**Universidade de São Paulo
Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”**

**Efeito letal e subletais de inseticidas à *Ageniaspis citricola*
Longvinovskaya (Hymenoptera: Encyrtidae)**

Matheus Rovere de Moraes

Dissertação apresentada para obtenção do título de
Mestre em Ciências. Área de concentração:
Entomologia

**Piracicaba
2015**

Matheus Rovere de Moraes
Licenciado em Ciências Biológicas

**Efeito letal e subletais de inseticidas à *Ageniaspis citricola* Longvinovskaya
(Hymenoptera: Encyrtidae)**

Orientador:
Prof. Dr. **PEDRO TAKAO YAMAMOTO**

Dissertação apresentada para obtenção do título de
Mestre em Ciências. Área de concentração:
Entomologia

Piracicaba
2015

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

Morais, Matheus Rovere de

Efeito letal e subletais de inseticidas à *Ageniaspis citricola* Longvinovskaya
(Hymenoptera: Encyrtidae) / Matheus Rovere de Moraes. - - Piracicaba, 2015.
52 p. : il.

Dissertação (Mestrado) - - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz".

1. Parasitoide 2. Minador-dos-citros 3. Seletividade 4. MIP 5. Controle biológico
I. Título

CDD 595.79
M827e

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

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho aos meus pais JOSÉ CAETANO e APARECIDA CÉLIA, ao meu irmão TIAGO e a minha avó EVA.

AGRADECIMENTOS

A DEUS, acima de tudo, pela vida e por sempre iluminar meus passos durante a caminhada.

Ao Prof. Dr. PEDRO TAKAO YAMAMOTO pela orientação, ensinamentos, confiança e oportunidade para a realização desse trabalho.

A todos os professores do Programa de Pós-Graduação em Entomologia e Acarologia da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” (ESALQ/USP), pelos ensinamentos.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa de estudo.

Ao Departamento de Entomologia e Acarologia da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” (ESALQ/USP) por toda a infraestrutura disponibilizada para a execução desse trabalho.

Ao GABRIEL RUGNO pela inestimável ajuda nos momentos mais difíceis de execução dos experimentos.

Ao ODIMAR ZANUZO ZANARDI pela ajuda no desenvolvimento do trabalho, conhecimentos compartilhados e por estar sempre disposto à ajudar.

A PATRÍCIA MILANO pelo grande auxílio na criação dos insetos estudados.

Aos funcionários do Departamento de Entomologia e Acarologia por toda a ajuda durante a condução dos experimentos e pela amizade.

A todos os companheiros do Laboratório de Manejo Integrado de Pragas da ESALQ/USP, pela ajuda oferecida e pela amizade.

A todos os colegas da Vila Estudantil da pós-graduação pelo convívio durante todo o mestrado.

"Basta que contemples com os olhos abertos a viva natureza; e encontrarás assunto para todo o sempre e aprenderás a ser modesto".

Karl Von Frish

SUMÁRIO

RESUMO.....	11
ABSTRACT	13
1 INTRODUÇÃO	15
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	17
2.1 Aspectos bioecológicos de <i>Phyllocnistis citrella</i>	17
2.2 Aspectos bioecológicos de <i>Ageniaspis citricola</i>	18
2.3 Danos de <i>Phyllocnistis citrella</i>	19
2.4 Estratégias de manejo de <i>Phyllocnistis citrella</i>	20
2.5 Estudos de seletividade de inseticidas a inimigos naturais	22
3 MATERIAL E MÉTODOS	25
3.1 Criação e manutenção de <i>Phyllocnistis citrella</i>	25
3.2 Criação e manutenção de <i>Ageniaspis citricola</i>	26
3.3 Inseticidas avaliados	27
3.4 Efeito direto de inseticidas sobre <i>Ageniaspis citricola</i>	27
3.5 Duração da atividade nociva de inseticidas sobre adultos de <i>Ageniaspis citricola</i>	28
3.6 Efeitos subletais de abamectