	Guaimbê 1	175	4,49 (±2,6)a
	Angatuba	192	2,64 (±0,6)a
	Guaimbê 2	192	1,61 (±1,1)a
	Casa Branca	193	0,00 (±0,0)a
	Fernandópolis	203	0,00 (±0,0)a
	São Manuel	213	0,00 (±0,0)a

(1) Número de insetos testados

*Letras diferentes na coluna diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

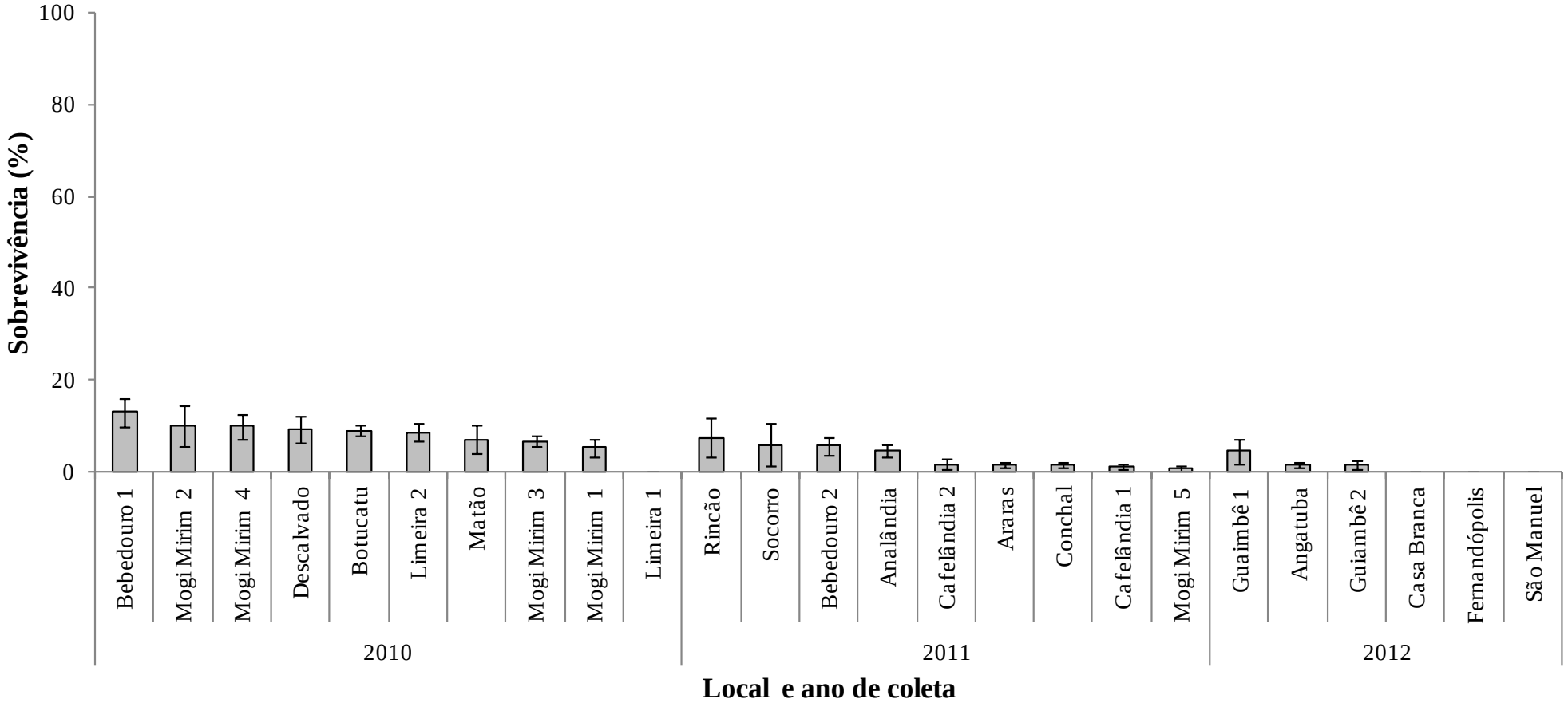


Figura 3.9 - Porcentagem média de sobrevivência (± epm) de populações de D. citri coletadas em pomares de São Paulo e expostas a concentração diagnóstica de dimethoate [CL_{95} (56µL/mL)] com bioensaio de contato residual

3.4 Discussão

As populações de *D. citri* testadas foram suscetíveis aos inseticidas imidacloprid, deltamethrin e dimethoate. Apesar do elevado emprego de inseticidas e do longo histórico de tratamentos fitossanitários, a evolução da resistência de *D. citri* não foi detectada para as populações de campo expostas a concentrações diagnósticas de imidacloprid (CL_{95}), deltamethrin (CL_{90}) e dimethoate (CL_{95}). A manutenção da suscetibilidade do psilídeo pode estar ligada à presença de pomares sem ou com baixa pressão de seleção. Estes pomares além de fonte de inóculo de *Candidatus* Liberibacter são fonte de psilídeos suscetíveis e podem justificar a ausência de resistência e o crescente número de áreas com HLB (BELASQUE JR. et al., 2010).

Os pomares abandonados ou com baixa pressão de seleção por inseticidas atuam como áreas de refúgio de psilídeos suscetíveis. Devido a alta capacidade de dispersão de *D. citri* (BOINA et al., 2009a; TOMASETO, 2012), pomares com baixa pressão podem ser considerados como áreas de refúgio, como ocorre no manejo da resistência de lepidópteros em culturas que expressam proteínas *Bt* (GOULD, 1998). A presença destes pomares associados a aspectos bioecológicos de *D. citri* tem satisfeito premissas importantes que possibilitam a manutenção da suscetibilidade, mesmo em áreas com pulverizações sequenciais e preventivas. Entre estas premissas destaca-se o alto número e a localização dos pomares que viabilizam a dispersão de indivíduos suscetíveis, o acasalamento aleatório entre suscetíveis e possíveis resistentes das áreas com pressão de seleção, o provável padrão de herança de resistência recessivo e a baixa frequencia inicial desses genes (GOULD, 1998).

Neste contexto, a dispersão pode justificar a ausência de diferenças significativas na suscetibilidade de insetos coletados em pomares com alta ou baixa pressão de inseticidas, pois apesar de ocorrer capturas de *D. citri* em pomares com elevado número de pulverizações, estes indivíduos são provenientes de pomares abandonados ou com reduzido número de pulverizações.

A variação temporal na sobrevivência de *D. citri*, verificada neste trabalho, pode estar associada à baixa flutuação de psilídeos nos pomares com baixa pressão de inseticidas. O aumento populacional de *D. citri* inicia com o fluxo vegetativo das plantas, estando isso ligado ao início das chuvas (YAMAMOTO, PAIVA; GRAVENA, 2001). Neste contexto, o alto volume de chuvas a partir de outubro de 2009 (inicio das brotações em citros) afetou o desenvolvimento inicial de psilídeos, resultando nas

baixas populações verificadas em 2010. Assim, as migrações de pomares com baixa pressão foram reduzidas, sendo provável que os insetos monitorados em 2010, já tivessem entrado em contato com resíduos de inseticidas, justificando a maior sobrevivência observada em 2010, como no caso da população Mogi Mirim 3, coletada em 2010, que apesar de apresentar uma sobrevivência diferenciada das demais populações não respondeu à pressão de seleção em laboratório.

Os tratamentos fitossanitários nas bordaduras do pomar também podem contribuir para manutenção da suscetibilidade de *D. citri*. Em pomares com alta pressão de inseticidas, além de pulverizações em área total, ocorrem tratamentos adicionais com inseticidas de contato ou sistêmicos nas plantas que formam a bordadura. Esses tratamentos adicionais têm por objetivo reduzir as fontes primárias do inoculo do HLB, através do controle de psilídeos infectados com *Ca.* liberibacter vindos de outras áreas (STUCHI; GIRARDI, 2010). Essa barreira também pode contribui para que não haja contato entre alguns possíveis insetos sobrevivêntes de áreas com alta pressão de seleção e psilídeos vindos de áreas de refugio, fazendo com que os poucos insetos remanescentes não acasalem e transmitam sua herança genética.

Os insetos infectados com *Ca*. Liberibacter são mais suscetíveis a inseticidas que aqueles sem a bactéria (TIWARI et al., 2011b). Os psilídeos infectados são mais suscetíveis a inseticidas que psilídeos não infectados por apresentarem um nível menor de enzimas ligadas à resistência como a glutationa-S-transferase (GST) e citocromo P450 (TIWARI et al., 2011c). As GST são um grupo de enzimas multifuncionais responsáveis por metabolizar compostos xenobióticos e endógenos como inseticidas (GUI et al., 2009), estando associadas ao metabolismo de inseticidas organofosforados e piretroides (FORNIER et al., 1992; KOSTAROPOULOS et al., 2001). As enzimas do citocromo P450 têm um importante papel na detoxificação de vários compostos, em insetos resistentes, metabolizando um grande número de inseticidas (SCOTT, 1999; SCOTT; WEN, 2001). Deste modo, psilídeos infectados ao migrarem de áreas sem pressão para áreas com pulverizações sequenciais e preventivas tem sua chance de estabelecimento reduzida.

A exposição de *D. citri* na concentração diagnóstica de imidacloprid revelou uma sobrevivência de 24% para a população Mogi Mirim 3. Esse resultado poderia indicar que populações de *D. citri* estão sendo selecionadas pela elevada exposição à neonicotinoides. Entretanto a ausência de resposta durante a pressão de seleção sugere

uma maior tolerância, não se tratando de resistência. Entretanto se deve atentar para o potencial risco de seleção, pois casos de resistência de *D. citri* já são reportados.

Na Flórida, onde o psilídeo foi registrado em 1998, há uma média de oito pulverizações para controle de *D. citri* ao longo do ano (BOINA et al., 2009c). Entretanto, apesar do menor número de pulverizações que as realizadas em pomares comerciais brasileiros, foi verificada a resistência de *D. citri* para 12 inseticidas pertencentes a seis grupos químicos (TIWARI et al., 2011a). Estes autores encontraram razões de resistência de 35 e 15 vezes para os neonicotinoides imidacloprid e thiamethoxam, respectivamente. No Brasil, CARVALHO (2008) contrastando a sobrevivência de uma população de *D. citri* coletada em Barretos, SP com a população suscetível, verificou diferenças significativas entre as populações para os neonicotinoides imidacloprid thiamethoxam e thiacloprid, com percentuais de sobrevivência de 14%, 16% e 22,5% respectivamente.

Medidas de controle do HLB podem comprometer a suscetibilidade do psilídeo a inseticidas. Além da erradicação de plantas hospedeiras de *D. citri* (BELASQUE et al., 2009), vem sendo preconizadas medidas em escala regional para o controle do HLB (BASSANEZI et al., 2010), como as pulverizações para controle de *D. citri* sendo feitas de modo sincronizado, envolvendo todos os pomares em uma amplitude regional. Esta estratégia traz como benefício um controle amplo e abrangente, além de um menor número de tratamentos fitossanitários, com as pulverizações iniciando no inverno para eliminar insetos que vão originar as altas populações durante o período vegetativo. Esta estratégia é viável e traz grandes benefícios no controle do HLB, entretanto ela não é compatível com a presença de pomares que atuam como fontes de inoculo de *Ca*. Liberibacter e de psilídeos suscetíveis. Se por um lado a redução nas pulverizações é viabilizada, a eliminação destas áreas de refugio aumenta o risco de seleção de psilídeos resistentes devido a uma pressão mais efetiva. Deste modo, para o amplo sucesso do manejo regional é importante implementar de modo concomitante estratégias de manejo da resistência de insetos (MRI) para *D. citri*, atuando de modo preventivo com o objetivo de evitar ou retardar a evolução da resistência preservando a eficiência de inseticidas como imidacloprid.

3.5 Conclusões

- As concentrações empregadas de imidacloprid (56 µL/mL), deltamethrin (32 µL/mL) e dimethoate (56 µL/mL) são apropriadas para o monitoramento da suscetibilidade de *D. citri*.

- Não foram verificadas variações na suscetibilidade a imidacloprid, deltamethrin e dimethoate para as populações de *D. citri* monitoradas em 2010, 2011 e 2012;

- Áreas sem ou com baixa pressão de seleção são relevantes para manutenção da suscetibilidade de *D. citri*.

Referências

BASSANEZI, R.B.; LOPES, S.A.; BELASQUE Jr, J.; SPÓSITO, M.B.; YAMAMOTO, P.T.; MIRANDA, M.P.; TEIXEIRA, D.C.; WULFF, N.A. Epidemiologia do huanglongbing e suas implicações para o manejo da doença. **Citrus Research & Technology**, Cordeirópolis, v. 31, n. 1, p. 11 - 23, 2010.

BELASQUE Jr, J.; BERGAMIN FILHO, A.; BASSANEZI, R.B.; BARBOSA, R.B.; BARBOS, J.C.; FERNANDES, N.G.; YAMAMOTO, P.T.; LOPES, S.A.; MACHADO, M.A.; LEITE Jr, P.R.; AYRES, A.J.; MASSARI, C.A. Base científica para a erradicação de plantas sintomáticas e assintomáticas de Huanglongbing (HLB, Greening) visando o controle efetivo da doença. **Tropical Plant Pathology**, Brasília, v. 34, n. 3, p. 137 - 145, 2009.

BELASQUE Jr, J.; BARBOSA, J.C.; MASSARI, C.A.; AYRES, A. J. Incidência e distribuição do huanglongbing no estado de São Paulo, Brasil. Citrus **Research & Technology**, Cordeirópolis, v. 31, n. 1, p. 1 - 9, 2010b

BOINA, D.R.; MEYER, W.L.; ONAGBOLA, E O.; STELINSKI, L.L. Quantifying dispersal of *Diaphorina citri* (Hemipera: Psyllidae) by immunomarking and potential impact of managed groves on commercial citrus management. **Environmental Entomology**, College Park, v. 38, n. 4, p. 1250 - 1258, 2009a.

BOINA, D.R.; ONAGBOLA, E.O.; SALVAANIB, M.; STELINSKI, L L. Antifeedaant and sublethal efects of imidacloprid on Asian citrus psyllid *Diaphorina citri*. **Pest Management Science,** Sussex, v. 65, p. 870 – 877, 2009b.

BOINA, D.R.; ROGERS, M.E.; WANG, N.; STELINSKI, L.L. effect of pyriproxyfen, a juvenile hormone mimic, o egg hatch, nymph development, adult emergence and reproduction of the Asian citrus psyllid, *Diaphorina citri* kuwayama. **Pest Management of Science**, Sussex, v. 66, v. 349 - 357, 2009c.

CARVALHO, S.P.L. **Toxicidade de inseticidas neonicotinóides sobre o psilídeo *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemitera: Psyllidae) e o parasitóide *Tamarixia radiata* (Waterson) (Hymenoptera: Eulophidae)**. 2008. 59p. Tese (Doutorado em Entomologia) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2008.

FOURNIER, D.; BRIDE, J.M.; POIRIE, M.; BERGÉ, J.B.; PLAPP Jr, F.W. Insect Glutiathione S- Transferase. **The Journal of Biological Chemistry**, Bethesda, v. 267, n. 3, p. 184 - 1845, 1992.

GUI, Z.; HOU, C.; LIU, T.; QIN, G.; LI, M.; JIN.B. Effects of insect viruses and pesticides on glutathione s-transferase activity and gene expression in *Bombyx mori*. **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v. 102, n. 4, p. 1591 - 1598, 2009.

GÓMEZ TORRES, M.L. **Estudos bioecológicos de *Tamarixia radiata* (Waterston, 1922) (Hymenoptera: Eulophidae) para o controle de *Diaphorina citri* Kuwayama, 1907 (Hemiptera: Psyllidae).** 2009. 83p. Tese (Doutorado em Entomologia) – Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2009.

GOULD, F. Sustainability of transgenic insecticidal cultivars: integrating pest, genetics and ecology. **Annual Review of Entomology**,Standford, v. 43, p. 701 – 726, 1998.

KOSTAROPOULOS, I.; PAPADOPOULOS, A. I.; METAXAKIS, A.; BOUKOUVALA, E.; PAPADOPOULOU-MURKIDOU, E.; Glutathione S-transferase in the defence against pyrethroids in insects. **Insect Biochemistry and Molecular Biology**, Oxford, v. 31, p. 313 - 319, 2001.

MASCHIO, F. **Ações adotadas pelo citricultor para o manejo do Huanglongbing (HLB, Greening) no parque citrícola paulista**. 2011. 30 p. Dissertação de (Mestrado na área de) Fundo de Defesa da Citricultura. Araraquara, 2011.

LEORA SOFTWARE. **POLO-PC**: A USER'S GUIDE TO Probit or logit analysis. Berleley, 1987. 20p.

MEAD, F.W. **Asian citrus psyllid, *Diaphorina citri* Kuwayama (Insecta: Hemiptera: Psyllidae)**. Gainesville: IFAS/ University of Florida, 2007, 6 p. Disponível em:< http://edis.ifas.ufl.edu/pdffiles/IN/IN16000.pdf> Acesso em: 08 jul. 2012

R CORE TEAM. R: **A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing.** Vienna, Austria. ISBN 3-900051-07-0, Disponível em:< http://www.R-project.org/.> Acesso em: 06/10/12.

SCOTT, J.G. Cytochrome P450 and insecticide resistance. **Insect Biochemistry and Molecular Biology**, Oxford, v. 29, p. 757 - 777, 1999.

SCOTT, J.G.; WEN, Z. Cytochromes p450 of insects: the tip of the iceberg. **Pest Management of Science**, Sussex, v. 57, p. 958 - 967, 2001.

STUCHI E. S.; GIRARDI, E.A. **Utilização de práticas culturais na citricultura frente ao Huanglongbing**. EMBRAPA Mandioca e Fruticultura, Cruz das Almas, BA. MAPA, 2010. 77 p.

TIWARI, S.; MANN, R.S.; ROGERS, M.E.; STELINSKI, L.L. Insecticide resistance in field populations of Asian citrus psyllid in Florida. **Pest Management Science**, Sussex, v. 67, p. 1258 - 1268, 2011a

TIWARI, S.; PELZ-STELINSKI, K.; STELINSKI, L.L. Effec of *Candidatus* Liberibacter asiaticus infection on susceptibility of Asian citrus psyllid, *Diaphorina citri*, to selected insecticides. **Pest Management of Science**, Sussex, v. 67, p. 94 - 99, 2011b

TIWARI, S.; PELZ-STELINSKI, K.; MANN, R.; STELINSKI, L. L. Gluathione transferase and cytocrome P450 (General Oxidadase) activity levels in *Candidatus* Liberibacter Asiaticus-Infected and uninfected asian citrus psyllid (Hemipera: Psyllidae), **Annals Entomological Society American**, Washington, v. 104, n. 2, p. 297 - 375, 20011c

TOMASETO, A. F. **Capacidade de dispersão de *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae).** 2012. 78p. Dissertação (Mestrado em Entomologia) – Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2012.

YAMAMOTO, P.T. Controle de insetos vetores de bactérias causadoras de doenças em citros. In: _____. **Manejo Integrado de Pragas dos Citros**. Piracicaba;Editora Piracicabana, 2008. cap. 8, p. 237-260.

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

YAMAMOTO, P.T.; PAIA, P.E.B.; GRAVENA, S. Flutuação populacional de *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae) em pomares de citros na região norte do estado de São Paulo. **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 30, n. 1, p. 165-170, 2001

4 INTERAÇÃO DE IMIDACLOPRID COM INSETICIDAS E FUNGICIDAS NO MANEJO DA RESISTÊNCIA DE *Diaphorina citri* (HEMIPTERA: LIVIIDAE)

Resumo

O inseticida imidacloprid é amplamente utilizado no controle de *Diaphorina citri* (Hemiptera: Liviidae). Devido à grande incidência de pragas e doenças na cultura de citros, a mistura de produtos fitossanitários em tanque de pulverização tem sido uma prática comum. Entretanto, se desconhece o efeito da interação desses produtos sobre as espécies alvo. Nesse sentido, no presente estudo foi avaliado o efeito da interação de imidacloprid com outros inseticidas e fungicidas no manejo de *D. citri*. As interações de imidacloprid com deltamethrin ou dimethoate foram testadas com as CL_{25} dos respectivos inseticidas em bioensaio de contato residual. As interações foram aditivas sobre a mortalidade de adultos em condições de campo e de casa de vegetação. A mistura de imidacloprid com buprofezin e pyriproxyfen sobre ninfas de 3º instar também foi aditiva. A atividade biológica das concentrações campo de imidacloprid (40µL/mL) e buprofezin (375µg/mL) e da mistura dos mesmos mostrou uma degradação da atividade similar para o controle de *D. citri* em condições de campo e casa de vegetação. A avaliação da persistência da mistura de imidacloprid e pyriproxyfen (avaliado nas concentrações de 6,25µg/mL e 100µg/mL) indicou que pyriproxyfen teve degradação mais rápida que imidacloprid. A mistura de imidacloprid na CL_{25} para *D. citri* com a concentração de campo dos fungicidas benzimidazol (500µg/mL de tiofanato-metilico), estrubilurina (37,5µg /mL de piraclostrobina) e triazol (50µg/mL de difenoconazol) não afetaram o desempenho de imidacloprid.

Palavras-chave: Mistura; Resistência; Psilídeo; Estratégias de manejo

Abstract

The insecticide imidacloprid is widely used in the control of *Diaphorina citri* (Hemiptera: Liviidae). Due to the high incidence of other pests and diseases in citrus, mixture of pesticides in the spray tank has been a common practice. However, the effect of interaction of pesticides is not known on the target species. In this study, we evaluated the interaction of imidacloprid with other insecticides and fungicides for managing *D. citri*. The interactions of imidacloprid with deltamethrin or dimethoate were tested with the LC_{25} of each insecticide with residual contact bioassays. The interactions of these insecticides were additive on *D. citri* adult mortality under field or greenhouse conditions. The interactions of imidacloprid with buprofezin and pyriproxyfen were additive on 3rd instar nymphs. The biological activity at field rates of imidacloprid (40µl/mL) and buprofezin (375µg/mL) as well as the mixture of these insecticides showed a similar degradation in the activity to control *D. citri* under field and greenhouse conditions. The evaluation of the persistence of the mixture of pyriproxyfen and imidacloprid (evaluated at concentrations of 6.25 µg/mL and 100µg/mL) indicated that pyriproxyfen degradation was faster than imidacloprid. The mixture of LC_{25} of imidacloprid to *D. citri* with fungicides field rates of benzimidazole (500µg/mL of thiophanate-methil), strobilurin (37.5 µg/mL of pyraclostrobin), and triazole (50µg/mL of difenoconazole) did not affect the performance of imidacloprid.

Keywords: Mixture; Resistance; psyllid; Management strategies

4.1 Introdução

O inseticida imidacloprid está entre os produtos mais utilizados para o controle de *Diaphorina citri* (Hemiptera: Liviidae). Devido à grande incidência de pragas e doenças na cultura de citros no Brasil, mistura de produtos fitossanitários em tanque de pulverização visa à economia de tempo, redução do trabalho e custos (BUFFINGTON; McDONALD, 2006). Entretanto, apesar de rotineiras, não se sabe o efeito desta interação sobre *D. citri*, pois além de fatores como a incompatibilidade física e química dos produtos em mistura (BUFFINGTON; McDONALD, 2006) a eficiência destes produtos pode ser comprometida (FABBRIN, 2009).

A mistura de inseticidas é uma estratégia que pode preservar a eficiência de imidacloprid. Seu uso em um programa de manejo da resistência de insetos (MRI) é viável (MARTIN et al., 2003), podendo retardar a resistência de modo mais efetivo que a rotação (ROUSH, 1993). Entretanto para seu sucesso, devem ser observados fatores como a existência de baixa frequência inicial de alelos de resistência, ausência de resistência cruzada, presença de áreas de refúgio para insetos suscetíveis, além da compatibilidade e persistência biológica semelhante entre os produtos (ROUSH, 1989; TABASHNIK, 1989). Neste contexto, estudos de persistência e compatibilidade dos inseticidas utilizados no controle de *D. citri* são de grande importância.

A persistência está ligada à duração da atividade biológica do inseticida. O ideal é que um inseticida controle uma praga por um período de tempo, e posteriormente seja degradado (GREENHALGH et al., 1980). Em um programa de MRI utilizando a mistura de inseticidas, a persistência semelhante está associada ao fato de que se um produto perder a atividade biológica rapidamente vai favorecer a seleção de insetos resistentes ao produto com a maior persistência (DENHOLM; ROWLAND, 1992).

Já na avaliação da compatibilidade de produtos fitossanitários podem ocorrer interações sinérgicas, aditivas ou antagônicas. No sinergismo há a potencialização dos inseticidas em mistura (ALL et al., 1997; GUNNING et al., 1999; ARCHER et al., 1994; CORBEL et al., 2002, 2003). No antagonismo um produto age de modo negativo sobre o outro, com uma baixa mortalidade da mistura quando comparada aos produtos isolados. No efeito aditivo a toxicidade é independente, onde a mortalidade da mistura é próxima à soma da mortalidade dos produtos isolados (ALVES; OMOTO; FRANCO, 2000; JONES et al. 2012).

O estudo da mistura de imidacloprid com outros inseticidas pode preservar sua eficiência sobre *D. citri*. Um dos benefícios da mistura está no sinergismo, onde as concentrações dos produtos em mistura podem ser reduzidas (ATTIQUE et al., 2006), proporcionando uma menor contaminação ambiental. Neste contexto, a avaliação da mistura de imidacloprid com outros inseticidas neurotóxicos pode promover um amplo efeito sobre adultos e apresentar sinergismo. Já o emprego de inseticidas reguladores de crescimento de insetos (RCI) pode ser uma alternativa viável em mistura com imidacloprid, pois além de possuírem modos de ação distintos, a mistura pode proporcionar um controle efetivo sobre adultos e ninfas (TIWARI et al., 2012; BOINA et al., 2009).

Deste modo, visando o emprego da estratégia da mistura de inseticidas em um programa de MRI de *D. citri* foram avaliados os efeitos da mistura de imidacloprid com deltamethrin e dimethoate sobre adultos e também o efeito da interação de imidacloprid com buprofezin e pyriproxyfen sobre ninfas. Devido à inexistência de informações sobre o efeito da mistura de imidacloprid com fungicidas em tanque de pulverização sobre o psilídeo, também foi verificada a interação de imidacloprid e três fungicidas empregados na citricultura sobre a mortalidade de *D. citri*.

4.2 Material e métodos

4.2.1 Coleta e manutenção de insetos em laboratório

Os insetos utilizados foram provenientes de uma criação iniciada em 2009, a partir de adultos de *D. citri* coletados em Piracicaba, Brasil (22º42’29,27”S; 47º37’47,15’W). Esta população foi mantida sobre murta (*Murraya paniculata* L.) em condições laboratoriais de 25±1°C, UR: 70±10% e fotofase de 14 h.

4.2.2 Produtos fitossanitários utilizados

Os bioensaios foram conduzidos com inseticidas e fungicidas na sua formulação comercial. Os produtos são indicados para uso em pomares citrícolas (Quadro 1). Para o inseticida buprofezin foi empregada a maior concentração permitida, indicada para controle de *Saissetia oleae* (Hemiptera: Coccidae). Para pyriproxyfen foram empregadas duas concentrações, a indicada para controle de *D. citri* (pyriproxyfen 1) e a maior concentração permitida (pyriproxyfen 2) (Quadro 1).

Produto comercial	Principio ativo	Grupo químico	Classe[4]	Recomendação
Provado® 200 SC	Imidacloprid	Imidacloprid	I	20 mL.100 L^{-1} (40 µg/mL)
Decis® 25 EC Nortox	Deltamethrin	Piretroide	I	50 mL.100 L^{-1} (12,5 µg/mL)
Dimetoato® 500 CE	Dimethoate	Organofosforado	I/A	300 mL.100 L^{-1} (1500 µg/mL)
Applaud® 250	Buprofezin[1]	Regulador de crescimento	I	200 gramas.100 L^{-1} (375 µg/mL)
Tiger® 100 EC	Pyriproxyfen 1[2]	Regulador de crescimento	I	6,25 mL.100 L^{-1} (6,25 µg/mL)
	Pyriproxyfen 2[3]	Regulador de crescimento	I	100 mL.100 L^{-1} (100 µg/mL)
Score®	Difenoconazol	Triazol	F	20 mL.100 L^{-1} (50 µg/mL)
Comet®	Piraclostrobina	Estrubilurina	F	15 mL.100 L^{-1} (37,5 µg/mL)
Cercobin 500SC®	Tiofanato metílico	Benzimidazol	F	100 mL.100 L^{-1} (500 µg/mL)

Quadro 1 - Produtos fitossanitários utilizados nas avaliações de misturas e persistência. [1] Produto permitido na citricultura, mas não permitido para controle de *D. citri*, concentração utilizada para controle de *Saissetia oleae* (Hemiptera: Coccidae). [2] Recomendação para controle de ninfas de *D. citri*. [3] Maior concentração permitida na citricultura, recomendada para controle de *Parlatoria cinerea* (Hemiptera: Diaspididae). [4]A = acaricida, F = fungicida, I = inseticida

4.2.3 Linha básica de suscetibilidade

4.2.3.1 Adultos de *D. citri*

Na estimativa da linha básica de suscetibilidade para adultos de *D. citri* a imidacloprid, deltamethrin e dimethoate foram utilizadas entre cinco e oito concentrações espaçadas logaritimicamente, proporcionando uma mortalidade entre 5 e 95% dos insetos. Nestes bioensaios foram utilizados discos foliares com 3,3 cm de diâmetro confeccionados com folhas de laranjeira ‘Pera Rio’ e mantidos sobre algodão umedecido até a pulverização. A aplicação foi feita sobre a superfície abaxial dos discos com o uso da torre de Potter (Burkard Manufacturing, Rickmansworth Herts, Reino Unido) calibrada à de 10 psi (68,95 kPa). Em cada pulverização foi utilizado 2 mL de solução, com uma deposição residual média de 1,56 mg/cm². Após a pulverização, os discos foram novamente acondicionados sobre algodão umedecido até a secagem do

produto, sendo em seguida colocados em placas acrílicas de 3,5 cm de diâmetro (Falcon 1008, Becton Dickinson Labware, Lincoln park, NJ, USA), contendo uma mistura de ágar-água (2%). Posteriormente, os discos foliares foram infestados com 10 adultos de *D. citri* anestesiados com CO_2, sendo as placas tampadas e mantidas em câmara climatizada (25±1°C, 70±1% UR e fotofase de 14h).

O delineamento experimental adotado foi o inteiramente casualizado. Para cada concentração foram realizadas cinco repetições. Cada repetição foi formada por quatro placas com 10 psilídeos cada. Avaliações de mortalidade foram feitas após 24 horas da pulverização. Com o auxilio de um pincel de cerdas finas os insetos foram dispostos com a parte dorsal voltada para baixo e aqueles que não voltaram à posição normal e caminharam, foram considerados mortos. Os dados de mortalidade foram submetidos à análise de Probit (Polo-PC - Leora Software, 1987).

4.2.3.2 Ninfas de *D. citri*

Para a estimativa da linha básica de suscetibilidade de ninfas, foram utilizadas murtas cultivadas em vasos plásticos (12,5 × 11,5 cm) com ≈ 20 cm de altura. Em cada planta foi selecionada uma brotação tenra. Esta brotação teve suas folhas retiradas e em seguida, com o auxílio de um microscópio estereoscópio e um pincel de cerdas finas, foram transferidas 10 ninfas de 3º instar. Estas ninfas ficaram confinadas sobre a brotação com gaiolas confeccionadas a partir de copos plásticos com a parte superior e lateral retirada e coberta por tecido "*voal*".

O bioensaio empregado foi o de contato direto e residual. Após 24 h da infestação de ninfas sobre as brotações, foram feitas pulverizações com diferentes concentrações de buprofezin, pyriproxyfen e imidacloprid, espaçadas de modo logarítmico e proporcionando mortalidades entre 5 e 95% das ninfas. O pulverizador utilizado foi constituído por um cilindro plástico (40,5 × 11cm), com uma das extremidade aberta para entrada das brotações e na outra extremidade com um bico pulverizador empregado em torre de Potter (Burkard Manufacturing, Rickmansworth Herts, Reino Unido). Este bico foi ligado a uma bomba de pressão calibrada a 10 psi (12 lbf/pol²). Para cada pulverização foi usado 1 mL de solução, obtendo-se uma deposição residual média de 0,12 mg/cm². Após as pulverizações, as plantas foram mantidas em sala climatizada (25 ± 2ºC, UR: 70 ± 10% e fotofase de 14 h).

As avaliações de mortalidade para os IRCs foram realizadas após sete dias e para o imidacloprid as avaliações foram feitas após 24 h da pulverização, com o auxilio de um microscópio estereoscópico e um pincel de cerdas finas. As ninfas foram viradas com a parte dorsal voltada para baixo, e aquelas que não voltaram à posição normal e caminharam foram consideradas mortas.

O delineamento experimental adotado foi o inteiramente casualizado. Para cada concentração testada foram realizadas cinco repetições, sendo cada repetição formada por quatro brotações com 10 ninfas cada. Os dados de mortalidade foram submetidos à análise de Probit (Polo-PC - Leora Software, 1987).

4.2.4 Avaliação da mistura de imidacloprid e outros inseticidas na mortalidade de adultos de *D. citri*

A mistura de imidacloprid e outros inseticidas na mortalidade de adultos foram avaliados com bioensaios de contato residual (Item 4.2.3.1). Foram pulverizadas as CLs_{25} de imidacloprid (1,99 µg/mL), deltamethrin (3,19 µg/mL) e dimethoate (12,52 µg/mL) isoladas e em mistura. A interação entre os inseticidas foi verificada com a comparação entre a mortalidade observada e a esperada dos produtos isolados e em mistura. A mortalidade esperada foi obtida pela soma da mortalidade proporcionada pela CL_{25} de cada inseticida individualmente (ALVES; OMOTO; FRANCO, 2000). Se os inseticidas apresentarem interação aditiva, a mortalidade da mistura deve ser próxima à mortalidade esperada. Se ocorrer uma interação sinérgica, a mistura deve proporcionar uma mortalidade superior à mortalidade esperada. E se houver antagonismo, a mortalidade proporcionada pela mistura deve ser inferior à mortalidade esperada.

O delineamento experimental adotado foi o inteiramente casualizado, sendo avaliada as CL_{25}s dos inseticidas de modo isolado e as misturas imidacloprid + deltamethrin e imidacloprid + dimethoate. Para cada tratamento foram realizadas cinco repetições. Cada repetição foi formada por 4 placas acrílicas com 10 adultos de *D. citri*. Os dados da mortalidade esperada e observada das misturas foram submetidos ao teste de Qui-quadrado (χ^2) ao nível de significância de 5%.

4.2.5 Avaliação da mistura de imidacloprid e fungicidas sobre a mortalidade de adultos de *D. citri*

O efeito da mistura de imidacloprid e fungicidas sobre adultos foram avaliadas com bioensaios de contato residual (Item 4.2.3.1). Foram utilizadas a CL_{25} do imidacloprid (1,99 µg/mL) e as concentrações empregadas na citricultura para os fungicidas (Quadro1). As avaliações de mortalidade foram realizadas após 24 horas da pulverização. Com o auxilio de um pincel de cerdas finas os psilídeos foram dispostos com a parte dorsal voltada para baixo e aqueles que não voltaram à posição normal e caminharam, foram considerados mortos.

O delineamento adotado foi o inteiramente casualizado, sendo avaliada a mortalidade dos produtos isolados e as misturas imidacloprid + difenoconazol, imidacloprid + piraclostrobina e imidacloprid + tiofanato-metílico. Para cada tratamento foram feitas cinco repetições, sendo cada repetição formada por 4 placas acrílicas com 10 adultos de *D. citri*. Os dados da mortalidade observada foram comparados com a mortalidade esperada pelo teste de Qui-quadrado (χ^2) ao nível de significância de 5%.

4.2.6 Avaliação da mistura de imidacloprid e inseticidas RCIs na mortalidade de ninfas de *D. citri*

O efeito da mistura das CL_{25}s estimadas para imidacloprid (2,82 µL/mL), pyriproxyfen (59,87 µL/mL) e buprofezin (99,26 µL/mL) sobre ninfas de 3° instar foi avaliado através de bioensaios de contato direto e residual (Item 4.2.3.2). A partir da pulverização da CL_{25} dos inseticidas isolados e em mistura, foi verificado o tipo de interação mediante a comparação entre a mortalidade observada e esperada das ninfas.

As avaliações de mortalidade foram realizadas após sete dias para os IRCs e para imidacloprid após 24 horas e sete dias da pulverização, com o auxilio de um microscópio estereoscópico e um pincel de cerdas finas, com o mesmo critério de mortalidade reportado anteriormente.

O delineamento experimental adotado foi o inteiramente casualizado, sendo avaliada a mortalidade dos produtos isolados e as misturas imidacloprid + buprofezin e imidacloprid + pyriproxyfen. Para cada tratamento foram feitas cinco repetições, sendo cada repetição formada por quatro brotações, com 10 ninfas cada. Os dados da mortalidade observada foram comparados com a mortalidade esperada pelo teste de Qui-quadrado (χ^2) ao nível de significância de $\alpha = 0,05$.

4.2.7 Avaliação da persistência de imidacloprid isolado e em mistura com outros inseticidas sobre a mortalidade de adultos de *D. citri*.

Para avaliar a duração da atividade biológica de imidacloprid, deltamethrin e dimethoate isolados e das misturas de imidacloprid com estes inseticidas foi utilizado o bioensaio de contato residual. As concentrações pulverizadas isoladamente e em mistura foram as recomendas para controle de pragas na citricultura (Quadro1).

Cada tratamento foi pulverizado até o ponto de escorrimento sobre duas plantas de citros 'Valência' com altura entre 120 e 200 cm, cultivadas em vasos plásticos. As pulverizações foram feitas com um pulverizador costal equipado com bico cone vazio de vazão constante, com capacidade para 10 litros. Após a pulverização, metade dos vasos foi acondicionada em casa de vegetação e a outra metade permaneceu em condições de campo. As avaliações foram realizadas três horas, 1, 3, 5, 7, 14, 21, 28, 35, 42, 49, 56, 63, 70 e 77 dias após a pulverização (DAP), com a coleta de folhas para realização dos bioensaios de contato residual (Item 4.2.3.1). As avaliações de mortalidade foram realizadas após 24 horas com o mesmo critério de mortalidade reportado anteriormente.

O delineamento adotado foi o inteiramente casualizado, sendo avaliados os tratamentos: imidacloprid, deltamethrin, dimethoate, imidacloprid + deltamethrin e imidacloprid + dimethoate. Para cada data de avaliação foram feitos cinco repetições. Cada repetição foi formada por um disco de folha com 10 psilídeos adultos. Os dados obtidos foram submetidos a análises de modelos lineares generalizados (MLG) (NELDER; WEDDERBURN, 1972) do tipo quase-Poisson. Quando houve diferença significativa entre os tratamentos, comparações múltiplas (Tukey, $p<0,05$) foram realizadas com a função glht do pacote multicomp com ajuste dos valores de p. As análises foram realizadas com o software estatístico "R", versão 2.15.1 (R DEVELOPMENT CORE TEAM, 2012).

4.2.8 Avaliação da persistência de inseticidas isolados e em mistura sobre ninfas de 1º instar de *D. citri*

Para a avaliação da persistência de imidacloprid isolado e em mistura com buprofezin e pyriproxyfen sobre ninfas de 1º instar, as concentrações utilizadas isoladamente e em mistura foram as recomendas para controle de pragas na citricultura (Quadro1). Para o inseticida buprofezin, por não ser registrado para *D. citri*, foi

empregada a maior concentração permitida, recomendada para o controle de *Saissetia oleae* (Hemiptera: Coccidae). Para o inseticida pyriproxyfen, além da concentração recomendada para *D. citri*, também foi avaliada a maior concentração permitida para a cultura, empregada no controle de *Parlatoria cinerea* (Hemiptera: Diaspididae). O emprego de duas concentrações foi devido ao fato que na estimativa da curva de concentração resposta, a CL_{50} foi de 110 µg/mL e a concentração recomendada para *D. citri* foi de 6,25 µg/mL.

Cada tratamento foi pulverizado sobre 30 plantas de murta mantidas em vasos. As pulverizações foram realizadas com um pulverizador costal (Item 4.2.7) até o ponto de escorrimento. Após a pulverização quinze plantas pulverizadas com cada um dos inseticidas isolados e em mistura foram acondicionadas em estufa telada e coberta e o restante foi mantido em condições de campo. Após três horas, 1, 3, 5, 7, 14, 21, 28, 35, 42 e 49 DAP, ramos verdes com residual inseticida sofreram uma poda de "toalete" para eliminar o excesso de folhas e com o auxílio de um microscópio estereoscópio e um pincel de cerdas finas foram inoculadas 10 ninfas de 1º instar do psilídeo. As ninfas foram acondicionadas na base do pedúnculo das folhas. Após a inoculação os ramos foram isolados por uma gaiola e mantidos a 25±1°C, 70±1% UR e fotofase de 14h.

As avaliações de mortalidade foram realizadas sete dias após a pulverização, com o auxilio de um microscópio estereoscópico e um pincel de cerdas finas, com o mesmo critério de mortalidade reportado anteriormente.

O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado com sete tratamentos: imidacloprid, buprofezin, pyriproxyfen1 (concentração recomendada), pyriproxyfen2 (maior concentração permitida), imidacloprid + buprofezin, imidacloprid + pyriproxyfen1 e imidacloprid + pyriproxyfen2. Para cada tratamento foram realizadas cinco repetições, sendo cada repetição formada por uma brotação com 10 ninfas. Os dados obtidos foram submetidos a análises com modelos lineares generalizados (MLG) (NELDER; WEDDERBURN, 1972) do tipo quase-Poisson. Quando houve diferença significativa entre os tratamentos, comparações múltiplas (Tukey, $p<0,05$) foram realizadas com a função glht do pacote multicomp com ajuste dos valores de *p*. As análises foram realizadas com o software estatístico "R", versão 2.15.1 (R DEVELOPMENT CORE TEAM, 2012).

4.3 Resultados

4.3.1 Linha básica de suscetibilidade

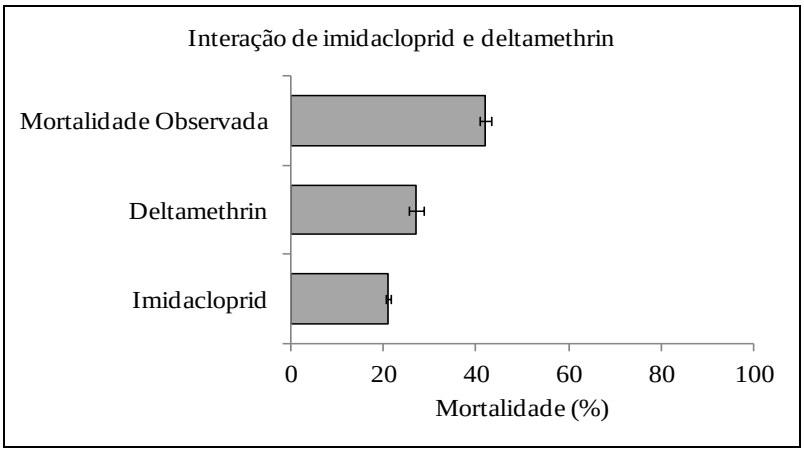
Os resultados da caracterização toxicológica de adultos e ninfas de *D. citri* aos inseticidas empregados neste trabalho encontram-se descritos na Tabela 4.1.

Tabela 4.1 – Caracterização toxicológica de adultos e ninfas de *D. citri* aos inseticidas imidacloprid, deltamethrin, dimethoate, buprofezin e pyriproxyfen

Produto	n	Coeficiente angular (±ep)	CL_{50} (IC 95%)	CL_{25} (IC 95%)	χ^2	gl	h
			Adultos				
Imidacloprid	1800	1.612(±0,06)	5,21 (4,59-5,95)	1,99 (1,69-2,33)	8,60	7	1,23
Deltamethrin	1209	1,90 (±0,134)	7,92 (4,98-10,52)	3,19 (2,72-3,67)	7,31	3	2,42
Dimethoate	1905	3,16 (±0,135)	20,73 (18,8-22,80)	12,52 (9,84-14,90)	11,64	3	3,88
			Ninfas				
Imidacloprid	694	1,28 (±0,006)	9,44 (7,66-12,32)	2,82 (2,26-3,34)	1,91	3	0,27
Buprofezin	794	3,185 (±0,22)	161,61 (146,25-177,82)	99,25 (86,4-111,8)	1,44	3	0,48
Pyriproxyfen	1224	2,17 (±0,125)	122,41 (110,37-135,35)	59,87 (51,51-68,6)	1,40	4	0,35

4.3.2 Avaliação da mistura de imidacloprid e outros inseticidas na mortalidade de adultos de *D. citri*

A mistura de imidacloprid com deltamethrin e dimethoate não apresentou efeitos sinérgicos ou antagônicos sobre a mortalidade de adultos de *D. citri*. A mistura de imidacloprid e deltamethrin apresentou interação aditiva ($\chi^2 = 0,89$; g.l. = 4; $p < 0,05$). A mortalidade proporcionada pelas CLs_{25} de imidacloprid e deltamethrin foram respectivamente de 21% e 27%, com uma variação não significativa entre a mortalidade observada (MO) (42%) e a mortalidade esperada (ME) (47%) (Figura 4.1). Para a mistura de imidacloprid e dimethoate, a interação também foi aditiva, com a mortalidade proporcionada pela mistura (MO) não se diferenciando da soma da mortalidade dos produtos isolados (ME) ($\chi^2 = 1,54$; g.l. = 4; $p < 0,05$). Nesta avaliação as CLs_{25} de imidacloprid e dimethoate proporcionaram respectivamente uma mortalidade de 27% e 25%, com uma variação não significativa entre a MO (53%) e a ME (60%) (Figura 4.1).



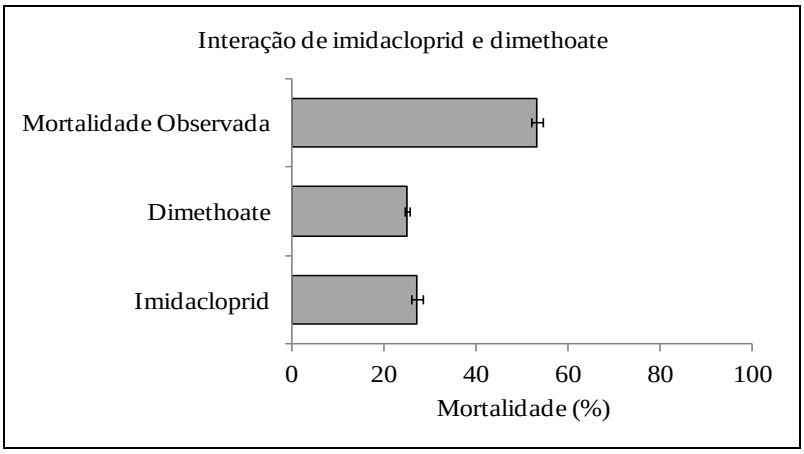


Figura 4.1 - Mortalidade (±epm) de adultos de *D. citri* expostos as CL_{25} dos inseticidas imidacloprid (1,99µg/mL), deltamethrin (3,19µg/mL) e dimethoate (12,52µg/mL)

4.3.3 Avaliação da mistura de imidacloprid e fungicidas sobre a mortalidade de adultos de *D. citri*

A mistura com fungicidas não afetou o desempenho do inseticida. As misturas de imidacloprid e tiofanato-metílico (χ^2 = 1,40; g.l. = 3; p < 0,05), imidacloprid e piraclostrobina (χ^2 = 0,09; g.l. = 3; p < 0,05) e imidacloprid e difenoconazol (χ^2 = 0,82; g.l. = 4; p < 0,05) não apresentaram interações antagônicas. A avaliação da CL_{25} imidacloprid (1,99µg/mL) com a concentração de campo de tiofanato-metílico (500µg/mL) não demonstrou diferenças entre a MO (27%) e a ME (31%), com o inseticida proporcionando uma mortalidade de 29% e tiofanato-metílico apresentando um leve efeito inseticida (11%). Do mesmo modo, para mistura com piraclostrobina (37,5µg/mL), o inseticida causou uma mortalidade de 24% e o fungicida de 12%, não

sendo significativa a diferença entre a MO (24%) e ME (26%). Para mistura com difenoconazol (50µg /mL) as diferenças entre a MO (40%) e a ME (34%) não foram significativas, com o inseticida causando 23% de mortalidade e o fungicida de 11% (Figura 4.2).

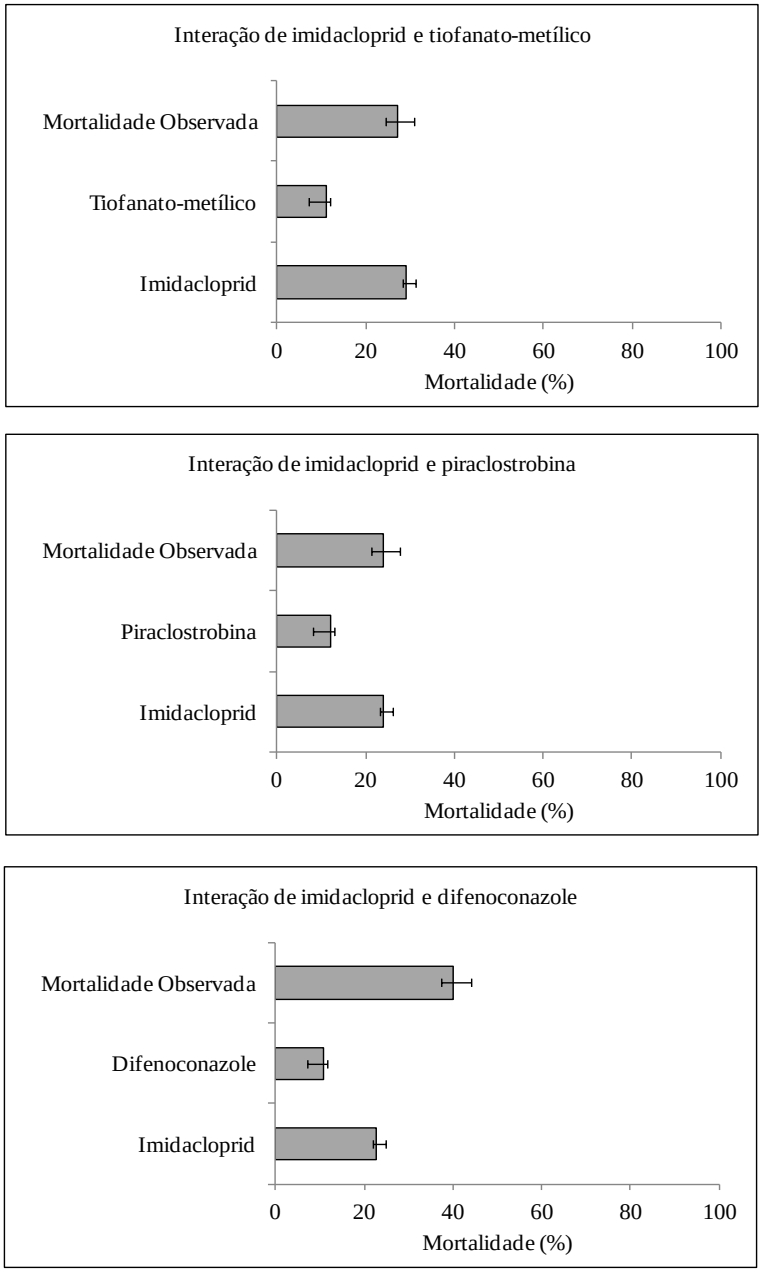
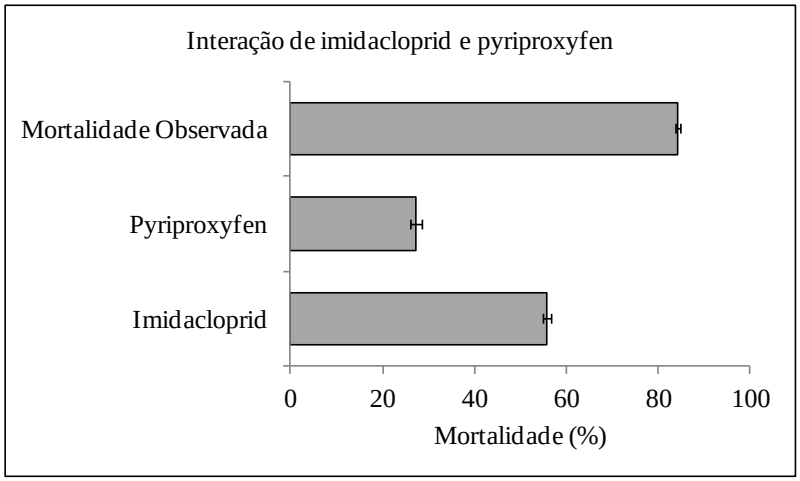


Figura 4.2 - Mortalidade (±epm) de adultos de *D. citri* expostos as CL_{25} de imidacloprid (1,99µg/mL) e as concentrações de campo de tiofanato-metílico (500µg/mL), piraclostrobina (37,5µg/mL) e difenoconazol (50µg /mL)

4.3.4 Avaliação da mistura de imidacloprid e inseticidas RCIs na mortalidade de ninfas de *D. citri*

O efeito da mistura de imidacloprid e os reguladores de crescimento de insetos pyriproxyfen e buprofezin foram compatíveis, não ocorrendo o comprometimento do desempenho dos produtos em mistura com imidacloprid sobre a mortalidade de ninfas de 3º instar de *D. citri*. A mistura de imidacloprid e pyriproxyfen ($\chi^2 = 0,49$; g.l. = 4; $p < 0,05$) apresentou interação aditiva (Figura 4.3). Após 7 dias, a mortalidade apresentada por pyriproxyfen foi de 27 %, enquanto a mortalidade de imidacloprid foi de 55%. A alta mortalidade causada pelo neonicotinoide proporcionou uma alta MO (85%). Entretanto isso foi devido ao tempo de exposição de *D. citri* aos inseticidas, pois a CL_{25} de imidacloprid foi estimada em avaliações em 24 h, e neste período a mortalidade causada pelo neonicotinoide foi de 24,4%. Do mesmo modo, observou-se uma interação aditiva na mistura de imidacloprid e buprofezin ($\chi^2 = 2,75$; g.l. = 4; $p < 0,05$). Os resultados mostraram uma mortalidade de 29% para CL_{25} do buprofezin, com uma a MO (87%) não se diferenciando da ME (86,7%). Assim como no bioensaio anterior, a longa atuação de imidacloprid fez com que a MO aos sete dias de avaliação fosse de 55,9% (Figura 4.3).



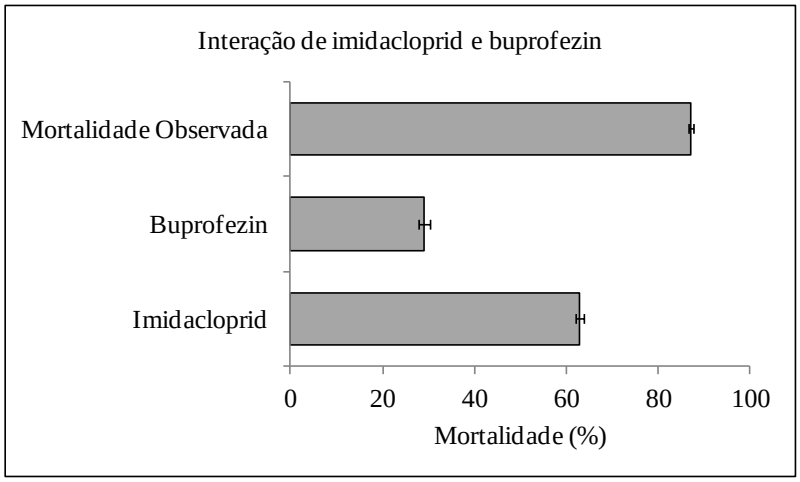


Figura 4.3 - Mortalidade (±epm) de ninfas de 3º instar de *D. citri* expostas as CL_{25} dos inseticidas imidacloprid (2,82µg/mL), pyriproxyfen (59,77µg/mL) e buprofezin (99,26µg/mL) isolados e em mistura

4.3.5 Avaliação da persistência de inseticidas isolados e em mistura sobre adultos de *D. citri* em condições de campo e casa de vegetação.

Em condições de campo, a mistura de imidacloprid e deltamethrin causou uma mortalidade similar à observada para os produtos isolados. As avaliações com 3 h, 1 e 3 dias após a pulverização (DAP) apresentaram uma mortalidade de 100% para mistura (Figura 4.4; Tabela 4.2). As avaliações no 5º e 7º DAP mostraram uma queda na eficiência da mistura de 14%, entretanto os produtos isolados tiveram uma perda similar da atividade biológica, sem diferenças significativas entre os tratamentos (Figura 4.4; Tabela 4.2). No 14º DAP a redução na mortalidade da mistura, imidacloprid e deltamethrin foram de 80%, 95% e 67% respectivamente quando comparada ao 7º DAP, sendo esta a única avaliação com diferenças significativas entre os tratamentos, com imidacloprid apresentando a menor atividade biológica (F = 7,73; g.l. = 2,12; p = 0,0069) (Tabela 4.2). A redução na atividade biológica foi mais acentuada no 21º DAP, com uma mortalidade oscilando entre 2 e 10% entre os tratamentos, entretanto no 28º DAP houve um incremento na mortalidade com uma redução gradual no 35º DAP até a completa ausência de atividade biológica no 49º DAP (Figura 4.4; Tabela 4.2).

Em condições de casa de vegetação, a mistura e os inseticidas isolados apresentaram uma degradação similar até 77º dias de avaliação. De modo diferente ao observado em condições de campo, a degradação foi mais longa e sem oscilações bruscas da atividade biológica dos inseticidas (Figura 4.4). Os tratamentos não apresentaram diferenças significativas durante a degradação, com uma mortalidade superior a 80% até o 14º DAP (Tabela 4.2). No 21º DAP houve diferença entre os tratamentos (F = 6,89; g.l. = 2, 12; p = 0,0101), onde a mortalidade da mistura foi ≈ 30% menor que a observada para imidacloprid (87,50%), mas não se diferenciou do deltamethrin (Tabela 4.2). Entretanto, no 28º DAP a mistura voltou a apresentar uma atividade biológica similar aos inseticidas isolados, com mortalidades superiores a 85%. Nas avaliações entre o 35º e 77º DAP a redução da atividade biológica ocorreu de modo gradativo (Figura 4.4), não ocorrendo diferenças entre os tratamentos em nenhuma das avaliações (Tabela 4.2).

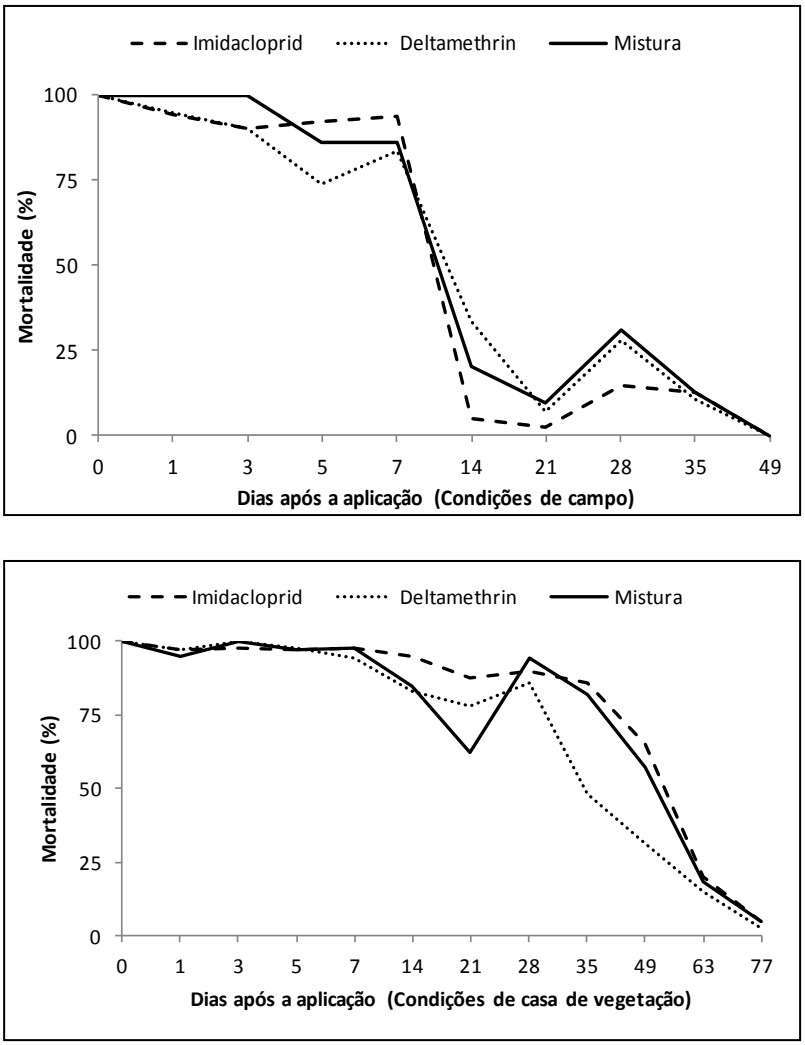


Figura 4.4 - Mortalidade de adultos de *D. citri* expostos a diferentes idades residuais dos inseticidas imidacloprid (40µg/mL) e deltamethrin (12,5µg/mL) isolados e em mistura

Tabela 4.2 - Mortalidade (±epm) de adultos de *D. citri* expostos a diferentes idades residuais de imidacloprid e deltamethrin isolados e em mistura com bioensaio de contato residual durante 24 h

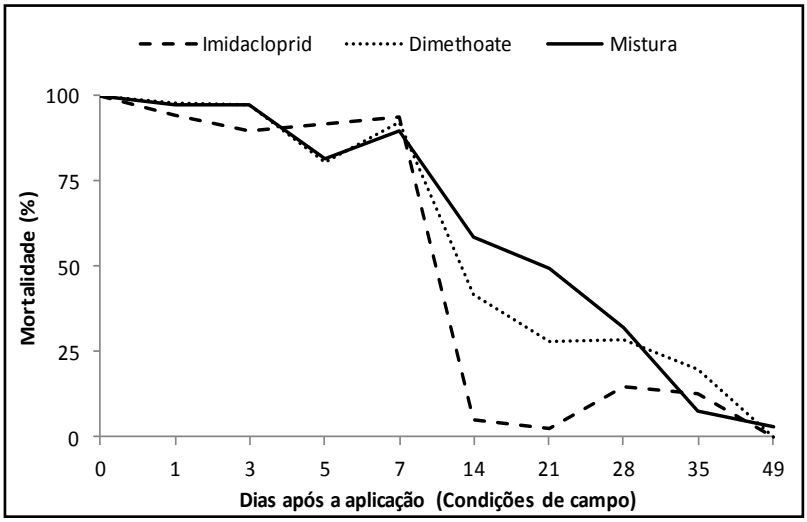
Tratamento[1]	**% mortalidade emcampo - Dias Após Pulverização (DAP)**											
	0	**1**	**3**	**5**	**7**	**14**	**21**	**28**	**35**	**49**	**-**	**-**
Imidacloprid	100,0 (0,0)*	94,4 (2,5)	90,0 (3,2)	91,9 (4,1)	93,9 (2,8)	5,00 (2,2) b	2,8 (1,8)	14,8 (3,9)	12,5 (5,8)	0,0 (0,0) *	-	-
Deltamethrin	100,0(0,0) *	94,7 (2,4)	90,0 (5,5)	73,6 (11,0)	83,5 (5,3)	33,3 (5,6) a	7,1 (3,7)	28,1 (11,5)	10,6 (3,2)	0,0 (0,0)*	-	-
Mistura	100,0 (0,0) *	100 (0,0) *	100,0 (0,0) *	86,1 (4,1)	86,1 (5,4)	20,2 (6,2) a	9,7 (4,4)	30,9 (6,7)	12,5 (1,9)	0,0 (0,0)*	-	-
F	–	0,01 ns	0 ns	1,20 ns	0,7527 ns	7,73	1,32 ns	1,10 ns	0,08 ns	–	-	-
Valor de *p*	–	0,9802	1,00	0,3345	0,4921	0,0069	0,3038	0,3653	0,9249	–	-	-

Tratamento[1]	**% mortalidade em casa de vegetação - Dias Após Pulverização (DAP)**											
	0	**1**	**3**	**5**	**7**	**14**	**21**	**28**	**35**	**49**	**63**	**77**
Imidacloprid	100 (0,0)*	97,2 (2,1)	97,5 (1,9)	97,2 (2,1)	97,5 (1,9)	95,0 (3,9)	87,5 (4,9) a	90,0 (4,5)	85,8 (5,4)	64,8 (14,4)	20,0 (7,1)	5,0 (2,3)
Deltamethrin	100 (0,0) *	96,9 (2,4)	100 (0,0)*	97,5 (1,9)	94,4 (2,5)	82,9 (5,5)	78,1 (2,71) ab	85,7 (2,1)	48,4 (7,5)	31,1 (8,8)	15,0 (5,0)	2,5 (1,9)
Mistura	100 (0,0) *	94,7 (2,4)	100 (0,0) *	97,2 (2,1)	97,5 (1,9)	84,8 (4,7)	62,0 (2,34) b	94,4 (2,5)	81,9 (8,5)	57,4 (8,5)	18,1 (4,9)	5,0 (2,2)
F	--	0,16 ns	--	0,40 ns	0,32 ns	2,36 ns	6.89	0,32 ns	2,36 ns	1,93 ns	0,11 ns	0,99 ns
Valor de *p*	--	0,8495	--	0,6795	0,7340	0,1365	0,0101	0,7340	0,1365	0,1873	0,8985	0,3997

(1) Imidacloprid (40 µg/ mL – 20 mL/100 L de água), deltamethrin (12,5 µg/ mL – 50 mL/ 100 L de água), mistura (1:1).
(2) Médias seguidas da mesma letra, nas colunas de cada data de avaliação, não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p<0,05$).
* Valores não incluídos na análise por não obedecerem aos pressupostos para uso da ANOVA (variação nula)

Em condições de campo, as avaliações realizadas para a mistura imidacloprid e dimethoate após 3 h, 1º, 3º, 5º e 7º DAP não apresentaram diferenças significativas na mortalidade de adultos de *D. citri* (Tabela 4.3; Figura 4.5). No 14º DAP houve uma redução significativa na atividade biológica em todos os tratamentos (F = 10,01; g.l. = 2, 12; p = 0,0028) (Figura 4.5; Tabela 4.3). O imidacloprid apresentou a maior redução de sua atividade biológica (94%), seguido de dimethoate (54%), e a mistura apresentando a menor redução (34%) (Tabela 4.3). No 21º DAP também houve uma diferença significativa entre os tratamentos, com o imidacloprid tendo seu pior desempenho (F = 11,75; g.l. = 2, 12; p = 0,005) (Tabela 4.3). A mortalidade de imidacloprid (2,27%) foi ≈ 90% menor que a proporcionada por dimethoate (41,80%) e 95% menor que a mistura (49,68%). A partir do 28º DAP houve uma redução gradual da atividade biológica dos tratamentos, sendo que na última avaliação (49º DAP) apenas a mistura ainda apresentava uma pequena toxicidade (Figura 4.5; Tabela 4.3).

Em casa de vegetação, a mistura de imidacloprid com dimethoate e os produtos isolados apresentaram um efeito similar na mortalidade de adultos na maioria das avaliações (Tabela 4.3). Após 3 h, 1º, 3º, 5º, 7º e 14º DAP os tratamentos não apresentaram diferenças significativas entre si (Tabela 4.3). Entretanto aos 21º DAP ocorreram diferenças significativas (F = 6,18; g.l. 3, 12; p = 0,0142). Nesta avaliação a menor atividade biologia foi apresentada pela mistura (63,22%), com uma redução de ≈ 27% quando comparado com imidacloprid (87,50%), entretanto no 28º DAP os tratamentos se comportaram de modo similar. Diferenças entre os tratamentos também foram verificadas para o 35º DAP (F = 24,67; g.l. = 2, 12; p < 0,001) e 49º DAP (F = 10,24; g.l. = 2, 12; p = 0,0031) (Tabela 4.3). Aos 35º DAP o inseticida dimethoate apresentou o menor efeito na mortalidade de psilídeos (15%), uma diferença superior a 80% quando comparado a mistura (75,86%) ou imidacloprid (85,82%) (Tabela 4.3; Figura 4.5). Aos 49º DAP a mortalidade de imidacloprid permaneceu elevada (64,78%), sendo significativamente diferente da mortalidade apresentada por dimethoate (22,92%) e da mistura (28,82%) (Tabela 4.3; figura 4.5). Já nas avaliações feitas no 63º e 77º DAP os tratamentos não apresentaram diferenças significativas (Tabela 4.3; Figura 4.5).



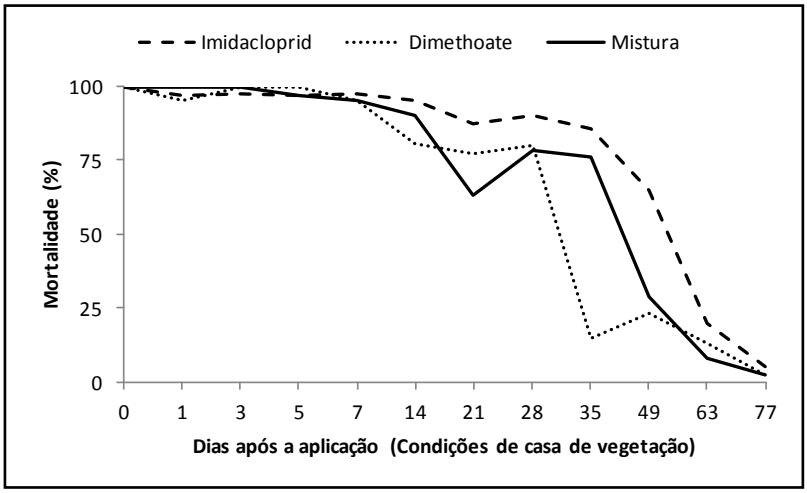


Figura 4.5 - Mortalidade de adultos de *D. citri* expostos a diferentes idades residuais dos inseticidas imidacloprid (40 µg/mL) e dimethoate (1500 µg/mL) isolados e em mistura

Tabela 4.3 - Mortalidade (±epm) de adultos de *D. citri* expostos a diferentes idades residuais dos inseticidas imidacloprid e dimethoate isolados e em mistura com bioensaio de contato residual durante 24 h

Tratamento[1]	**% mortalidade a campo - Dias Após Pulverização (DAP)**											
	0	**1**	**3**	**5**	**7**	**14**	**21**	**28**	**35**	**49**	**-**	**-**
Imidacloprid	100 (0,0) *	94,4 (2,5)	90,0 (3,2)	91,9 (4,1)	93,9 (2,8)	5,0 (2,2) b	2,3 (1,8) b	14,8 (3,9)	12,5 (5,8)	0,0 (0,0) *		
Dimethoate	100 (0,0) *	97,9 (1,6)	97,5 (1,9)	80,8 (11,8)	92,2 (3,7)	41,8 (10,9) a	28,3 (9,2) ab	28,3 (14,7)	20,0 (9,5)	0,0 (0,0) *		
Mistura	100 (0,0) *	97,5 (1,9)	97,5 (1,9)	81,6 (11,6)	89,7 (5,5)	58,9 (10,4) a	49,7 (7,7) a	31,9 (11,9)	7,5 (2,,0)	2,8 (2,1)		
F	–	0,35 ns	2,58 ns	0,44 ns	0,12 ns	10,01	11,75 ns	0,62 ns	1,70 ns	–		
Valor de *p*	–	0,7127	0,1167	0,6531	0,8876	0,0028	0,0015	0,5554	0,2232	–		

Tratamento[1]	**% mortalidade em casa de vegetação - Dias Após Pulverização (DAP)**											
	0	**1**	**3**	**5**	**7**	**14**	**21**	**28**	**35**	**49**	**63**	**77**
Imidacloprid	100 (0,0) *	97,2 (2,1)	97,5 (1,9)	97,2 (2,1)	97,5 (1,9)	95,0 (3,8)	87,5 (4,9) a	90,0 (4,5)	85,8 (5,4) a	64,8 (14,4) a	20,0 (7,1)	5,0 (2,2)
Dimethoate	100 (0,0) *	95.0 (3,9)	100 (0,0) *	100 (0,0) *	95,1 (3,8)	80,6 (7,9)	77,4 (3,9) ab	80,2 (9,5)	15,0 (3,9) b	22,9 (8,2) b	12,8 (1,9)	2,5 (1,9)
Mistura	100 (0,0) *	100 (0,0)*	100 (0,0) *	96,9 (2,4)	95,0 (3,9)	90,0 (5,5)	63,2 (4,4) b	78,1 (7,1)	75,9 (8,5) a	28,8 (7,0) b	7,8 (2,0)	2,5 (1,9)
F	–	0,01 ns	–	3,67 ns	0,38 ns	1,93 ns	6,18	0,75 ns	24,67	10,24	2,48 ns	0,90 ns
Valor de *p*	–	0,9732	–	0,0570	0,6905	0,1873	0,0142	0,4913	<0,0001	0,0031	0,1253	0,4334

(1) Imidacloprid (40 µg/ mL – 20 mL/100 L de água), dimethoate (1500 µg/ mL - 300 mL/100 L de água), mistura (1:1).
(2) Médias seguidas da mesma letra, nas colunas de cada data de avaliação, não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p<0,05$).
* Valores não incluídos na análise por não obedecerem aos pressupostos para uso da ANOVA (variação nula)

4.3.6 Avaliação da persistência de inseticidas isolados e em mistura sobre ninfas de 1º instar de *D. citri*

A mistura de imidacloprid e buprofezin apresentou uma mortalidade similar aos inseticidas isolados em condições de campo. As avaliações realizadas com 3 h, 1º e 3º DAP mostraram um controle de 100% das ninfas de *D. citri* expostas ao imidacloprid. Para a mistura, com exceção da avaliação com 3 h da pulverização, as avaliações no 1º e 3º DAP também causaram 100% de mortalidade, já a menor mortalidade verificada para buprofezin no 1º e 3º DAP está associada ao modo de ação do inseticida, que atua durante a mudança de instar (Tabela 4.4; Figura 4.6). Nas demais avaliações realizadas no 5º, 7º, 14º, 21º, 28º e 35º DAP não ocorreram diferenças significativas entre os tratamentos, sendo que no 49º DAP a mortalidade de imidacloprid e da mistura foi similar em virtude da ação do imidacloprid, pois não houve toxicidade do buprofezin (Tabela 4.4; Figura 4.6).

Em condições de casa de vegetação, a mistura de imidacloprid e buprofezin, bem como os inseticidas isolados apresentaram 100% de controle nas avaliações realizadas com 3 h e no 1º DAP (Tabela 4.4; Figura 4.6). As avaliações no 3º, 5º e 7º DAP resultaram em 100% de mortalidade para mistura e imidacloprid, com buprofezin apresentando nestas avaliações uma redução de 15, 5 e 33% respectivamente, quando comparado com os demais tratamentos (Tabela 4.4; Figura 4.6). Aos 14º DAP a mortalidade em todos os tratamentos foi similar, não ocorrendo diferenças significativas. Entretanto, aos 21º DAP observou-se uma alta mortalidade para imidacloprid (96,43%). Essa mortalidade para imidacloprid foi ≈ 50% maior que a proporcionada por buprofezin e pela mistura, provocando diferenças significativas entre os tratamentos (F = 6,3596; g.l. = 2, 12; p = 0,01309). Nas avaliações realizadas no 28º, 35º e 49º DAP a mortalidade apresentou uma redução gradativa, não ocorrendo diferenças significativas entre a mistura e os demais inseticidas (Tabela 4.4; Figura 4.6).

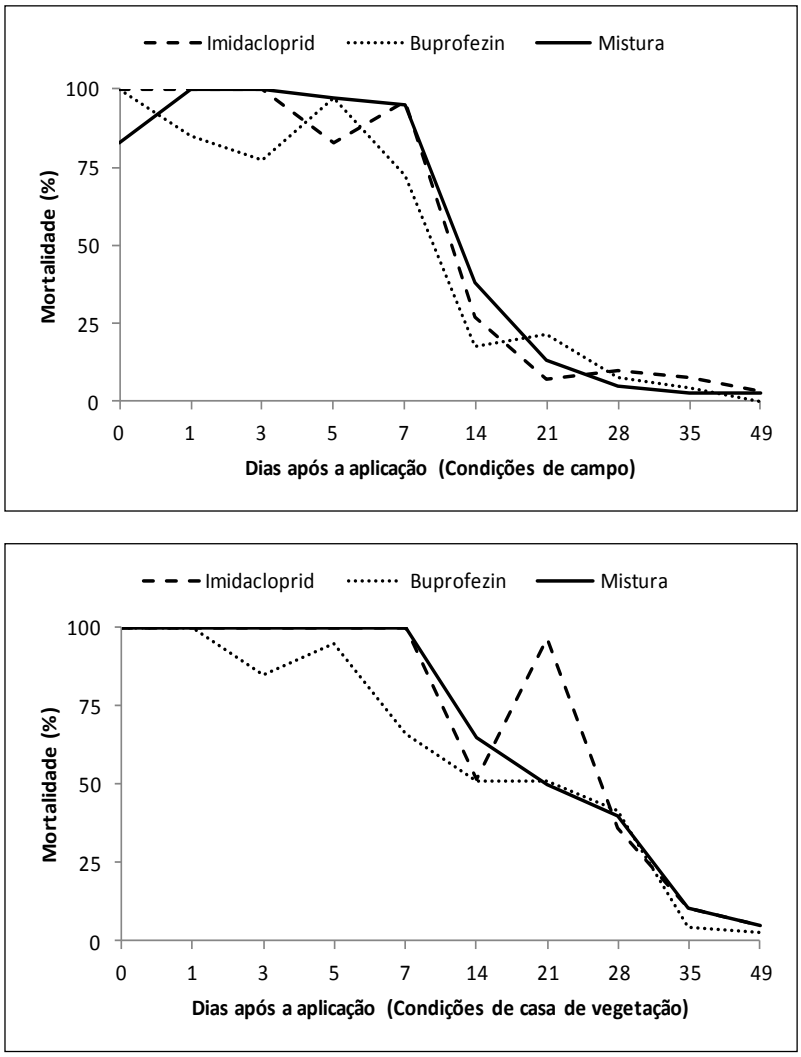


Figura 4.6 - Mortalidade de ninfas de 1º instar de *D. citri* expostos a diferentes idades residuais dos inseticidas imidacloprid (40µg/mL) e buprofezin (375µg/mL) isolados e em mistura

Tabela 4.4 - Mortalidade (± epm) de ninfas de 1º instar de *D. citri* expostas a diferentes idades residuais dos inseticidas imidacloprid e buprofezin isolados e em mistura com bioensaio de contato residual

Tratamento[1]	**% mortalidade a campo - Dias Após Pulverização (DAP)**									
	0	**1**	**3**	**5**	**7**	**14**	**21**	**28**	**35**	**49**
Imidacloprid	100 (0,0)*	100 (0,0)*	100 (0,0)*	82,5 (9,1)	95,8 (3,2)	27,2 (5,9)	7,3 (3,3)	10,0 (4,5)	7,8 (2,0)	3,1 (2,4)
Buprofezin[2]	100 (0,0)*	85,0 (11,6)	77,3 (5,7)	97,2 (2,1)	72,5 (18,8)	17,50 (7,9)	21,2 (11,0)	7,5 (3,7)	4,8 (2,1)	0,0 (0,0)*
Mistura	82,5 (13,6)	100 (0,0)*	100 (0,0)*	96,9 (2,4)	95,0 (3,9)	38,3 (12,5)	13,1 (3,6)	5,0 (3,9)	2,5 (1,9)	2,5 (1,9)
F	–	–	–	3,0234^{ns}	1,704^{ns}	1,0812^{ns}	1,8729^{ns}	0,2451^{ns}	1,5794^{ns}	0,0051^{ns}
Valor de *p*	–	–	–	0,08643	0,2231	0,3701	0,1959	0,7864	0,2461	0,9446

Tratamento[1]	**% mortalidade em casa de vegetação - Dias Após Pulverização (DAP)**									
	0	**1**	**3**	**5**	**7**	**14**	**21**	**28**	**35**	**49**
Imidacloprid	100 (0,0)*	100 (0,0)*	100 (0,0)*	100 (0,0)*	100 (0,0)*	51,7 (14,0)	96,4 (2,8) a	35,8 (4,9)	10,3 (3,2)	5,0 (3,9)
Buprofezin[2]	100 (0,0)*	100 (0,0)*	85,0 (11,6)	95,0 (3,9)	66,2 (6,9)	51,2 (3,9)	51,1 (13,9) b	41,4 (5,7)	4,6 (2,1)	2,5 (1,9)
Mistura	100 (0,0)*	100 (0,0)*	100 (0,0)*	100 (0,0)*	100 (0,0)*	65,0 (6,5)	50,0 (18,4) b	40,0 (17,6)	10,6 (3,2)	5,0 (2,2)
F	–	–	–	–	–	0,9531^{ns}	6,3596	0,5148^{ns}	0,8491^{ns}	0,65^{ns}
Valor de *p*	–	–	–	–	–	0,4129	0,01309	0,6103	0,452	0,5359

(1) Imidacloprid (40 µg/ mL – 20 mL/100 L de água), buprofezin (375 µg/ mL – 200 gramas/ 100 L de água) e mistura (interação das concentrações recomendadas – 1:1).
(2) Produto permitido na citricultura, mas não permitido para controle de *D. citri*, concentração utilizada para controle de *Saissetia oleae* (Hemiptera: Coccidae).
(3) Médias seguidas da mesma letra, nas colunas de cada data de avaliação, não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p<0,05$).
* Valores não incluídos na análise por não obedecerem aos pressupostos para uso da ANOVA (variação nula)

A interação de imidacloprid e pyriproxyfen na concentração recomendada para *D. citri* (6,25µL/mL) não apresentou efeitos significativos no controle de ninfas de primeiro instar em condições de campo (Tabela 4.5; Figura 4.7). A avaliação realizada após 3 h da pulverização mostrou 100% de controle para imidacloprid e a mistura. Entretanto para o regulador de crescimento a mortalidade foi inferior a 50%. O baixo desempenho da concentração indicada para controle de *D. citri* fez com que o inseticida apresentasse nas avaliações no 5º, 7º, 21º, 28º, 35º e 49º DAP 0% de controle, enquanto a mistura e imidacloprid apresentou efeito biológico até o 35º DAP, entretanto no 49º DAP, apenas o imidacloprid apresentou algum efeito residual (Tabela 4.5; Figura 4.7).

Em condições de casa de vegetação, o efeito da mistura de imidacloprid e pyriproxyfen na concentração recomendada também apresentou um baixo efeito sobre ninfas (Tabela 4.5; Figura 4.7). Avaliações realizadas 3 h e no 3º e 5º DAP para pyriproxyfen mostram baixos níveis de controle, sendo que as avaliações feitas no 7º, 14º, 21º, 28º, 35º e 49º dias não afetaram o desenvolvimento de *D. citri* (Tabela 4.5; Figura 4.7). Em todas as avaliações a mistura apresentou uma similaridade com imidacloprid, evidenciando a ação somente do neonicotinoide (Tabela 4.5; Figura 4.7).

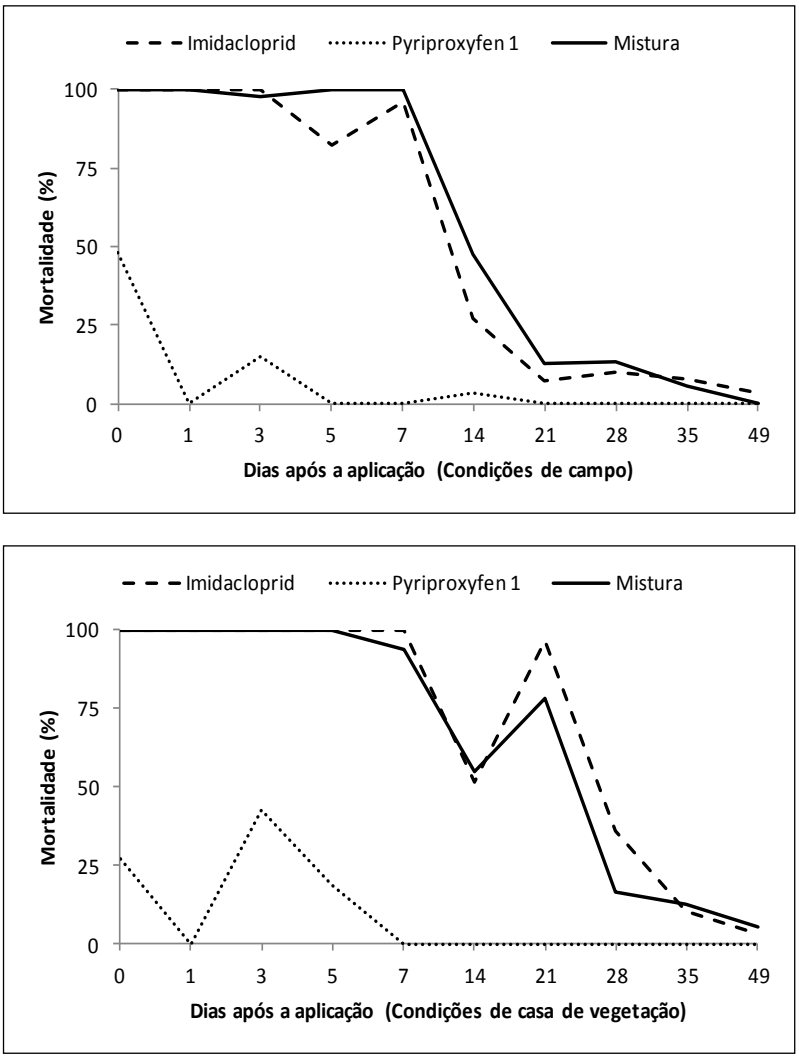


Figura 4.7 - Mortalidade de ninfas de 1º instar de *D. citri* expostos a diferentes idades residuais dos inseticidas imidacloprid (40µg/mL) e pyriproxyfen (6,25µg/mL) isolados e em mistura

Tabela 4.5 - Mortalidade (± epm) de ninfas de 1º instar de *D. citri* expostas a diferentes idades residuais dos inseticidas imidacloprid e pyriproxyfen isolados e em mistura com bioensaio de contato residual

Tratamento[1]	**% mortalidade a campo - Dias Após Pulverização (DAP)**									
	0	**1**	**3**	**5**	**7**	**14**	**21**	**28**	**35**	**49**
Imidacloprid	100 (0,0)*	100 (0,0)*	100 (0,0)*	82,5 (9,1)	95,8 (3,2)	27,2 (5,9) ab	7,3 (3,3)	10,0 (4,5)*	7,8(2,0)	3,1 (2,4)
Pyriproxyfen 1[2]	47,9 (13,0)	0,00 (0,0)*	15,0 (7,4) b	0,0 (0,0)*	0,00 (0,0)*	3,1 (2,4) b	0,00 (0,0)*	0,0 (0,0)*	0,00 (0,0)	0,00 (0,0)*
Mistura	100 (0,0)*	100 (0,0)*	97,5 (1,9) a	100 (0,0)*	100 (0,0)*	47,5 (15,9) a	12,5 (9,7)	13,4 (4,54)	5,6 (2,5)	0,0 (0,0)*
F	–	–	53,328	–	–	4,6664	0,1632^{ns}	0,107^{ns}	0,1112^{ns}	–
Valor de *p*	–	–	<0,0001	–	–	0,03168	0,6968	0,752	0,7473	–

Tratamento[1]	**% mortalidade em casa de vegetação - Dias Após Pulverização (DAP)**									
	0	**1**	**3**	**5**	**7**	**14**	**21**	**28**	**35**	**49**
Imidacloprid	100 (0,0)*	100 (0,0)*	100 (0,00)*	100 (0,0)*	100 (0,0)*	51,7 (14,0)	96,4 (2,8)	35,8 (4,9)	10,3 (3,2)	3,13 (2,4)
Pyriproxyfen 1[2]	26,9 (6,3)	0,00 (0,0)*	42,5 (3,7)	18,7 (14,5)	0,0 (0,0)*	0,0 (0,0)*	0,0 (0,0)*	0,0 (0,0)*	0,0 (0,0)*	0, (0,0)0*
Mistura	100 (0,0)*	100 (0,0)*	100 (0,0)*	100 (0,0)*	93,75 (4,8)	54,9 (11,7)	78,3 (8,1)	16,5 (5,4)	12,5 (7,3)	5,28 (2,4)
F	–	–	–	–	–	0,0553^{ns}	4,196^{ns}	5,1129^{ns}	0,0981^{ns}	1,0602
Valor de *p*	–	–	–	–	–	0,82	0,07469	0,05362	0,7622	0,3333

(1) Imidacloprid (40 µg/ mL – 20 mL/100 L de água), pyriproxyfen 1 (6,25 µg/ mL – 6,25 mL / 100 L de água) e mistura (interação das concentrações recomendadas – 1:1).
(2) Concentração indicada para controle de *D. citri*.
(3) Médias seguidas da mesma letra, nas colunas de cada data de avaliação, não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p<0,05$).
* Valores não incluídos na análise por não obedecerem aos pressupostos para uso da ANOVA (variação nula).

A mistura de imidacloprid e pyriproxyfen na maior concentração permitida na citricultura (100 µL/mL), recomendada para *Parlatoria cinerea* (Hemiptera: Diaspididae) apresentou efeitos mais significativos no controle de ninfas de primeiro instar em condições de campo que a concentração atualmente empregada (6,25 µL/mL) (Tabela 4.6; Figura 4.8). Em avaliações após 3 h e no 1º e 3º DAP pyriproxyfen teve um controle similar ao imidacloprid. Entretanto, avaliações realizadas no 5º e 7º DAP mostraram um comprometimento da atividade de pyriproxyfen, com uma mortalidade 25% menor aos demais tratamentos. Aos 14º DAP a redução do efeito biológico de pyriproxyfen foi ≈ 87% menor que imidacloprid e a mistura, com essa proporção sendo reduzida no 21º e 28º DAP devido à degradação de imidacloprid, até que no 35º DAP o IRC não causou mortalidade de ninfas (Tabela 4.6; Figura 4.8). A partir do 5º DAP o neonicotinoide apresentou um controle mais eficiente que pyriproxyfen, o que contribuiu para que a curva de degradação da mistura apresentasse uma degradação similar ao imidacloprid (Tabela 4.6; Figura 4.8).

Em casa de vegetação, o pyriproxyfen na concentração de 100 µL/mL apresentou um controle similar a imidacloprid até o 5º DAP, com todos os tratamentos causando elevada mortalidade de ninfas (Tabela 4.6; Figura 4.8). A partir do 7º DAP, o IRC apresentou uma redução de atividade biológica de ≈ 27% quando comparado com a mistura ou imidacloprid. Nas avaliações do 14º, 21º e 28º DAP, o pyriproxyfen apresentou uma mortalidade inferior ao neonicotinoide e a mistura. A partir do 35º DAP o RCI não apresentando atividade inseticida contra *D. citri*. Assim como ocorreu em campo, a mistura se comportou como o neonicotinoide, evidenciando a partir do 7º DAP a possível ação somente do neonicotinoide na mistura (Tabela 4.6; Figura 4.8).

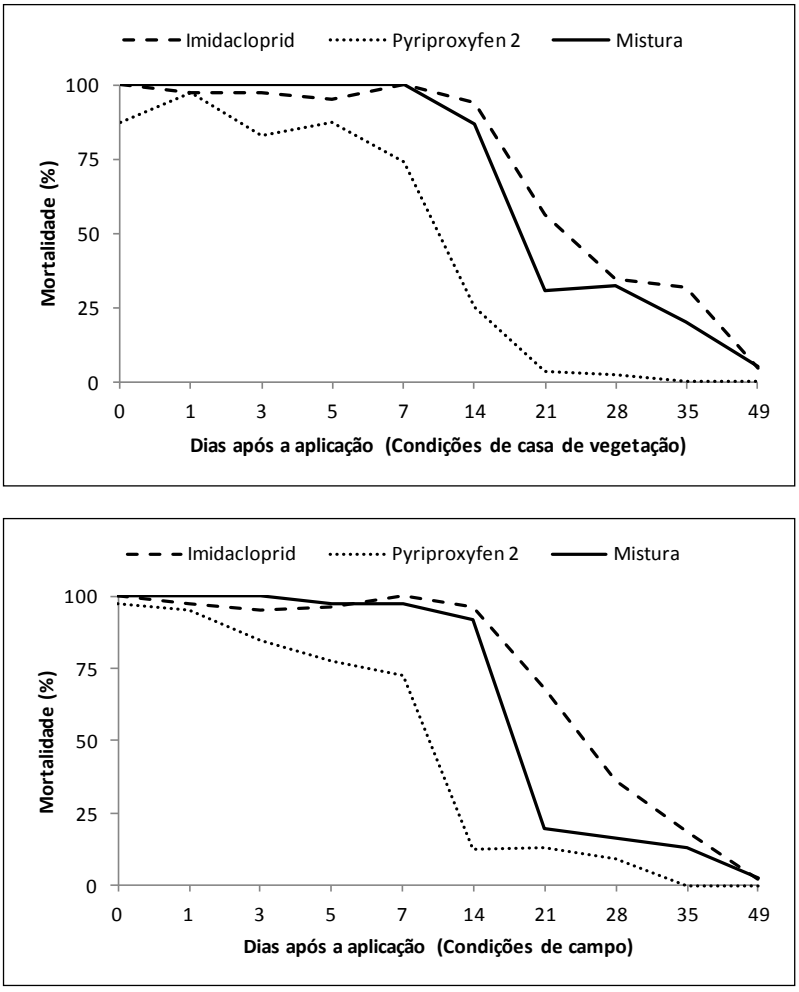


Figura 4.8 - Mortalidade de ninfas de 1º instar de *D. citri* expostas a diferentes idades residuais dos inseticidas imidacloprid (40 µg/mL) e pyriproxyfen (100 µg/mL) isolados e em mistura

Tabela 4.6 - Mortalidade (± epm) de ninfas de 1º instar de *D. citri* expostas a diferentes idades residuais dos inseticidas imidacloprid e pyriproxyfen isolados e em mistura com bioensaio de contato residual

Tratamento[1]	**Condições de campo - Dias Após Pulverização (DAP)**									
	0	**1**	**3**	**5**	**7**	**14**	**21**	**28**	**35**	**49**
Imidacloprid	100 (0,0) *	97,2 (2,2)	95,0 (2,2)	96,4 (2,8) a	100 (0,0)*	96,4 (2,8) a	68,2 (4,9) a	36,4 (5,7) a	18,7 (2,4)	2,1 (1,6)
Pyriproxyfen 2[2]	97,5 (1,9)	95,0 (3,9)	85,0 (5,0)	77,5 (4,9) b	72,5 (3,3) b	12,5 (5,6) b	13,2 (4,0) b	9,1 (2,5) b	0,00 (0,0)*	0,00 (0,0)*
Mistura	100 (0,0) *	100 (0,0) *	100 (0,0) *	97,2 (2,1) a	97,2 (2,1) a	91,9 (3,8) a	19,6 (4,5) b	16,2 (2,3) b	13,1 (4,8)	2,5 (1,9)
F	–	0,1722^{ns}	3,4571^{ns}	6,4748	21,249	38,989	31,586	13,691	1,1316^{ns}	0,01^{ns}
Valor de *p*	–	0,689	0,1	0,01238	0,0017	< 0,0001	< 0,0001	0,0008	0,3185	0,9769

Tratamento[1]	**Condições de casa de vegetação - Dias Após Pulverização (DAP)**									
	0	**1**	**3**	**5**	**7**	**14**	**21**	**28**	**35**	**49**
Imidacloprid	100 (0,0) *	97,5 (1,9)	97,2 (2,1)	95,0 (3,9)	100 (0,0) *	94,1 (2,6) a	55,9 (19,7) a	34,7 (6,9) a	31,8 (2,2)	4,4 (1,9)
Pyriproxyfen 2[2]	87,5 (7,3)	97,5 (1,9)	82,8 (6,1)	87,5 (4,5)	73,8 (4,5)	24,9 (1,4) b	3,1 (2,4) b	2,5 (1,9) b	0,00 (0,0) *	0,0 (0,0)*
Mistura	100 (0,0) *	100 (0,0) *	100 (0,0) *	100 (0,0) *	100 (0,0) *	86,5 (6,9) a	30,4 (10,6) ab	32,1 (3,0) a	20,3 (7,0)	5,0 (2,2)
F	–	0^{ns}	4,5663^{ns}	1,4082^{ns}	–	42,856	4,5696	15,687	1,9572^{ns}	0,0011^{ns}
Valor de *p*	–	1	0,06509	0,2694	–	< 0,0001	0,03346	0,0004	0,1994	0,9747

(1) Imidacloprid (40 µg/ mL – 20 mL/100 L de água), pyriproxyfen 2 (100 µg/ mL - 100 mL/100 L de água), mistura (interação das concentrações recomendadas – 1:1).
(2) Maior concentração permitida na citricultura, recomendada para controle de *Parlatoria cinerea* (Hemiptera: Diaspididae).
(3) Médias seguidas da mesma letra, nas colunas de cada data de avaliação, não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p<0,05$).
* Valores não incluídos na análise por não obedecerem aos pressupostos para uso da ANOVA (variação nula).

4.4 Discussão

A interação de imidacloprid com deltamethrin e dimethoate apresentou efeito aditivo, com a mistura das CLs_{25} causando uma mortalidade próxima a 50%, indicando sua viabilidade em um programa de MRI de *D. citri*. O uso da mistura é reportado como eficaz para retardar a evolução da resistência (MARTIN et al., 2003; DARRIET et al., 2010). Em trabalhos com mosca-branca a mistura foi mais eficiente que produtos isolados (BROWNBRIDGE; SKINNER; PARKER, 2000), sendo que além da praga alvo a ampliação do espectro de ação afeta outras pragas (IRAC, 2012).

Em um programa de MRI o uso da mistura é dependente das circunstâncias (ROUSH, 1993). Neste contexto, destaca-se a necessidade da baixa frequência de resistência para seus componentes (CURTIS, 1985). Nos monitoramentos realizados entre 2010 e 2012, a sobrevivência das populações de campo e a suscetível foram similares para imidacloprid, deltamethrin e dimethoate (Capítulo 3). Esta suscetibilidade viabiliza o uso da mistura em um programa de MRI de *D. citri*, pois a frequência de resistência pode ser extremamente baixa. Entretanto, em situações onde *D. citri* apresenta altas frequências de resistência para inseticidas de vários grupos químicos (TIWARI et al., 2011), o uso da mistura pode agravar a situação através da seleção de indivíduos com resistência cruzada ou múltipla.

Outros fatores que viabilizam o uso da mistura como uma estratégia de MRI de *D. citri* está ligado a presença de áreas de refúgio que fornecem psilídeos suscetíveis (TABASHNIK, 1989) e a possibilidade da resistência a cada componente da mistura ser monogênica e recessiva (CURTIS,1985), o que tem corroborado com a manutenção da suscetibilidade do psilídeo em um cenário com elevada pressão de seleção (Capítulo 3). Deste modo é extremamente improvável que *D. citri* possua alelos distinto que confiram resistência para dois produtos com modos de ação diferentes, possibilitando o controle redundante, onde o neonicotinoide mata os indivíduos com alelos que podem expressar a resistência para piretroides ou organofosforados e vice versa (ROUSH, 1993).

Baseando-se nestes pressupostos e nos resultados da interação dos inseticidas avaliados, o emprego destas misturas pode ser uma estratégia viável para compor um programa de MRI de *D. citri*. Entretanto deve-se atentar que está é apenas uma tática dentro de um programa de MRI e o mau uso da mistura pode causar o colapso do controle biológico, o desenvolvimento da resistência de pragas não alvo e a seleção de psilídeos com resistência cruzada ou múltipla (TABASHNIK, 1989).

Os fungicidas testados não afetaram o desempenho do imidacloprid. Nas avaliações da interação entre a CL_{25} de imidacloprid e as concentrações de campo dos fungicidas não ocorreram efeitos negativos sobre o desempenho de imidacloprid na mortalidade de *D. citri*. A ausência de interferência de fungicidas sobre neonicotinoides foi verificada no controle dos afídeos *Sitobion avenae* e *Rhopalosiphum maidis* (Hemiptera: Aphididae), onde o imidacloprid foi utilizado em mistura com o fungicida propiconazole (JOSHI; SHARMA, 2009).

Os fungicidas apresentaram efeito inseticida. A mortalidade de *D. citri* observada para tiofanato-metílico (11%), piraclostrobina (12%) e difenoconazol (11%) mostrou uma leve ação inseticida. Segundo Theiling e Croft (1998), fungicidas podem apresentar baixa toxicidade a insetos, entretanto sua mistura com inseticidas pode proporcionar o sinergismo (DESNEUX; DECOURTYE; DELPECH, 2007). Em abelhas, o fungicida prochloraz (imidazole) em mistura com deltamethrin atua como sinergista, atrasando o metabolismo, a detoxificação e a excreção do piretroide (PILLING et al., 1995). Estudos com *Typhlodromus pyri* (Acari: Phytoseiidae) resistentes a organofosforados, mostraram que a mistura dos fungicidas mancozeb e thiophanate-methyl com chlorpyrifos foram mais prejudiciais que o inseticida isolado (CROSS; BERRIE, 1996).

Os resultados obtidos neste trabalho mostraram a viabilidade da mistura em tanque entre imidacloprid e fungicidas, reduzindo trabalhos e custos (CABELLO; CANERO, 1994). Entretanto deve-se resaltar que experimentos em condições de campo devem ser realizados abordando as compatibilidades químicas, físicas e a tecnologia de aplicação. Na compatibilidade química, produtos em mistura podem apresentar um efeito diferente do que quando aplicados isolados como a fitotoxicidade (UNTIEDT; BLANK, 2004). Na compatibilidade física a mistura pode resultar em alterações físicas que inviabilizam seu uso (ILLINOIS, 1999) e na tecnologia de aplicação, a pressão utilizada e bicos de aplicação podem interferir no efeito dos produtos, pois o tamanho da gota formada por um bico ou pressão inadequada afetaram o desempenho da mistura, uma vez que de modo isolado estes produtos possuem alvos de ação distintos (ILLINOIS, 1999).

A mistura de imidacloprid e pyriproxyfen proporcionou uma interação aditiva e pode ser uma opção em um programa de MRI de *D. citri*. A mistura destes inseticidas causou 100% de mortalidade de larvas de *Papillia japonica* (Coleoptera: Scarabaeidae)

(Richmond et al, 2011). Já a mistura de pyriproxyfen com spinosad, além de sinérgica (DARRIET; CORBEL, 2006), foi eficiente controle de *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) resistentes a piretroides e organofosforados, com um efeito residual superior ao observado para os produtos isolados (DARRIET, 2010).

A mortalidade da mistura das CLs_{25} destes inseticidas sobre ninfas foi de 85%. Esta mortalidade é atribuída ao tempo de exposição ao neonicotinoide, pois em avaliações com 24h a mortalidade foi de 24% e após 7 dias de 55%. A CL_{25} de pyriproxyfen causou uma mortalidade de 27%, mas devido às características do inseticida é possível que o efeito tóxico sobre psilídeos seja maior, pois baixas doses deste IRC podem causar efeitos letais e subletais resultando em alta mortalidade (SIAL; BRUNER, 2010). Efeitos letais ocorrem sobre ovos e ninfas (YOKOYAMA; MULLER, 1991; SINGH; SIDHUL 1992), já efeitos subletais podem originar ninfas e adultos deformados, além de causar a redução na fecundidade de adultos (RICHARDSON; LAGOS, 2007; BOINA et al., 2009).

Neste contexto, destaca-se que a CL_{25} de pyriproxyfen (59,87 µL/mL) é ≈ 2 vezes menor que a empregada por Boina et al. (2009). Estes autores verificaram que 128 µL/mL de pyriproxyfen reduziu em 90% a eclosão de ninfas de *D. citri* e 64 µL/mL causou a mortalidade de ≈100% de ninfas de 1º, 2º e 3º instar e sobre ninfas de 4º e 5º a mortalidade foi superior a 75% e 50% respectivamente, com adultos oriundos destas ninfas tendo sua fecundidade reduzida. Atualmente há dois inseticidas registrados para controle de *D. citri* tendo pyriproxyfen como ingrediente ativo (Cordial® e Tiger®) (MAPA, 2012). Entretanto a indicação de uso para ambos é de 6,25 mL/100 litros de água (6,25 µL/mL). Essa concentração é ≈ 10 vezes menor que a CL_{25} utilizada neste trabalho. Neste contexto, psilídeos podem estar sendo expostos a concentrações subletais, o que pode favorecer a seleção de psilídeos resistentes.

A mistura de buprofezin e imidacloprid pode ser uma ferramenta importante em um programa de MRI de *D. citri*. A interação destes inseticidas teve efeito aditivo, com 87% de mortalidade das ninfas. Essa alta mortalidade também é atribuída ao tempo de exposição ao neonicotinoide (≈ 60%). Efeitos positivos da interação de buprofezin com outros inseticidas foi relatada por Naveed et al. (2008), onde a mistura de buprofezin e fenpropathrim proporcionou um controle eficiente da mosca-branca, além de viabilizar a ação de inimigos naturais. Já a mistura de buprofezin com spinosad teve um efeito

aditivo sobre *Spodoptera litoralis* (Lepidoptera: Noctuidae) afetando parâmetros biológicos como o desenvolvimento e a reprodução (RAGAEI; SABRY, 2011).

A CL_{25} de buprofezin (99,26 µL/mL) proporcionou uma mortalidade de 29% das ninfas de 3º instar. Entretanto, trabalhos têm indicado que a concentração de 30 µL/mL de buprofezin proporcionou 100% de mortalidade de ninfas de 1º instar e que 240 µL/mL causou a supressão de ninfas de 3º e uma redução significativa na sobrevivência de ninfas de 5º instar, sendo verificado também o comprometimento da eclosão de ovos expostos a este IRC (TIWARI et al., 2012). Atualmente, na citricultura brasileira, há um produto comercial tendo buprofezin como ingrediente ativo (Applaud®). Este inseticida é empregado no controle de duas cochonilhas e um ácaro, com uma concentração máxima permitida de 375 µL/mL, próxima a CL_{85} (362µL/mL) estimada neste trabalho para ninfas de 3º instar.

Neste contexto, o emprego da mistura de imidacloprid e IRCs, pode ser promissora, pois devido ao peculiar modo de ação destes IRCs há a atuação dos efeitos letais e subletais sobre todos os estágios de desenvolvimento do inseto, o que pode causar uma eficiente controle do psilídeo. Entretanto, os mesmos cuidados descritos para mistura de imidacloprid com deltamethrin e dimethoate devem ser tomados para o uso da mistura de imidacloprid e IRCs dentro de um programa de MRI de *D. citri*.

As avaliações de campo e casa de vegetação apresentaram uma degradação semelhante para imidacloprid, deltamethrin e dimethoate tanto em mistura como isolados. A degradação similar verificada pela ausência de diferenças significativas na mortalidade de *D. citri* na maioria das avaliações é um indicativo da viabilidade do uso da mistura em um programa de MRI de *D. citri*. A importância de pesticidas em mistura apresentarem atividades biológicas semelhantes está no fato de que se um deles tiver um residual mais curto, vai favorecer a seleção de insetos resistentes ao outro produto.

As avaliações de persistência dos inseticidas pulverizados sobre plantas que permaneceram em condições de campo apresentaram atividade biológica até o 49º DAP, com uma rápida redução de sua eficiência a partir do 14º DAP. Já as plantas mantidas em casa de vegetação tiveram uma degradação lenta e gradativa até o 77º dia. Esse longo efeito residual em casa de vegetação, assim como a redução na mortalidade de *D. citri* observada em condições de campo pode estar ligada a fatores químicos como a volatilização, solubilidade e o método de aplicação (LICHTENSTEIN; MYRDAL; SCHULZ, 1964; HARTLEY, 1969; EDWARDS, 1975). Entretanto, fatores ambientais

como a temperatura, precipitação, radiação e vento (EDWARDS, 1975; EBERLING, 1963; KATAGI, 2004) e também a fatores inerentes a planta como a densidade e idade foliar (HERMANSON; ANDERSON; GUNTHER, 1970; EBERLING, 1963) e a presença de barreiras físicas podem ter influenciado a penetração de pesticidas (EDWARDS, 1975), pois grande parte dos produtos penetra através de estômatos e fissuras foliares (OVERBEEK, 1956; HULL;MORTON; WHARRIE, 1975).

Neste contexto, as plantas transportadas para casa de vegetação, após a pulverização, podem ter sofrido uma menor pressão de evapotranspiração e mantido os estômatos abertos por mais tempo, absorvendo maior quantidade de inseticidas, o que justifica o maior período residual. Já as plantas mantidas no campo, estavam expostas a radiação solar direta, altas temperaturas e ventos, acarretando no fechamento dos estômatos para evitar a perda de água (COELHO; MAGALHÃES; COELHO FILHO, 2004), afetando a absorção de pesticidas e contribuindo para o menor efeito residual.

A degradação similar destes inseticidas, expostos a condições adversas e associada à compatibilidade física e química dos produtos, reforça a viabilidade destas misturas como uma estratégia em um programa de MRI de *D. citri*. Neste contexto, visando à difusão do manejo regional do HLB, a mistura além de eliminar possíveis psilídeos resistentes através do controle redundante, pode proporcionar o controle eficiente de diversas pragas devido à ampliação do seu espectro de ação, viabilizando a redução de pulverizações e minimizando riscos ambientais.

A degradação similar de imidacloprid e buprofezin isolados e em mistura indicam a viabilidade do uso destes inseticidas com modos de ação tão distintos em um programa de MRI de *D. citri*. Entretanto, estudos devem ser realizados visando à busca de concentrações de buprofezin adequadas a ninfas de *D. citri*, pois a empregada neste trabalho (375 µg/mL) é indicada para *Saissetia oleae* (Hemipera: Coccidae). Esta concentração foi próxima a CL_{90} estimada por Tiwari et al. (2012) para ninfas de 5º instar, e pela estimativa da linha básica de buprofezin para este trabalho a concentração de empregada corresponde a CL_{90} de 408 µg/mL [IC 99% (364-466)]. A viabilidade do uso da mistura de buprofezin com outros inseticidas já foi reportada por Silva et al. (2008). Estes autores verificaram que o uso de buprofezin isolado e em mistura com quatro inseticidas no controle de *D. citri*, foram eficientes, reduzindo a densidade populacional de adultos e ninfas do psilídeo por um período de até 28 dias.

A menor atividade biológica para imidacloprid em casa de vegetação (49 dias), quando comparados com os inseticidas neurotóxicos que apresentaram atividade biológica por até 77 dias, pode ser atribuída à mudança da superfície de pulverização. Nos bioensaios com ninfas foram empregas plantas de murta, enquanto que nos bioensaios com adultos foram utilizadas plantas de citros. Neste contexto há diferença na arquitetura e na estrutura das plantas. Possivelmente o tamanho, a forma, diferenças na cerosidade, número de estômatos, fissuras cuticulares e presença de tricomas podem ter interferido na eficiência dos inseticidas (OVERBEEK, 1956; EDWARDS, 1975; HULL; MORTON; WHARRIE, 1975). A alta mortalidade observada no 21º DAP (96,43%) para imidacloprid em casa de vegetação pode ser atribuída à quantidade residual depositada na inserção do pedúnculo da folha no ramo. Como as ninfas eram colocadas nesta região, essa mortalidade atípica pode ser atribuída à exposição da ninfa a um grande residual associado a elevado tempo de exposição devido à baixa mobilidade, o que afetou todas as repetições deste tratamento.

A mistura entre imidacloprid e pyriproxyfen, na sua concentração recomendada, o IRC foi ineficiente contra *D. citri*. A concentração indicada de pyriproxyfen para uso em pomares (6,25 mL/100 litros de água) (MAPA, 2012) não afetou o desenvolvimento de ninfas de 1º instar, tanto em condições de campo como em casa de vegetação, com a maioria das avaliações apresentando 100% de sobrevivência. Essa concentração e inferior a CL_{25} (59,77µg/mL) empregada nas avaliações para verificar o tipo de interação de inseticidas. Estes resultados mostram a necessidade de se reavaliar a concentração recomendada, pois a esposição a subdoses pode favorecer a seleção de insetos resistentes e inviabilizar o uso de uma molécula promissora.

A mistura entre imidacloprid e pyriproxyfen na maior concentração permitida na citricultura o IRC obteve um melhor desempenho no controle de ninfas. O emprego de 100µg/mL de pyriproxyfen mostrou melhores resultados que a concentração recomendada. Entretanto, apesar de ser 16 vezes maior que a indicada, esta concentração foi próxima a CL_{50} (120µg/mL) estimada a partir da linha básica de suscetibilidade sobre ninfas de 3º instar.

O inseticida pyriproxyfen mostrou-se um excelente produto no controle ninfas de *D. citri*, afetando também adultos através de efeitos subletais (Boina et al 2009). Entretanto, assim como buprofezin, estudos devem ser realizados buscando concentrações apropriadas, pois está molécula é compatível com imidacloprid e seu emprego em mistura com este neonicotinoide pode apresentar benefícios para citricultura.

4.5 Conclusões

- A mistura de imidacloprid com deltamethrin e dimethoate apresentou efeito aditivo na mortalidade de adultos de *D. citri*;

- A mistura de imidacloprid com buprofezin e pyriproxyfen apresentou efeito aditivo na mortalidade de ninfas de *D. citri*;

- A mistura dos fungicidas piraclostrobina, tiofanato-metílico e difenoconazol não afetaram a eficiência de imidacloprid na mortalidade de adultos de *D. citri*;

- Imidacloprid, deltamethrin e dimethoate apresentaram uma degradação similar em mistura e de modo isolado em casa de vegetação e campo;

- Imidacloprid apresentou degradação similar ao buprofezin em casa de vegetação e campo;

- Imidacloprid apresentou maior persistência que as concentrações de pyriproxyfen testadas.

Referências

ALL, J.N.; ALI, M.; HORNYAK, E.P.; WEAVER, J.B. Joint action of two pyrethroids with methyl-parathon, methomyl, and chlorpyrifos on *Heliothis zea* and *H. virescens* in the laboratory and in cotton and sweetcorn. **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v. 70, n. 6 p. 813-817, 1997.

ALVES, E.B.; OMOTO, C.; FRANCO, C.R. Mistura de dicofol com fempiroximato no manejo da resistência de *Brevipalpus phoenicis* (Geijskes) (Acari: Tenuipalpidae) ao dicofol. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Londrina, v. 29, n. 4, p. 789-797, 2000.

ARCHER, T.L.; BYNUM, E.D.; PLAPP, F.W. Chlorpyrifos resistance in greenbugs (Homoptera: Aphididade): Cross-Resistance and synergism. **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v. 87, n. 6, p. 1437-1440, 1994.

ASAI, T.; FUKADA, M.; MAEKAWA, S.; IKEDA, K.; KANNO, H. Studies on the mode of action of buprofezin II. Effects on reproduction of the Brown Planthopper, *Nilaparvata lugens* Stal (Homoptera: Delphacidae). **Applied Entomological Zoology**, New York, v. 20, n .2, p. 111-117, 1985.

ATTIQUE, M.N.R.; KHALIQ, A.; SAYYED, A.H. Could resistance to insecticides in *Plutella xylostella* (Lep., Plutellidae) be overcome by insecticide mixtures? **Journal of Applied Entomology**, Berlin, v. 130, n. 2, p. 122-127, 2006.

BOINA, D.R.; ROGERS, M.E.; WANG, N.; STELINSKI, L.L. Effect of pyriproxyfen, a juvenile hormone mimic, on egg hatch, nymph development, adult emergence and reproduction of the Asian citrus psyllid, *Diaphorina citri* Kuwayama. **Pest Management Science**, Sussex, v. 66, p. 349-357, 2009.

BROWNBRIDGE, M.; SKINNER, M.; PARKER, B.L.; Enhancing the activity of insect-killing fungi for a IPM, **Florists Association Bulletin**, Ohio, , n. 842, p. 14-16, 2000.

BUFFINGTON, E.J.; McDONALD, S.K. Tank Mixing, 2006. **Colorado Environmental Pesticide Education Program**. Disponível em: <http://www.cepep.colostate.edu/Fact%20Sheets/129TankMixing.pdf>. Acesso em: 12 de 2012.

CABELLO, T.; CANERO, R. Pesticide mixtures used on garden crops in greenhouses in southeast Spain: Cost analysis. **Boletín de Sanidad Vegetal - Plagas**, Madrid, v. 20, p. 429 - 436, 1994.

COELHO, E.F.; MAGALHÃES, A.F.J.; COELHO FILHO, M.A. Irrigação e fertirrigação em citrus. EMBRAPA, 2004.(Circular técnica,72.).

CORBEL, V.; DARRIET, F.; CHANDRE, F.L.; HOUGARD, J.M. Insecticide mixtures for mosquito net impregnation against malaria vectors. **Parasite**, Issy les Moulineaux, v. 9, p. 255-259, 2002.

CORBEL, V.; RAYMOND, M.; CHANDRE, F. DARRIET, F. HOUGARD, J.M. Efficacy of insecticide mixtures against larvae of *Culex quinquefasciatus* (Say) (Diptera: Culicidae) resistant to pyrethroids and carbamatos. **Pest Management Science**, Sussex v. 60, p. 375-380, 2003.

CROSS, J.V.; BERRIE, A.M. Further field evaluation of the effects of repeated foliar sprays of insecticides or fungicides alone and in admixture on an organophosphate-resistant strain of the orchard predatory mite *Typhlodromus pyri* on apple. **Crop Protection**, Guildford, v. 15, n. 7, p. 637-639, 1996.

CURTIS, C.F. Theoretical models of the use of insecticide mixture for the management of resistance. **Bulletin of Entomological Research**, Farnham Royal, v. 75, n. 2, p. 259-265, 1985.

DARRIET, F.; CORBEL, V. Laboratory evaluation of pyriproxyfen and spinosad, alone and in combination, against *Aedes aegypti* larvae. **Journal of Medical Entomology**, Lanham, v. 43, n. 6, p. 1190 – 1194, 2006.

DARRIET, F.; MARCOMBE, S.; ETIENNE, M.; YÉBAKIMA, A.; AGNEW, P.; YP-TCHA, M. M.; CORBEL, V. Fields evaluation of pyriproxyfen and spinosad mixture for the control of insecticide resistant *Aedes aegypti* in Martinique (French West Indies). **Parasites & Vectors**, London, v. 3, p. 1-8, 2010.

DeCOCK, A.; DEGHEELE, D. Buprofezin: a novel chitin synthesis inhibitor affecting specifically planthoppers, whiteflies and scale insects. In: ISHAAYA, I.; DEGHEELE, D. **Insecticides with novel modes of action:** Mechanism and application. Berlin, 2001. p. 74-91.

DENHOLM, I.; ROWLAND, M.W. Tatics for managing pesticide resistance in arthropods: Theory and practice. **Annual Reviews of Entomology**, Stantford, v. 37, p. 91-112, 1992.

DESNEUX, N. ;DECOURTYE, A.; DELPUECH, J. M. The sublethal effects of pesticides on beneficial arthropods. **Annual Review of Entomology**, Stanford, v. 52, p. 81 – 196, 2007.

EDWARDS, C.A. Factors that affect the persistence of pesticides in plants and soils. **Pure Applied Chemistry**, Oxford, v. 42, p. 39-56, 1975.

EBERLING, W. Analysis of the basic processes involved the deposition, degradation, persistence, and effectiveness of pesticides, **Residue Reviews**, New York, v. 3, p. 35 – 163, 1963.

FABBRIN, E.G. **Fertilizantes foliares como redutores de pH em mistura com fungicidas e inseticidas, sobre os biondicadores *Colletotrichum sp.* e *Grapholita molesta* (Busk 1916) (Lepidóptera: Tortricidae) em macieira**. Dissertação (Mestrado em Fitossanidade – Produção Vegetal) - Universidade Federal do Paraná. Curitiba, 2009.

GREENHALGH, R.; BARON, R.L.; DESMORAS, J.; ENGST, R.; ESSER, H.O.; KLEIN, W. Definition of persistence in pesticide chemistry. **Pure and Applied Chemistry**, Oxford, v. 52, p. 2563-2566, 1980.

GUNNING, R.V.; MOORES, G.D.; DEVONSHIRE, A.L. Esterase Inhibitors Synergise the Toxicity of Pyrethroids in Australian *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae). **Pesticide Biochemistry and Physiology**, San Diego, v. 63, p. 50–62, 1999.

HARTLEY, G.S. Evaporation of pesticides. **Advances in Chemistry Series**, Washington, v. 86, p. 115-134, 1969.

HENRIET, M.; BAUR, P. Evolution of deltamethrin formulations: liquid and solid lines and the fLUXX concept. **Bayer CropScience Journal**, Monheim, v. 62, n. 2,p?????? 2009.

HERMANSON, H.P.; ANDERSON, L.D.; GUNTHER, F.A. Effect of variety and maturity of carrots upon uptake of endrin residues from soil. **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v. 63, p. 1651-1654, 1970.

HUBERT, D.; ISAACS,R; VANDERVOORT, C.; WISE, J.C. Rainfastness and residual activity of insecticides to control Japanese beetle (Coleoptera: Scarabaeidae) in Grapes. **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v. 104, n. 5, p. 1656- 1664, 2011.

HULL, H.M.; MORTON, H.L.; WHARRIE, J.R. Environmental influences on cuticle development and resultant foliar penetration. **Botanical Review**, New York, v. 41, n. 4, p. 421-452, 1975.

ILLINOIS Preparing Pesticide Tank Mixes. **University of Illinois**, 1999. Disponível em:<http://web.extension.illinois.edu/psep/facts/calibration/preparing_tank_mixes.pdf>. Acesso em: 4 out. 2012.

IRAC International Insecticide Mixture. **Insecticide Resistance Action Committee**. Disponível em:< http://www.irac-online.org/content/uploads/IRAC_MixtureStatement_v1.0_10Sept12.pdf.> . Acesso em: 1 dez. 2012.

ISHAAYA, I.; MENDELSON, Z.; MELAMEDMADJAR, V. Effect of buprofezin on embryogenesis and progeny formation of sweetpotato whitefly (Homoptera: Aleyrodidae) **Journal Economic Entomology**, Lanham, v. 81, p. 781-784, 1988.

ISHAAYA, I.; HORIWITZ, A.R. Novel phenoxy juvenile hormone analog (pyriproxyfen) suppresses embryogenesis and adult emergence of sweetpotato whitefly. **Journal Economic Entomology**, Lanham, v. 85, p. 2113 – 2117, 1992.

ISHAAYA, I.; BARAZANI, A.; KONTSEDALOV, S.; HOROWITZ, A.R. Insecticides with novel modes of action: Mechanism, selectivity and cross-resistance. **Entomological Research**, Farnham Royal, v. 37, p. 148-152, 2007.

JONES, M.M.; ROBERTSON, J.L.; WEINZIERL, R.A. Toxicity of Thiamethoxam and Mixtures of Chlorantraniliprole Plus Acetamiprid, Esfenvalerate, or Thiamethoxam to Neonates of Oriental Fruit Moth (Lepidoptera: Tortricidae). **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v. 105, n. 4, p. 1426-1431, 2012.

JOSHI, N.K.; SHARMA, V.K. Effecacy of imidacloprid (Confior 200 SL) against aphids infesting wheat crop. **Journal of Central European Agriculture**, Praga, v. 10, n. 3, p. 217-222, 2009.

KATAGI, T. Photodegradation of pesticides on plant and soil surfaces. **Reviews of Environmental Contamination and Toxicology**, New York, v. 182, p. 1-189, 2004.

KHAJEHALI, J.; VAN LEEUWEN, T; TRRY, L. Susceptibility of an organophosphate resistant strain of the two-spoted sider mite (*Tetranychus urticae*) to mixtures of bifenazate with organophosphate and carbamate insecticides. **Experimental Applied Acarology**, Amsterdam, v. 49, p. 185-192, 2009.

LEORA SOFTWARE. **POLO-PC**: A USER'S GUIDE TO Probit or logit analysis. Berleley, 1987. 20p.

LINCHENSTEIN, E.P.; MYRDAL, G.R.; SHULZ, K.R. Effect of formulation and mode of application of aldrin on the loss of aldrin and its epoxide from soil and their translocated on into carrots. **Journal of Economic Entomology**, Lonham, v. 57, p. 133 – 136, 1964.

LINDQUIST, R. Tank-mixed pesticides offer benefits, disadvantages. **Greenhouse Business**, Alabama, v. 8, n. 1, p. 25-29, 2002.

MANI, G.S. Evolution of resistance in the presence of two insecticides. **Genetics**, Austin, v. 109, p. 761 – 783, 1985.

MAPA – Inseticidas recomendados para o manejo de *Diaphorina citri* (Hemiptera: Psyllidae) em citros**. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento**. Disponível em: <http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons>. Acesso em: 30 dez. 2012.

MARER, P.J.; FLINT, M.L.; STIMMANN, M.W. **The safe and effective use of pesticides**. California:Editora Oakland, California, 1988. p. 58-79.

MARTIN, T.; OCHOU, O.G.; VAISSAYRE, M.; FOURNIER, D. Organophosphorus Insecticides Synergize Pyrethroids in the Resistant Strain of Cotton Bollworm, *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) from West Africa. **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v. 96, n. 4, p. 468-474, 2003.

MORENO, P.R.; NAKANO, O. Atividade de buprofezin sobre a cigarrinha verde do feijoeiro *Empoasca kraemeri* (Ross & Moore, 1957) (Hemiptera: Cicadellidae) em condições de laboratório. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 59, n. 3, p. 475-481, 2002.

NAVEED, M.; SALAM, A.; SALLEM, M.A.; SAYYED, A.H. Effect of foliar applications of some insecticides on *Bemisia tabaci*, predators and parasitoids: Implications in its management in Pakistan. **Phytoparasitica**, Bet Dagan, v. 36, n. 4, p. 377-387, 2008.

NELDER, J.A.; WEDDERBURN, R.W.M. Generalized linear models. **Journal of the Royal Statistical Society**, London, v. 135, p. 370-384, 1972

OBANA, H.; OKIHASHI, M.; AKUTSU, K.; KITAGAWA, Y.; HORI, S. Determination of acetamiprid, imidacloprid, and nitenpyram residues in vegetables and fruits by high-performance liquid chromatograpy with diode-array detection. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v 40, p. 1-4, 2002

OVERBEEK, J.V. Absorption and translocation of plant regulators. **Annual Review of Plant Physiology**, Palo Alto, v. 7, p. 355-372, 1956.

PILLING, E.D.; BROMLEYCHALLENOR, K.A.C.; WALKER, C. H.; JEPSON, P. C. Mechanism of synergism between the pyrethroid insecticide lambda-cyhalothrin and the imidazole fungicide prochloraz, in te honeybee (*Aphis mellifera* L.) **Pesticide Biochemistry Physiology**, Amsterdam, v. 69, p. 77 – 91, 1995.

PRABHAKER, N. ;TOSCANO, N.C. Toxicity of the insect growth regulators, buprofezin and pyriproxyfen, to the glassy-winged sharpshooter, *Homaladisca coagulate* Say (Homoptera: Cicadellidae). **Crop Protection**,Guildford, v. 26, n. 495-502, 2007.

R CORE TEAM. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing. Vienna, Austria. ISBN 3-900051-07-0, Disponível em:< http://www.R-project.org/.> Acesso em: em: 06 out.2012.

RAGAEI, M.; SABRY, K.H. Impacto f spinosad and buprofezin alone and in combination against the cotton leafworm, Spodoptera littoralis under laboratory conditions**. Journal of Biopesticides,** Tamilnadu, v. 4, n. 2, p. 156-160, 2011.

RICHARDSON, M.L.; LAGOS, D.M. Effects of juvenile hormone analalog, pyriproxyfen, on the apterous form of soybean aphid (Aphis glycines). **Journal Applied Entomology**, Berlin, v. 131, p. 297-302, 2007.

RICHMOND, D.S.; GIBB, T.J.; BALDAUF, W.; SEITER, A.; NANCE, A. **Evaluation combinations of pyriproxyfen and imidacloprid for control of Japanese beetle larvae en Kentucky.** Purdue: Purdue University Turfgrass Science Program, 2011. p. 68-69.

ROUSH, R.T. Designing resistance management programs: How can you choose? **Pesticide Science**, Oxford, v. 26, n. 4, p. 423-441, 1989.

ROUSH, R.T. Occurrence, genetics and management of insecticide resistance. **Parasitology Today**, Amsterdam, v. 9, n. 5, p. 174-179, 1993.

SCHENCK, N.C.; ADLERZ, W.C. Compatibility of insecticides, fungicides, and foliar fertilizers on watermelon. **Florida State Horticultural Society**, Tallahassee, v. 75, p. 209 – 212, 1962.

SIAL, H.A.; BRUNER, J.F.; Lethal and sublethal effects of a insect growth regulator, pyriproxyfen on obliquebandead leafroller (Lepidoptera: Tortricidae). **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v. 103, n. 2, p. 340 – 347, 2010.

SILVA, M.T.F.; GRAVENA, R.; SILVA, J.L.; BENVENGA, S.R.; GRAVENA, S.; AMORIN, L.C.S. Efeito de applaud buprofezin aplicado isoladamente e em mistura a diferentes inseticidas no controle do psilídeo dos citros *Diaphorina citri* (Kuwayama) (Hemiptera: Psyllidae) em citros. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENTOMOLOGIA,22., 2008. 24 a 28 de agosto de 2008. Uberlândia. **Resumos**... Uberlândia:UFV/SECTES, 2008. p 27

SINGH, G.; SINDHU, H.S. Morphogenetic abnormalities of alatiform mustard aphid, *Lipaphis erysimi* following topical application of juvenile hormone analogs. **International Journal of Tropical Insect Science**, Wallingford,v. 13, n. 1, p. 27-33, 1992.

TABASHNIK, B.E. Managing resistance with multiploe pesticide tacties: Theory, evidence, and recommendations. **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v. 82, n. 5, p. 1263-1269, 1989.

THEILING, K.M.; CROFT, B.A. Pesticide side-effects o arthropod natural enemies: a database summary, Agriculture, **Ecosystems and Environment**, Amsterdam, v. 21, p. 191-218, 1988.

THOMPSON, H.; WILKINS, S.; Assessment of the synergy and repellency of pyrethroid/fungicide mixtures. **Bulletin of Insectology**, Bologna, v. 56, n. 1, p. 131 – 134, 2003.

TIWARI, S.; MANN, R.S.; ROGERS, M.E.; STELINSKI, L.L. Insecticide resistance in field populations of Asian citrus psyllid in Florida. **Pest Management Science**, Sussex, v. 67, n. 10, p. 1258-1268, 2011.

TIWARI, S.; CLAYSON, P.J.; KUHNS, E.H.; STELINSKI, L.L. Effects of buprofezin and diflubenzuron on various developmental stages of asian citrus psyllid, *Diaphorina citri*. **Pest Management Science**, Sussex, v. 68, p. 1405 -1412, 2012.

UNTIEDT, R.; BLANKE, M.M. Effects of fungicide and insecticide mixtures on apple tree canopy photosynthesis, dark respiration and carbon economy. **Crop Protection**, Guildford, v. 23, p. 1001-1006, 2004.

WARNOCK, D.F.; CLOYD, R.A. Effect of pesticide mixtures in controlling western flower thrips (Thysanoptera: Thripidae). **Journal Entomological Science**, Georgia, v. 40, p. 54-66, 2005.

YAMAMOTO, P.T. Controle de insetos vetores de bactérias causadoras de doenças em citros. In: _____. **Manejo Integrado de Pragas dos Citros**. Piracicaba:Editora Piracicabana, 2008, cap. 8, p. 237-260.

YOKOYAMA, V.Y; MILLER, G.T. Potential of pyriproxyfen as a quarantine treatment for codling moth and oriental fruit moth (Lepidoptera: Tortricidae). **Journal Economic Entomology**, Lanham, v. 84, p. 942-947, 1991.

5 TOXICIDADE DE IMIDACLOPRID E SUA ASSOCIAÇÃO COM *Tamarixia radiata* (HYMENOPTERA: EULOPHIDAE) SOBRE A DEMOGRAFIA DE *Diaphorina citri* (HEMIPTERA: LIVIIDAE)

Resumo

O controle de *Diaphorina citri* (Hemiptera: Liviidae) tem sido realizado principalmente com uso de inseticidas. A integração das táticas de controle químico com controle biológico é desejável em programas de Manejo Integrado de Pragas (MIP), mas um dos grandes entraves está na toxicidade de inseticidas sobre os inimigos naturais. Sendo assim, foram realizados estudos para avaliar a toxicidade de imidacloprid isolado e associado com *Tamarixia radiata* (Hymenoptera: Eulophidae) sobre taxa instantânea de crescimento (r_i) de *D. citri*. Inicialmente, para avaliar a degradação da atividade biológica de imidacloprid, plantas de *Murraya paniculata* L. (Rutaceae) foram pulverizadas com a concentração recomendada (40µg/mL). Dez fêmeas grávidas de *D. citri* foram liberadas em gaiolas (50×50×50 cm) com plantas de *M. paniculata* pulverizadas com imidacloprid após 7, 14, 21, 28, 35, 42, 49 e 56 dias. A taxa instantânea de crescimento (r_i) foi estimada após 49 dias da infestação de psilídeos em cada idade de resíduo de imidacloprid. Posteriormente, a associação de imidacloprid com *T. radiata* sobre a r_i de *D. citri* foi avaliada em condições de gaiola contendo plantas de *M. paniculata* pulverizadas com a CL_5 (0,501µg/mL), CL_{10} (0,804µg/mL), CL_{25} (1,995µg/mL) e CL_{50} (5,213µg/mL) de imidacloprid na ausência ou presença do parasitoide. Houve redução populacional de *D. citri* para todas as idades residuais, com r_i negativo para infestações sobre resíduos com 7, 14, 21, 42 e 49 dias após a aplicação do inseticida. Não houve diferença na r_i dos psilídeos expostos a concentrações subletais de imidacloprid na ausência ou presença do parasitoide, devido à toxicidade de imidacloprid sobre *T. radiata*.

Palavras chave: Psilídeo, Controle químico, Ecotoxicologia, Huanlongbing, parasitoide

Abstract

The control of *Diaphorina citri* (Hemiptera: Liviidae) has been done mainly with the use of insecticides. The integration of chemical control with biological control tactics is expected in Integrated Pest Management (IPM) programs, but one of the major constraints is the toxicity of the insecticides on natural enemy. Then, we conducted studies to evaluate the toxicity of imidacloprid alone or in association with *Tamarixia radiata* (Hymenoptera: Eulophidae) on the instantaneous growth rate (r_i) of *D. citri*. Initially, *Murraya paniculata* (Rutaceae) plants were sprayed with imidacloprid (40 µg/mL) to evaluate the degradation of biological activity of imidacloprid. Ten gravid *D. citri* females were released and maintained for 49 days in cages (50×50×50 cm) containing *M. paniculata* with residual levels of imidacloprid, measured on days 7, 14,

21, 28, 35, 42, 49 and 56. The instantaneous rate of increase (r_i) was estimated after 49 days of infestation of psyllids in each age imidacloprid residue. Then, the association of imidacloprid with *T. radiata* on the r_i of *D. citri* was evaluated in cages containing *M. paniculata* sprayed with the LC_5 (0.501 µg/mL), LC_{10} (0.804 µg/mL), LC_{25} (1.995 µg/mL) and LC_{50} (5.213 µg/mL) of imidacloprid in the absence or presence of the parasitoid. A population reduction of *D. citri* was observed for all residual half-lives, with a negative r_i for infestations with imidacloprid residues 7, 14, 21, 42 and 49 days after pesticide application. No differences were observed between the r_i values of *D. citri* exposed to sublethal concentrations of imidacloprid in the absence or presence of the parasitoid due to the toxicity of imidacloprid on *T. radiata*.

Keywords: Psyllids; Chemical control; Ecotoxicology; Huanlongbing; Parasitoid

5.1 Introdução

Para o controle de *Diaphorina citri* (Hemiptera: Liviidae), vetor do Huanlongbing (HLB), o inseticida imidacloprid tem sido amplamente utilizado, devido a sua eficiência contra insetos sugadores (BOINA et al 2009). O uso de imidacloprid em pomares de citros ocorre mediante pulverizações foliares sequenciais e preventivas, possibilitando que os insetos sejam expostos à ação de efeitos letal ou subletal do inseticida. O efeito letal causa a morte por neuroexcitação e os efeitos subletais podem causar alterações comportamentais e fisiológicas nos insetos (NAUEN, 1995; NAUEN; KOOB; ELBERT, 1998; MOWRI; OPHUS, 1992; STARK; BANKS, 2003).

Além das pragas, os inimigos naturais também são afetados por inseticidas (HILL; FOSTER, 2000; WILLIANS; PRICE; MANRIQUE, 2003; TILLMAN; MULLINIX, 2004; TILLMAN, 2006). A ação letal e subletal compromete o desempenho destes agentes de controle, como no caso de *Tamarixia radiata* (Hymenoptera: Eulophidae), o mais importante parasitoide empregado no controle de *D. citri*. Alguns trabalhos com imidacloprid tem mostrado a ação negativa dos efeitos subletais deste inseticida sobre este parasitoide (CARVALHO, 2008; COCCO; HOY, 2008; FERRARI, 2009, HALL; NGUYEN, 2010).

Em geral, poucos são os estudos que abrangem a ação letal e subletal de pesticidas sobre insetos. Na maioria dos trabalhos são empregadas concentrações letais e seu efeito é avaliado sobre um estágio de desenvolvimento, após um determinado período de exposição ao produto (OVERMEER; ZON, 1981; STARK; RANGUS, 1994; STARK et al., 1997). Do mesmo modo, em estudos com concentrações subletais, as avaliações são restritas à biologia ou o comportamento em fases de desenvolvimento do inseto pré-definidas. Entretanto, o uso destas metodologias tradicionais não permite a

ampla avaliação do efeito tóxico de um pesticida (FORBES, CALOW, 1999; STARK; BANKEN, 1999).

O uso de análises toxicológicas demográficas para avaliar o efeito de pesticidas é uma alternativa prática, empregada na ecotoxicologia (DANIELS; ALLAN, 1981; VAN LEEWEN; LUTMER; GRIFFIONEN, 1985; BECHMANN, 1994; CALOW; SIBLY; FORBES, 1997). Estudos que avaliam parâmetros de desenvolvimento populacional como a taxa intrínseca de crescimento (r_m) associada a efeitos letais e subletais são utilizados em avaliações de pesticidas em artrópodes (STARK; BENKEN, 1999). O r_m mensura a capacidade de aumento exponencial de uma população em um ambiente ilimitado (WALTHALL; STARK, 1997a) e seu uso para avaliar o efeito de pesticidas sobre populações de artrópodes é mais relevante que bioensaios tradicionais onde se avaliam concentrações letais (CL) sobre parâmetros como fecundidade ou sobrevivência de insetos (VAN LEEWEN; LUTMER; GRIFFIONEN, 1985). Entretanto a obtenção de r_m é laboriosa e requer a confecção da tabela de vida de fertilidade.

Uma alternativa ao uso do r_m é a taxa instantânea de crescimento (r_i) (HALL, 1964). A r_i mensura a capacidade de uma população crescer exponencialmente no tempo (HALL, 1964) de modo similar ao r_m e sem a necessidade da confecção de tabelas de vida e fertilidade (WALTHALL; STARK, 1997a). O emprego da r_i pode integrar parâmetros ecológicos e toxicológicos envolvendo artrópodes e pesticidas, proporcionando resultados realísticos sobre a ação tóxica de pesticidas em populações de artrópodes (WALTHALL; STARK, 1997a).

O uso da r_i pode viabilizar uma avaliação abrangente da ação dos efeitos letal e subletais de imidacloprid sobre *D. citri*, permitindo uma estimativa realística da possibilidade da interação do controle químico e biológico com *T. radiata*. Nesse sentido, estudos foram conduzidos para verificar o impacto da toxicidade de imidacloprid sobre a r_i de *D. citri* exposta a diferentes idades residuais e CLs de imidacloprid e também para avaliar a viabilidade da integração de imidacloprid com *T. radiata* no manejo de *D. citri*.

5.2 Material e métodos

5.2.1Coleta e manutenção de insetos

A população de *D. citri* proveniente de uma criação de laboratório foi mantida sobre *Murraya paniculata* L. em sala climatizada a 27±1°C, U.R.: 60±10% e fotofase de 14h. A população de *T. radiata* foi proveniente de criação massal mantida pelo Laboratório de Biologia de Insetos, ESALQ/USP, Piracicaba, Estado de São Paulo, Brasil.

5.2.2 Determinação do período de avaliação (*Δt*) para taxa instantânea de crescimento (r_i)

Para determinar um período apropriado de avaliação (Δ*t*) a ser empregado na estimativa da taxa instantânea de crescimento (r_i) de *D. citri*, uma planta de *M. paniculata* com brotações tenras foi acondicionada em gaiola telada (50×50×50 cm), sendo posteriormente liberadas 10 fêmeas grávidas de *D. citri*. Como os psilídeos necessitam de brotações para a oviposição, a cada 7 dias uma nova planta era adicionada no interior da gaiola. As avaliações foram realizadas aos 28, 35, 42 e 49 dias após a introdução dos insetos nas gaiolas, sendo estas datas baseadas em tabelas de vida de fertilidade (LIU; TSAI, 2000; TSAI; LIU, 2000; NAVA et al., 2007). Os bioensaios foram realizados em condições controladas (27±1°C, U.R. 60±10% e fotofase de 14h).

Para cada Δ*t* foi registrado o número total de ovos, ninfas e adultos. A r_i foi estimada pela equação $r_i = [[\ln (N_f / N_o)]/ \Delta t]$, onde N_f é o número final de indivíduos vivos, N_o é o número inicial de indivíduos vivos e Δ*t* é o intervalo de tempo (dias) entre o início e o término do bioensaio (STARK et al., 1997; WALTHALL; STARK, 1997b). O delineamento adotado foi o inteiramente casualizado, sendo cada Δ*t* constituído de 5 repetições .

5.2.3 Efeito da toxicidade residual sobre a demografia de *D. citri*

Após a determinação do Δ*t*, avaliou-se o efeito de idades residuais de imidacloprid sobre a r_i de *D. citri*. O inseticida utilizado foi o Provado® 200 SC (200 gramas de ingrediente ativo por kg – suspensão concentrada, Bayer CropScience Ltda.). Inicialmente, as plantas de *M. paniculata* foram pulverizadas com a utilização de um pulverizador manual costal, equipado com bico cone vazio de vazão constante, com capacidade para 10 litros, até o ponto de escorrimento com a concentração recomendada para controle de *D. citri* (40µg de imidacloprid/mL de água) (MAPA, 2012). Após as pulverizações as plantas foram mantidas em casa de vegetação. Os insetos foram

expostos ao resíduo do inseticida com 7, 14, 21, 28, 35, 42, 49 e 56 dias após a pulverização. O tratamento controle foi constituído por plantas pulverizadas com água.

Como a oviposição de *D. citri* ocorre preferencialmente sobre brotações, e plantas de *M. paniculata* levam ≈ 14 dias para desenvolver brotações apropriadas, as plantas foram podadas 14 dias antes de serem utilizas nos bioensaios. Nestas podas foram retiradas apenas as extremidades dos ramos, preservando-se aproximadamente 90% da área tratada, possibilitando brotações ideais para oviposição e o posterior desenvolvimento de ninfas sobre plantas com resíduo de imidacloprid.

As avaliações foram realizadas após 49 (Δt) dias por meio de contagem total dos ovos, ninfas e adultos de cada gaiola. A r_i foi calculada pela equação $r_i = [[\ln (N_f / N_o)]/ \Delta t]$. O delineamento experimental adotado foi o inteiramente casualizado. Para cada tratamento foram realizadas 5 repetições. Os valores de N_f de cada gaiola foram transformados pela somatória de 0,1 na presença de N_f igual a zero e N_f maior que zero num mesmo tratamento, pois quando N_f é igual a zero não é possível estimar a taxa instantânea de crescimento (r_i) (STARK; BANKEN, 1999).

5.2.4 Estimativa da linha básica de suscetibilidade de *D. citri* a imidacloprid

Para a estimativa da linha básica de suscetibilidade de *D. citri* a imidacloprid foram utilizadas oito concentrações, espaçadas logaritimicamente, e que proporcionaram uma mortalidade de psilídeos entre 5 e 95%. O biensaio empregado foi o de contato residual. Para isso, discos foliares com 3,3 cm de diâmetro foram retirados de folhas de laranjeira ‘Pera Rio’ com o auxílio de um vazador metálico. Posteriormente, os discos foram mantidos sobre algodão umedecido até a pulverização. A aplicação foi feita sobre a superfície abaxial com uso de torre de Potter (Burkard Manufacturing, Rickmansworth Herts, Reino Unido) calibrada à pressão de 10 psi (12 lbf/pol²). Em cada pulverização foi utilizado 2 mL de solução, obtendo-se uma deposição residual de 1,56 mg/cm².

Após a pulverização, os discos foliares foram novamente acondicionados sobre algodão umedecido até a secagem do produto, sendo em seguida colocados em placas acrílicas de 3,5 cm de diâmetro (Falcon 1008, Becton Dickinson Labware, Lincoln park, NJ, USA), contendo uma camada de ágar-água (2%). Posteriormente cada disco foi infestado com 10 adultos de *D. citri* anestesiados com CO_2. Após a infestação as placas foram tampadas e mantidas a 25±1°C, U.R.: 70±1% e fotofase de 14h. A mortalidade

foi avaliada após 24h da pulverização dos tratamentos. Para isto, os psilídeos foram dispostos com a parte dorsal voltada para baixo e aqueles que não responderam com movimentos vigorosos e voltaram à posição normal e caminharam, foram considerados mortos.

O delineamento adotado foi o inteiramente casualizado. Para cada concentração testada foram realizadas cinco repetições. Cada repetição foi formada por quatro placas acrílicas, com 10 psilídeos. Os dados de mortalidade foram submetidos à análise de Probit utilizando o programa POLO-PC (LEORA, 1987).

5.2.5 Efeito da toxicidade de imidacloprid associado a *T. radiata* sobre a demografia de *D. citri*

Para avaliar o efeito de concentrações subletais de imidacloprid sobre a demografia de *D. citri*, plantas de *M. paniculata* com brotações novas foram pulverizadas com a CL_5 (0,501 µg/mL - IC 95%), CL_{10} (0,804 µg/mL - IC95%), CL_{25} (1,995 µg/mL - IC95%) e CL_{50} (5,213 µg/mL - IC95%) com um pulverizador manual até o ponto de escorrimento. Após a pulverização as plantas foram isoladas em casa de vegetação até a secagem do resíduo. Posteriormente, uma planta pulverizada foi introduzida em gaiola telada (50×50×50 cm), juntamente com 10 fêmeas grávidas de *D. citri*.

Para avaliar o efeito da interação de imidacloprid e *T. radiata* na r_i de *D. citri*, 3 fêmeas de *T. radiata* foram introduzidas em cada gaiola no 35º dia após a pulverização. Esta data de liberação do parasitoide foi baseada em estudos prévios de tabela de vida de fertilidade (GÓMEZ-TORRES et al., 2012), possibilitando a presença de ninfas de *D. citri* para o parasitismo e o desenvolvimento de uma geração de *D. citri* e *T. radiata* em contato com concentrações subletais de imidacloprid.

As avaliações dos experimentos foram realizadas após 49 dias (Δt). No bioensaio apenas com CLs, contabilizaram-se todos os ovos ninfas e adultos de *D. citri*. No bioensaio onde foi avaliada a interação de CLs e *T. radiata*, além de *D. citri*, foram contados os ovos, imaturos e adultos emergidos do parasitoide. Para *D. citri* e *T. radiata* foi calculada a taxa instantânea de crescimento (r_i) pela equação $r_i = [[\ln (N_f / N_o)]/ \Delta t]$. O delineamento experimental adotado foi o inteiramente casualizado. Para cada tratamento foram realizadas cinco repetições, além de dois controles pulverizados com água, com e sem *T. radiata*. Os valores de N_f foram transformados pela somatória de 0,1 na presença de N_f igual a zero e N_f maior que zero num mesmo tratamento, pois quando

N_f é igual a zero não é possível estimar a taxa instantânea de crescimento (r_i) (STARK; BANKEN, 1999).

5.2.6 Análise estatística

Os N_f dos bioensaios e a r_i oriunda da determinação do período de avaliação (Δt) para estimar a r_i de *D. citri* foram submetidos a análises com modelos lineares generalizados (GLM) (NELDER; WEDDERBUM, 1972) do tipo quasi-Poisson. Quando houve diferença significativa entre os tratamentos, comparações múltiplas (Tukey, $p < 0,05$) foram realizadas com a função glht do pacote multicomp com ajuste dos valores de p. As análises foram realizadas com o software estatístico "R", versão 2.15.1 (R CORE TEAM, 2012). Para a determinação do período de avaliação (Δt), o Δt selecionado foi a data que apresentou o r_i mais próximo da taxa intrínseca de crescimento (r_m) de 0,1018 para *D. citri* estudadas sobre *M. paniculata* (NAVA et al., 2007).

Os valores de r_i obtidos pela análise do impacto da toxicidade residual e de concentrações letais de imidacloprid sobre *D. citri* e *T. radiata* foram comparados por modelos lineares mistos ($p < 0,05$). Para a r_i obtida pela toxicidade residual o modelo polinomial de ordem 4 para tratamentos com variâncias diferentes em cada tratamento foi o mais adequado aos dados. Para as demais r_i o modelo mais adequado foi o de tendência linear para tratamentos e variâncias diferentes para cada tratamento (software estatístico "R", versão 2.15.1). Os valores de r_i também foram comparados entre os tratamentos: r_i positivo = crescimento populacional; r_i zero = estabilidade populacional; r_i negativo = população em declínio com provável extinção (WALTHALL; STARK, 1997a; HALL, 1964).

5.3 Resultados

5.3.1 Determinação de período de avaliação (Δt) para taxa instantânea de crescimento (r_i)

As taxas instantâneas de crescimento (r_i) apresentaram diferenças significativas conforme o período de avaliação (Δt) ($F = 534,66$; g.l. = 3, 19; $p < 0,01$) (Tabela 5.1). Conforme houve o aumento do Δt ocorreu uma redução no r_i (Tabela 5.1). O Δt de 42 e 49 dias apresentaram um r_i de 0,1135 e 0,0998. Estes valores são próximos ao r_m de 0,1018 (NAVA et al., 2007). Deste modo, devido à proximidade com este r_m, o Δt de 49

dias foi definido como apropriado para ser empregado nos estudos de densidade demográfica. Esta escolha foi reforçada pelo fato de que o Δt afetou significativamente o número final de indivíduos (N_f) (F = 12,88; g.l. = 3, 19; p < 0,05), entretanto o N_f não variou de modo significativo entre 42 e 49 dias, o que pode indicar a estabilização da população.

Tabela 5.1 - Número final de indivíduos (N_f) e taxa instantânea de crescimento (r_i) (± epm) de *D. citri* em diferentes períodos de avaliação (Δt)

Δt (dias)	N_f[1]	r_i[1]
49	1338,8 ± 69,80a	0,0998 ± 0,0011a
42	1184,4 ± 66,54ab	0,1135 ± 0,0013b
35	1018,6 ± 34,30bc	0,1321 ± 0,0009c
28	853,4 ± 09,94 c	0,1588 ± 0,0004d
F	12,88	534,66
g.l.	3, 19	3, 19
p	0,05	0,01

[1] (GLM com distribuição *quase-poisson*, p<0,05)

5.3.2 Efeito da toxicidade residual sobre a demografia de *D. citri*

Ocorreram diferenças significativas entre o N_f dos insetos da testemunha e o N_f dos insetos expostos aos tratamentos com diferentes idades residuais de imidacloprid (F = 28,11: g. l.= 8, 39: p < 0,001) (Tabela 5.2).

Tabela 5.2 - Número final de indivíduos (N_f) (± epm) de *D. citri* expostos por 49 dias (Δt) a diferentes idades residuais do inseticida imidacloprid[1]

Tratamentos (dias)	N_f[2]
Testemunha (água)	638,4 ± 69,40a[3]
07	0,0 ± 0,00[4]
14	2,40 ± 1,29b
21	31,2 ± 17,17b
28	72,00 ± 49,18b
35	70,4 ± 33,40b
42	13,40 ± 5,60b
49	9,40 ± 3,04b
56	16,40 ± 3,46b
F	28,11
g.l.	7, 39
p	<0,0001

[1] Concentração pulverizada: 20 ml de Imidacloprid/100 litros de água (40 ppm);
[2] O número final de indivíduos (N_f) foi obtido a partir de 10 fêmeas grávidas (N_o).

[3] Médias seguidas de letras distintas indicam diferenças significativas entre os tratamentos (GLM com distribuição quase-poisson seguido por *post hoc* teste de Tukey, p<0,05).
[4]Tratamento não incluso na análise (variância nula).

O residual de 7 dias causou a extinção da população, enquanto os residuais de 14, 21, 42, 49 e 56 dias proporcionaram uma redução no N_f superior a 97%. Para os residuais de 28 e 35 dias a redução foi superior a 85%. O baixo N_f das populações resultou em r_i negativo para os residuais com 7, 14, 21, 42 e 49 dias, sendo significativa a ação residual de imidacloprid sobre o r_i de *D. citri* (F = 13,27: p < 0,001) (Figura 5.1). O r_i para os residuais de 28 dias (r_i = 0,004), 35 (r_i = 0,009) e 56 (r_i = 0,008) indicaram um crescimento populacional. Entretanto, esses valores são respectivamente, 96%, 91% e 93% menores que o r_i da testemunha (0,112).

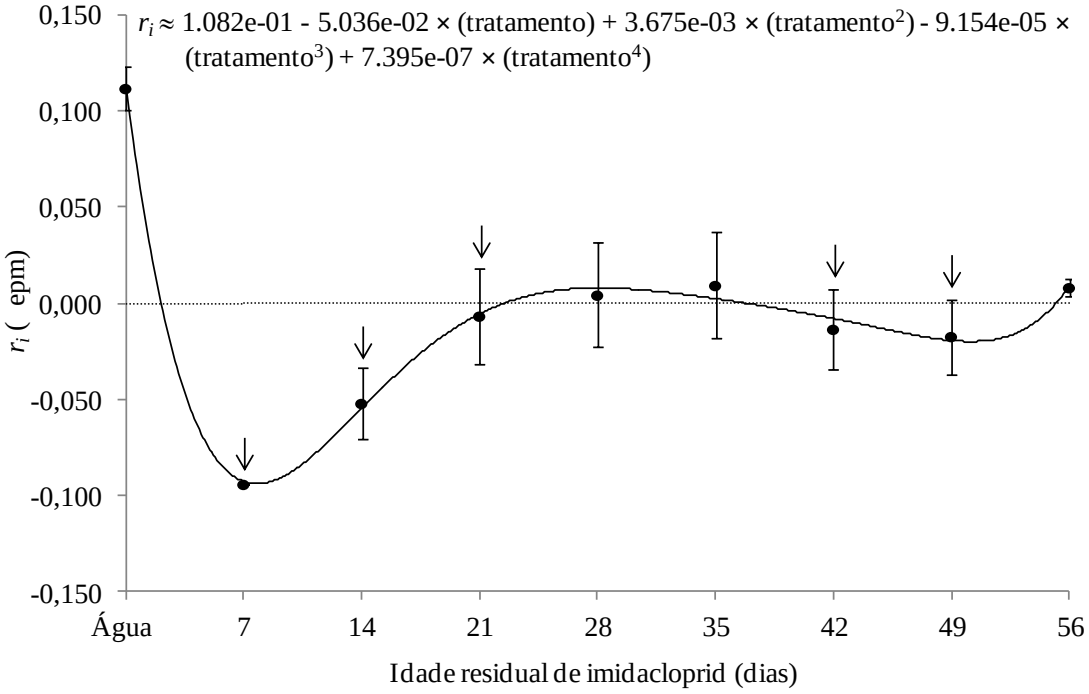


Figura 5.1 - Taxa instantânea de crescimento (r_i) (± epm) de *D. citri* criadas em *M. paniculata* com diferentes idades residuais de imidacloprid. Setas indicam população em processo de extinção

5.3.3 Estimativa da linha básica de suscetibilidade de *D. citri* a imidacloprid

Baseada na linha básica de suscetibilidade de imidacloprid sobre *D. citri* foram estimadas as CL_5 de 0, 50 µg/mL (0,368-0,647; IC95%), CL_{10} de 0,80 µg/mL (0,651-1,042; IC95%)], CL_{25} de 1,99 µg/mL (1,668-2,335; IC95%) e CL_{50} de 5,21 µg/mL (4,565-5,949, IC95%), coeficiente angular de 1,61 (± 0,06) e χ^2 de 8,60.

5.3.4 Efeito da toxicidade de imidacloprid associado a *T. radiata* sobre a demografia de *D. citri*

A avaliação de concentrações subletais (CLs) sobre a r_i de *D. citri* mostraram diferenças significativas entre o N_f dos tratamentos e o N_f do controle (F = 7,7128 g. l. = 4, 24: p < 0,006) (Tabela 5.3). As CL_5 e CL_{10} não se diferenciaram do controle quanto ao N_f, entretanto, apresentaram uma redução populacional de ≈ 50%. Já o N_f das populações expostas a CL_{25} e CL_{50}, foram 74 e 90% menores que o controle, respectivamente (Tabela 5.3).

Tabela 5.3 - Número final de indivíduos (N_f) (± epm) de *D. citri* após 49 dias de exposição a diferentes concentrações do inseticida imidacloprid (µg de Imidacloprid/mL de água)

Tratamentos (µg de I. A./mL de água)	N_f [1]
Testemunha	834,00 ± 147,27a
0,50 (CL_5)	421,20 ± 98,43abc
0,80 (CL_{10})	460,00 ± 110,46ab
1, 99 (CL_{25})	212,40 ± 42,48bc
5,21 (CL_{50})	64,80 ± 26,61c
F	7,7128
g.l.	4, 24
p	0,0006

[1] Médias seguidas de letras distintas indicam diferenças significativas entre os tratamentos (GLM com distribuição quase-poisson seguido por *post hoc* teste de Tukey, p<0,006)

Para todos os tratamentos a r_i foi positiva, sendo que o aumento nas CLs reduziu significativamente a r_i das populações (F = 18,64: p < 0,001) (Figura 5.2). A r_i proporcionada pela CL_5 e CL_{10}, foram respectivamente 22% e 11% menores que a apresentada pelo controle, sendo que a CL_5 corresponde a uma redução de 80 vezes e a CL_{10} a 50 vezes a concentração recomendada para controle de *D. citri* (40µg/mL). Para as CL_{25} e CL_{50} a redução da concentração foi de 20 e 8 vezes respectivamente, sendo que a r_i das populações expostas a CL_{25} e CL_{50} foram 55 e 89% menores que o controle, respectivamente.

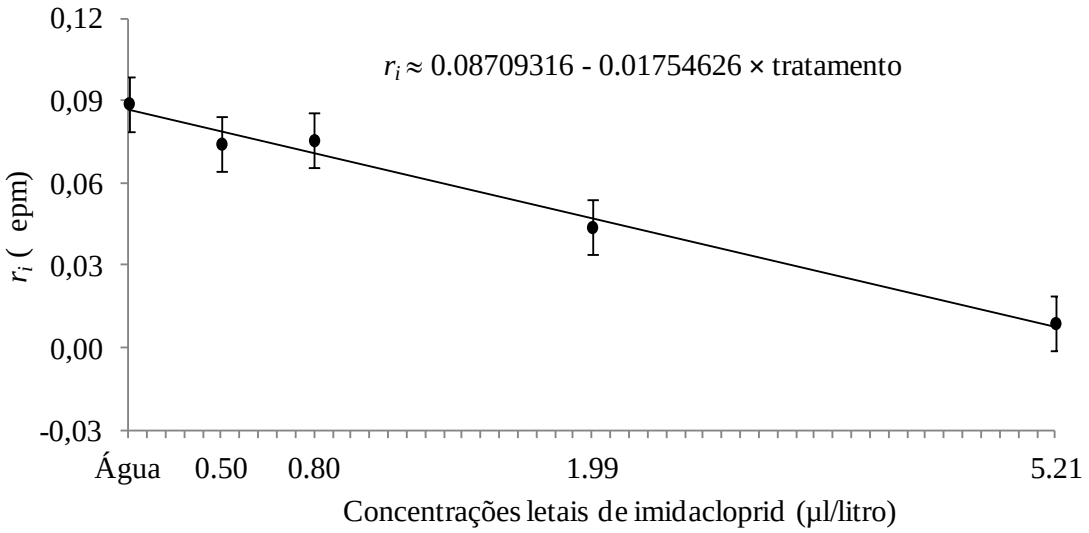


Figura 5.2 - Taxa instantânea de crescimento (r_i) (± epm) de *D. citri* exposta a diferentes concentrações leais do inseticida imidacloprid

A associação das CLs e *T. radiata* não causou a extinção de *D. citri*. O N_f das populações foi significativamente diferente do N_f do controle (F = 12.,28; g. l. = 4, 24; p < 0,001). Apesar de não se diferenciar do controle, o N_f de psilídeos expostos a CL_5 e *T. radiata* apresentaram uma redução populacional de 43%. O aumento das CLs afetou de maneira significativa o N_f das populações, com reduções populacionais de 58, 70 e 93% para as populações expostas a CL_{10}, CL_{25} e CL_{50} e *T. radiata*, respectivamente (Tabela 5.4).

Tabela 5.4 - Número final de indivíduos (N_f) (± epm) de *D.citri* após 49 dias de exposição a diferentes concentrações de imidacloprid e a *T. radiata*

Tratamentos (µg de I. A./mL de água)	N_f [1]
Testemunha + *T. radiata*	733,40 ± 69,04a
0,50 (CL_5) + *T. radiata*	413,20 ± 59,03ab
0,80 (CL_{10}) + *T. radiata*	305,60 ± 72,24b
1,99 (CL_{25}) + *T. radiata*	214,60 ± 84,79bc
5,21 (CL_{50}) + *T. radiata*	48,80 ± 29,68c
F	12,288
g.l.	4, 24
P	<0,0001

[1] Médias seguidas de letras distintas indicam diferenças significativas entre os tratamentos (GLM com distribuição quase-poisson seguido por *post hoc* teste de Tukey, p<0,006)

A r_i originada pelas CLs associadas a *T. radiata* foram positivas, sendo observada a redução significativa da r_i de modo proporcional ao aumento das concentrações letais (F = 41,46; p < 0,001) (Figura 5.3). A r_i da população exposta a CL_5 e *T. radiata* (r_i = 0,075) e CL_{10} (r_i = 0,068), foram respectivamente 13% e 21% menores que o controle (r_i = 0,087). Para a interação da CL_{25} e CL_{50} e *T. radiata* a r_i das populações foram respectivamente 44% e 90% menores que o controle.

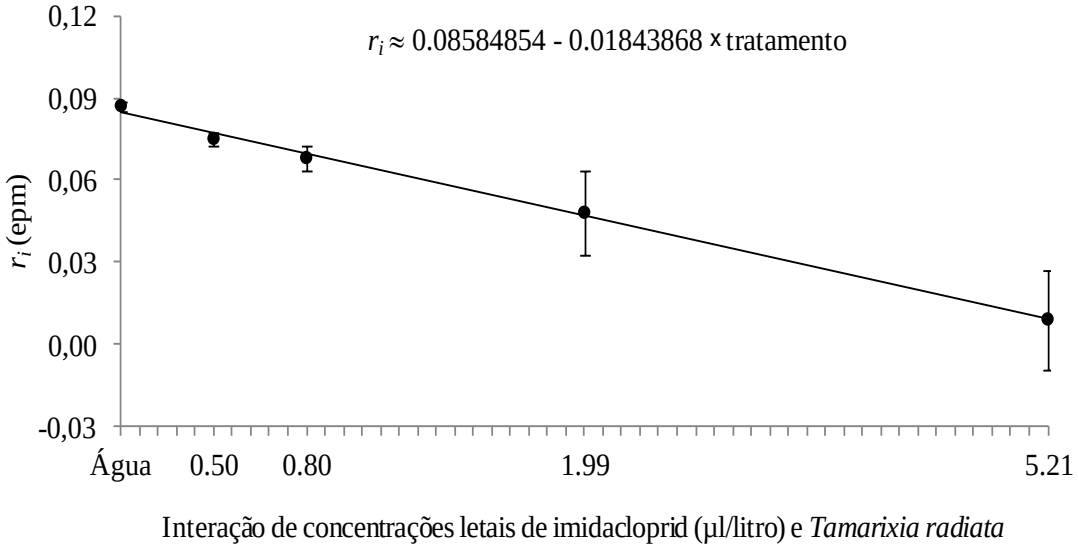


Figura 5.3 - Taxa instantânea de crescimento (r_i) (± ep) de *D.citri* exposta a diferentes concentrações letais do inseticida imidacloprid e a *T. radiata*

A comparação entre o N_f das populações de psilídeos expostas a diferentes CLs na presença e ausência de *T. radiata* não apresentaram diferenças significativas (Figura 5.4). Os controles foram os tratamentos que apresentaram os maiores N_f, entretanto, mesmo com um deles exposto ao parasitismo por *T. radiata*, não ocorreram diferenças significativas entre eles (F = 0,3826; g.l. = 1, 8; p > 0,05). Do mesmo modo não foram verificadas diferenças significativas entre as CL_5 (F = 0,051; g.l. = 1,8; p > 0,05), CL_{10} (F = 1,3684; g.l. = 1, 8; p > 0,05), CL_{25} (F = 0,02; g.l. = 1, 8; p > 0,05) e a CL_{50} (F = 0,1506; g.l. = 1, 8; p > 0,05) com e sem parasitoide.

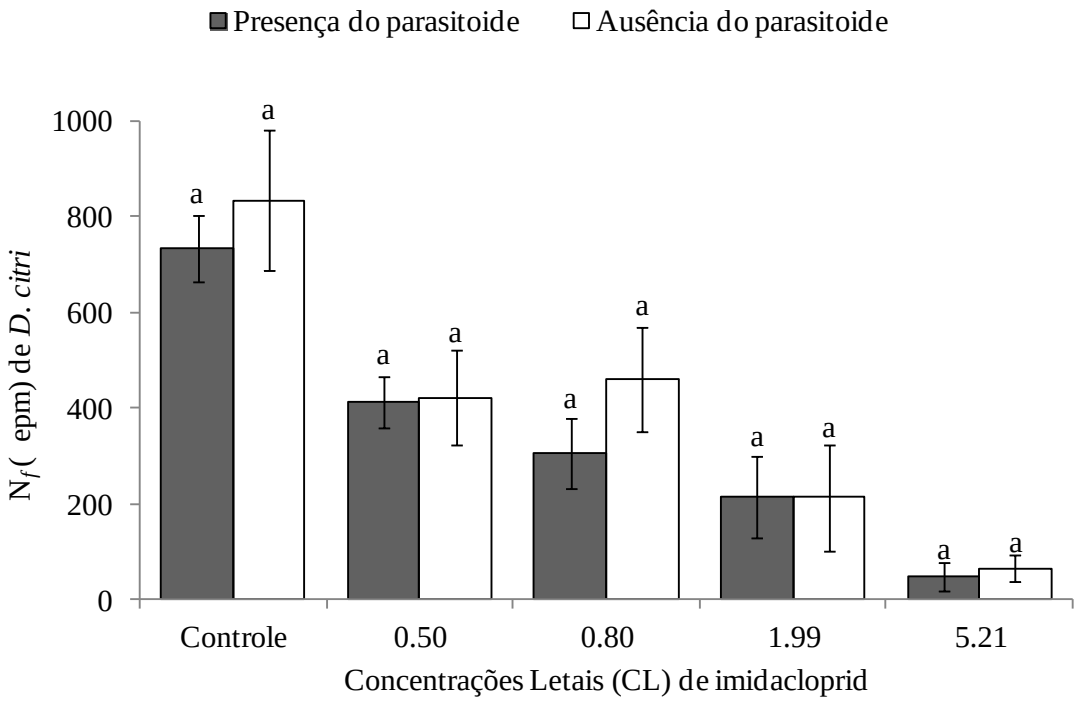


Figura 5.4 - Número final (N_f) (± epm) de *D. citri* expostas a diferentes concentrações letais (CL) na presença e ausência de *T. radiata*. Letras distintas em cada tratamento diferem entre si de acordo com o teste t ($p < 0,05$)

Para *T. radiata* não foram observados diferenças estatísticas entre os N_f das populações expostas a diferentes CLs e o N_f da população controle ($F = 0,2442$; g. l. = 4,24; $p > 0,8642$) (Tabela 5.5). Entretanto, houve redução do N_f com o aumento das concentrações letais. Mesmo em concentrações 80 vezes menores (CL_5) que a recomendada para controle de *D. citri*, o parasitoide teve uma redução populacional 22%. Reduções populacionais também foram observadas para populações expostas a CL_{10} (37%) e CL_{25} (58%), enquanto a CL_{50} causou a sua extinção (Tabela 5.5).

Tabela 5.5 - Número final de indivíduos (N_f) (± epma) de *T. radiata* após 14 dias de exposição a diferentes concentrações letais (CL) do inseticida imidacloprid estimadas sobre adultos de *D. citri*

Tratamentos	N_f [1]
Testemunha (água)	112,8±20,71
0,50 (CL_5)	87,8±56,37
0,80 (CL_{10})	71,20±27,53
1, 99 (CL_{25})	47,00±24,3
5,21 (CL_{50})	0,00 ± 0,00*
F	0,2442 [ns]
g.l.	4, 24
P	0,8642

[1] Médias seguidas de letras distintas indicam diferenças significativas entre os tratamentos (GLM com distribuição quase-poisson seguido por *post hoc* teste de Tukey, p<0,05);
*Tratamento não incluso na análise (variância nula);
[ns] Não significativo ($p > 0,05$).

De modo similar ao ocorrido com os psilídeos, a r_i dos parasitoides expostos a diferentes CLs apresentaram redução significativa na medida em que as concentrações aumentaram (F = 872,9; p < 0,001) (Figura 5.5). As r_i obtidas pela exposição de *T. radiata* a CL_5 (r_i = 0,17) e CL_{10} (r_i = 0,16), foram aproximadamente 25% menores que a verificada para o controle (r_i = 0,22). Já as populações expostas a CL_{25} (r_i = 0,04) sofreram uma redução de 80 %, enquanto que a extinção do parasitoide ocorreu com sua exposição a CL_{50} (r_i = -0,23).

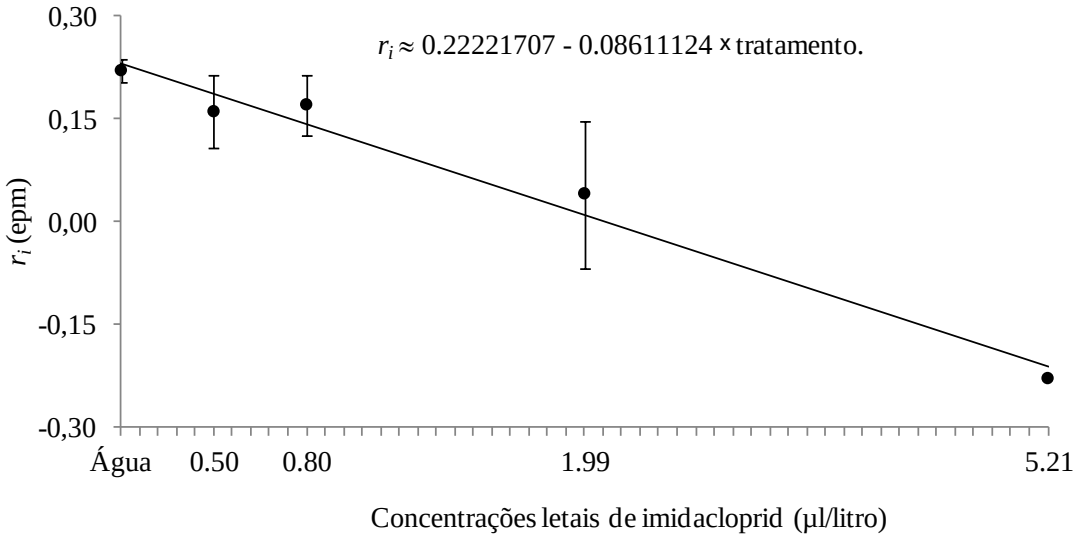


Figura 5.5 - Taxa instantânea de crescimento (r_i) (± epm) de *T. radiata* exposta a diferentes concentrações do inseticida imidacloprid estimadas sobre adultos de *D. citri*

5.4 Discussão

O Δt de 49 dias foi apropriado para uso nas análises toxicológicas que avaliaram a ação letal e subletal de imidacloprid sobre a r_i de *D. citri*. O cuidado na escolha do Δt está associado a sua ligação com a r_i, e a sua relação empírica com o r_m de tabelas de vida de fertilidade (WALTHALL; STARK, 1997a; WALTHALL; STARK, 1997b). Sua importância também está na necessidade de se obter um tempo mínimo de desenvolvimento para análises demográficas, onde os indivíduos atinjam sua taxa máxima de desenvolvimento (WALTHALL; STARK, 1997a), sendo isso verificado pela ausência de diferenças significativas entre o N_f das avaliações realizadas aos 42 e 49 dias.

O emprego do Δt de 49 dias também foi apropriado para avaliar a r_i de *T. radiata*, pois Gómez-Torrez et al. (2012) verificaram um intervalo entre gerações para *T. radiata* mantidas nas temperaturas de 25º e 30ºC de 15,5 a 11,78 dias respectivamente. Como a liberação do parasitoide foi no 35º dia, a sua permanência na gaiola por 14 dias, pode ter possibilitado o desenvolvimento de ao menos uma geração de *D. citri* e *T. radiata* sobre imidacloprid.

A redução da r_i de *D. citri* em função do aumento do Δt pode estar ligada a sua taxa máxima de desenvolvimento. Em geral, populações de artrópodes apresentam crescimento exponencial ate atingir a estabilidade (STARK; WALATHALL, 2003).

Como as datas avaliadas foram baseadas em tabelas de vida de fertilidade (TSAI; LIU, 2000; LIU; TSAI, 2000; NAVA et al., 2007), a redução da r_i ocorreu em função da estabilização da população, fato confirmado pela ausência de diferenças significativas entre os N_f das populações avaliadas com 42 e 49 dias. Segundo Nava et al. (2007) o intervalo ente gerações para *D. citri* é 44 dias.

As idades residuais de imidacloprid afetaram o desenvolvimento do psilídeo. Estes resultados evidenciam a ação dos efeitos letal e subletal, pois residuais com até 49 dias proporcionaram r_i negativo indicando a provável extinção de *D. citri* (STARK; WALATHALL, 2003). Devido à importância do psilídeo, vários trabalhos envolvendo inseticidas de diversos grupos químicos foram realizados. Entretanto, as metodologias empregadas não mensuram de modo abrangente o efeito tóxico dos inseticidas sobre o psilídeo, pois mesmo CLs abaixo das curvas de concentração resposta podem causar o declínio e a extinção de uma população (BECHMANN, 1994; WALTON, 1981). Neste contexto, estudos que avaliem o efeito de pesticidas sobre a mortalidade de pragas necessitam de abordagens abrangentes, pois metodologias tradicionais subestimam os efeitos tóxicos dos inseticidas, acarretando em pulverizações desnecessárias.

A r_i positiva para os residuais de 28, 35 e 56 dias indicaram um crescimento populacional. Entretanto, são menores que a r_i do controle sugerindo que parâmetros biológicos como a reprodução e longevidade foram afetados. A r_i positiva dos residuais com 28 e 35 dias podem ser atribuídos ao comportamento de *D. citri*. Como o psilídeo é atraído para brotações por estímulos olfativos e visuais (WENNINGER; STELINSKI; HALL, 2009), é possível o deslocamento de psilídeos diretamente para brotações tenras sem resíduo, de modo similar ao que ocorre nos pomares. Pois, devido à dispersão (CHILDERS; ROGERS, 2005), psilídeos ao migrarem para novas áreas podem ser atraídos para brotações sem pesticidas. Entretanto, o menor número de brotações em um ambiente amplo e pulverizado sistematicamente, reduz o sucesso destas infestações primárias.

A r_i positiva sobre o residual de 56 dias pode ser atribuída à degradação do produto. Em condições de campo, pulverizações com imidacloprid mostram um controle eficiente de psilídeos por um período entre 20 e 30 dias (CHILDERS, ROGERS, 2005). Este menor efeito residual é devido a vários fatores, sendo o mais comum à degradação pela ação dos efeitos ambientais. Entretanto, apesar do menor efeito residual, a mortalidade proporcionada pela ação de efeitos letais e subletais pode

ser incrementada, pois psilídeos infectados com *Ca*. Liberibacter são mais suscetíveis a inseticidas que os insetos sem a bactéria (TIWARI; PELZ-STELINSKI; STELINKI, 2012).

O conhecimento do efeito residual de imidacloprid sobre a r_i de *D. citri* é relevante em programas de manejo regional do HLB. Visando um controle eficiente da doença, está se difundindo o manejo regional, onde extensas áreas estão sob o mesmo sistema de manejo fitossanitário. Nesta estratégia as pulverizações são coordenadas em um intervalo de tempo, permitindo o conhecimento da idade residual do inseticida em toda região. Neste contexto, a implementação de análises toxicológicas demográficas em condições de campo podem gerar informações que contribuam para avaliações consistentes e realísticas da ação letal e subletal de inseticidas sobre *D. citri*, reduzindo pulverizações e minimizando efeitos indesejados.

As diferentes CLs influenciaram no N_f de *D. citri*. Em bioensaios tradicionais, onde a concentração do pesticida e a fase do inseto são fixas e avaliadas após um intervalo de tempo, não é possível mensurar o amplo efeito do inseticida, como no caso da CL_{50} que proporcionou uma redução superior a 90% na população do psilídeo. Nesta situação, o uso de análises toxicológicas demográficas possibilitaram uma avaliação realística (FORBES; CALOW; 1999), mensurando a ação do efeito tóxico (letal e subletal) de imidacloprid (STARK; BANKEN, 1999). Outro fato que evidencia a ação conjunta destes efeitos está ligado as CLs não causaram a extinção de *D. citri*, com a r_i das populações não sendo negativa, indicando o crescimento populacional. Entretanto, este foi afetado, mesmo na presença de concentrações 80 vezes menor que a recomendada para controle do psilídeo (40µg de imidacloprid/mL água).

Embora tenha ocorrido mortalidade devido ao efeito letal, o maior efeito das CLs pode ser atribuído aos efeitos subletais do inseticida. Para imidacloprid são registrados efeitos subletais como menor longevidade (WALTHALL; STARK, 1997a), redução do desenvolvimento, baixa fertilidade e fecundidade (BOINA et al., 2009), além da mudança comportamental (YANG et al., 2008). Em trabalhos utilizando a CL_{10} de imidacloprid sobre *D. citri*, Boina et al. (2009) verificaram efeitos negativos sobre a longevidade, fecundidade e fertilidade de adultos, além da redução alimentar em plantas tratadas com imidacloprid sistêmico. Estes autores também verificaram para ninfas uma menor sobrevivência, maior período de desenvolvimento e uma menor emergência de adultos.

O efeito da interação de imidacloprid e *T. radiata* sobre o N_f e a r_i de *D. citri* foram similares aos resultados onde se empregou apenas as CLs. Essa semelhança pode ser atribuída ao baixo parasitismo de *T. radiata*. Entre os fatores que podem ter afetado o parasitismo destaca-se a ação dos efeitos letais e subletais mais acentuados sobre o parasitoide do que na praga (MULLIN; CROFT, 1985), com baixas CLs proporcionando efeitos deletérios sobre o parasitismo.

A liberação de um número inadequado de parasitoides no interior da gaiola é outro fator que pode ter afetado o parasitismo. Entretanto, a liberação de 400 insetos por hectare é suficiente para afetar a demografia de *D. citri* (DINIZ et al., 2012). Este número correspondente a um inseto/25m². A liberação de 3 fêmeas por gaiola (50 × 50 × 50cm) equivale a 120.000 parasitoides por hectare. Sendo que além de parasitar ninfas de 4º e 5º instar, *T. radiata* se alimenta de ninfas mais jovens e o efeito destas ações combinadas é a supressão de 500 ninfas por uma fêmea (CHIEN; CHU, 1996). A heterogeneidade das populações também pode ter contribuído para o baixo desempenho de *T. radiata*. Em trabalhos toxicológicos demográficos, devido à abrangência de indivíduos com diferentes idades e estágios de desenvolvimento há uma grande heterogeneidade na população (NAUEN; KOOB; ELBERT, 1998). Assim, é possível a ocorrência de maior número de ovos ou adultos em detrimento a ninfas, o que corrobora para o baixo desempenho do parasitoide.

A r_i de *T. radiata* foi afetada pelo imidacloprid. Apesar do N_f não apresentar diferença significativa, à avaliação da r_i evidencia a suscetibilidade do parasitoide. De modo geral, inimigos naturais são mais suscetíveis a pesticidas que pragas (MULLIN; CROFT, 1985). Esse fato foi observado pela extinção dos insetos expostos a CL_{50}. Essa menor tolerância pode estar associada a fatores como a idade e a fisiologia, pois inimigos naturais tem menor capacidade para detoxificar xenobiontes (ROSENHEM; HOY, 1986).

A toxicidade de imidacloprid sobre *T. radiata* é reportada por Cocco e Hoy (2008), onde a exposição por 2h a resíduos de imidacloprid causou 100% de mortalidade. Ferrari (2009) verificou a mortalidade de 72 e 55% dos parasitoides expostos a 96 e 48 µg/mL de imidacloprid por 24h. Em trabalhos de contato direto, a exposição de *T. radiata* a 139 µg/mL de imidacloprid causou 88% de mortalidade em 24 h. Entretanto a mesma concentração utilizada em contato residual causou 92% de mortalidade no mesmo período (HALL; NGUYEN, 2010). Esta sobrevivência de *T.*

radiata torna evidente a limitação de trabalhos tradicionais em avaliar os efeitos tóxicos de inseticidas, pois em nossas avaliações a concentração de 5,21 µg/mL pode ter influenciado de modo significativo na extinção do inseto em 14 dias.

A interação de imidacloprid e *T. radiata* é inviável no controle de *D. citri*. Em condições de laboratório, os resultados obtidos pelas análises toxicológicas demográficas mostraram o efeito tóxico das diferentes idades residuais de imidacloprid e das CLs, onde a CL_{50} (5,21 µg/mL) proporcionou uma redução superior a 90% na população do psilídeo e causou a extinção do parasitoide, sendo que CLs menores podem ter comprometido o seu desempenho. Estes resultados também indicam a limitação de bioensaios tradicionais em mensurar os efeitos de um pesticida e a necessidade de novas abordagens em estudos toxicológicos, onde são considerados além do efeito letal, os efeitos deletérios sobre a fisiologia e/ou comportamento de artrópodes.

5.5 conclusões

- As idades residuais afetaram o desenvolvimento de *D. citri* causando a extinção e o declínio populacional;

- As concentrações letais afetaram o desenvolvimento de *D. citri*, porém não causaram a extinção;

- As idades residuais afetaram o desenvolvimento de *T. radiata* causando o declínio populacional e a sua extinção;

- A interação de pulverizações foliares com imidacloprid e *T. radiata* não é viável no controle de *D. citri*.

Referências

BECHMANN, R.K. Use of life tables and LC_{50} tests to evaluate chronic and acute toxicity effects to copper on the mrine copepod Tisbe furcata (Baird.) **Environmental Toxicology Chemistry**, New York, v. 13, p. 1509-1517, 1994.

BOINA, D.R.; ONAGBOLA, E.O.; SALVAANIB, M.; STELINSKI, L.L. Antifeedaant and sublethal efects of imidacloprid on Asian citrus psyllid *Diaphorina citri*. **Pest Management Science,** Sussex, v. 65, p. 870 – 877, 2009.

CARVALHO, S.P.L **Toxicidade de inseticidas neonicotinoides sobre o psilídeo asiático *Diaphorina citri* Kuwayama e o parasitoide *Tamarixia radiata* (Waterston).** 2008. 59p. Tese (Doutorado em Entomologia) - Escola Superior de Agricultura "Luz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2008.

CALOW, P.; SIBLY, R.M.; FORBES, V. Risk assessment on the basis of simplified life-history scenarios. **Environmental Toxicology Chemistry**, New York, v. 16, p. 1983 – 1989, 1997.

CHIEN, C.C.; CHU, Y.I. Biological control of citrus psyllid, *Diaphorina citri* in Taiwan. Biological Pest Control in Systems of Integrated pest Management. **Reprinted from Food and Fertilizer Technology center Book Series**, Taipei, n. 47, p. 93 – 104, 1996.

CHILDERS, C.C.; ROGERS, M.E. Chemical control and management approaches of the asian citrus psyllid, *Diaphorina citri* Kuwayama (Homoptera: Psyllidae) in Florida ctrus. **Proceedings of the Florida State Horicultural**, Tallahassee, v. 118, p. 48-53, 2005.

COCCO, A.; HOY, M. Toxicity of organosilicone adjuvants and selected pesticides to the asian citrus psyllid (Hemiptera: Psyllidae) and its parasitoid *Tamarixia radiata* (Hymenoptera: Eulophidae). **Florida Entomologist**, Gainesville, v. 91, n. 4, p. 610-620, 2008.

DANIELS, R.E.; ALAN, J.D. Life table evaluation of chronic exposure to pesticides. **Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences**, Ottawa, v. 38, v. 38, p. 485-494, 1981.

DINIZ, A.J.F.; ALVES, G.R.; PARRA, J.R.P.; YAMAMOTO, P.T. *Tamarixia radiata*: uma alternativa para controle do psilídeo dos citros. **Citricultura Atual**, Cordeirópolis, n. 87, p. 12-14, 2012.

FERRARI, B.M. **Efeitos letais e subletais de inseticidas sobre Tamarixia radiata (Wateston, 1922) (Hymenoptera: Eulophidae).** 2009. 77p. Dissertação (Mestrado em Entomologia) – Escola Superior de Agricultura "Luz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2009.

FORBES, V.E.; CALOW, P. Is the per capita rate of increase a good measure of populational-level effect n ecotoxicology? **Environmental Toxicology Chemistry**, New York, v. 18, p. 1544-1556, 1999.

GÓMEZ-TORRES, M.L.; NAVA, D.E.; PARRA, J.R.P. Life table of *Tamarixia radiata* (Hymnoptera: Eulophidae) on *Diaphorina citri* (Hemiptera: Pyllidae) at different temperatures. **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v. 105, n. 2 p. 338 – 343, 2012.

HALL, D.J. An experimental approach to the dynamics of natural population of *Daphnia galeata mendotae*. **Ecology**, Tempo, v. 45, p. 94-112, 1964.

HALL, D. G.; NGUYEN, R. Toxicity of pesticides to *Tamarixia radiata*, a parasitoid of the Asian citrus psyllid. **BioControl**, Dordrecht, v. 55, n. 5, p. 601-611, 2010.

HILL, T.A.; FOSTER, R.E. Effects of insecticides on the diamondblach moth (Lepidoptera: Plutellidae) and its parasitoid *Diadegma insulare* (Hymenoptera: Ichneumonidae). **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v. 93, n. 3, p. 763-768, 2000.

LEORA Software. A User's Guide to Probit or logit analysis (POLO-PC). Berkeley, CA, USA. 1987. 20 p.

LIU, H.Y.; TSAI, J.H. Effects of temperature on biology and life table parameters of the Asian citrus Psyllid, *Diaphorina citri* Kuwayama (Homoptera: Psyllidae). **Annals of Applied Biology**, Warwick, v. 137, p. 201 – 206, 2000.

MAPA – Inseticidas recomendados para o manejo de *Diaphorina citri* (Hemiptera: Psyllidae) em citros**. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento**. Disponível em: <http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons>. Acesso em: 30 dez 2012.

MOWRY, T.M.; OPHUS, J.D. Effects of sub-lethal imidacloprid levels on potato leafroll virus transmission by *Myzus persicae*. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, Dordrecht, v. 103, p 249 -255, 1992.

MULLIN, C.A.; CROFT, B.A. An update on development of selective pesticides favoring arthropod natural enemies. In. HOY, M.; HERZOG, A. **Biological Control of Agricultural Integrated Pest Management Systems**. New York: Academic Press, 1985. Cap.p. 123-150.

NAUEN, R. Behavior modifying effects of low sistemic concentrations of imidacloprid in *Myzus persicae* with special reference to an antifeeding response. **Pest ManagementScience**, Sussex, v. 44, n. 2, p. 145 – 153, 1995.

NAUEN, R.; KOOB, B.; ELBERT, A. Antifeedant effects of sublethal dosages of imidacloprid on *Bemisia tabaci*. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, Dordrecht, v. 88, p 287 -293, 1998.

NAVA, D.E.; GÓMEZ TORRES, M.L.; RODRIGUES, M.D.A.; BENTO, J.M.S.; PARRA, J.R.P. Biology of *Diaphorina citri* (Hem., Psyllidae) on different hosts and at different temperatures. **Journal of Applied Entomology**, Berlin, v. 131, p. 709 – 715, 2007.

NELDER, J.A.; WEDDERBURN, R.W.M. Generalized linear models. **Journal of the Royal Statistical Society**, London, v. 135, p. 370-384, 1972.

OVERMEER, W.P.J.; ZON, A.Q. van. A comparative study of the effect of some pesticides on three predaceous mite species: *Typhlodromus pyri*, *Amblyselus potentillae* and *A. bibens* (Acari: Phytoseiidae). **Entomophaga**, Paris, v?,n?.p. 3 – 9, 1981.

R CORE TEAM. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing. Vienna, Austria. ISBN 3-900051-07-0, Disponível em: <http://www.R-project.org/. > Acesso em: 06 out. 2012.

ROSENHEIM, J.A.; HOY, M.A. Intraespecific variation in evels of pesticide resistance in Field population of a parasitoid, *Aphytis melinus* (Hymenoptera: Aphelinidae): The role of past selection pressures. **Journal of Economic Entomology,** Lanham, v. 79, p. 1161-1173, 1986.

STARK, J.D.; RANGUS, T. Lethal and sublethal effects of nem insecticide, Morgosan-O, on pea aphid. **Pesticide Science**, Oxford, v. 41, p. 144 – 160, 1994.

STARK, J.D.; TANIGOSHI, L.; BOUNFOUR, M.; ANTONELLI, A. Reproductive potential: its influence on the susceptibility of a species to pesticides. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, New York, v. 37,p. 73-279, 1997.

STARK, J.D.; BANKEN, J.A. Importance of population structure at the time and toxicant exposure. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, New York, v. 42, p. 82-287, 1999.

STARK, J.D.; BANKS, J.E. Population-level efecs of pesticides and other toxicants on arthropods. **Annual Review of Entomology**, Stanford, v. 48, p. 505 -519, 2003.

TILLMAN, P.G.; MULLINIX, B.G. Jr. Comparison of susceptibility of pest *Euschistus servus* and predator *Podisus maculiventris* (Heteropera: Pentatomidae) to selected insecticides. **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v. 97, p. 800 -806, 2004.

TILLMAN, P.G. Susceptibility of pest *Nezara viridula* (Heteroptera: Penttomidae) and parasitoid *Trichopoda pennipes* (dipera: Tacinidae) to selected insecticides. **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v. 99, n. 3, p. 648 – 657, 2006.

TIWARI, S.; PELZ-STELINSKI, K.; STELINSKI, L.L. Effect of *Candidatus* Liberibacer asiaticus infection on susceptibility of asian citrus psyllid, *Diaphorina citri*, to selected insecticides, **Pest Management Science** , Sussex, v. 67, n. 94 - 99, 2011.

TSAI, J.H.; LIU, Y.H. Biology of *Diaphorina citri* (Homoptera: Psyllidae) on four host plants. **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v. 93, p. 1721 – 1725, 2000.

VAN LEEUWEN, C.J.; LUTMER, W.J.; GRIFFIONEN, P.S. The use of cohorts and population in chronic toxicity studies with *Daphnia magna*: A cadmium example. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, New York, v. 9, p. 26 – 39, 1985.

WALTHALL, W.K.; STARK, J.D. Comparison of two populations-level ecotoxicological endpoints: The intrinsic (r_m) and instantaneous (r_i) rates of increase. **Environmental Toxicology and Chemistry**, New York, v. 16, p. 1068-1073 1997a.

WALTHALL, W.K.; STARK, J.D. Comparison of acute mortality and population growth rate as endpoints of toxicological effects. **Environmental Toxicology and Chemistry**, New York, v. 37, p. 45-52, 1997b.

WALTON, W.E.; COMPTON, S.M.; ALLAN, J.D.; DANIELS, R.E. The effect of acid stress on survivorship and reproduction of *Daphnia pulex* (Crustaceae: Cladocera) **Canadian Journal of Zoology**, Ottawa, v. 60, p. 573-579, 1981.

WENNINGER, E.J.; STELINSKI, L.L.; HALL, D G. Roles of olfactory cues, visual cues, and matting status ins orientation of *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae) to four different host plants. **Environmental Entomology**, College Park, v. 38, n. 1, p. 225-234, 2009.

WILLIAMS, L.; PRICE, L.D.; MANRIQUE, V. Toxicity of field-weathered insecticide residues to *Anaphes iole* (Hymenoptera: Mymaridae), an egg parasitoid of *Lygus lineolaris* (Heteroptera: Miridae), and implications for inundative biological control in cotton. **Biological Control**, Orlando, v. 26, p. 217-223, 2003.

YANG, E.C.; CHUANG, Y.C.; CHEN, Y.L.; CHANG, L.H. Abnormal foraging induced by subletal dosage of imidacloprid in the honeybee (Hymenoptera: Apidae). **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v. 101, n. 6, p. 1743 -1748, 2008.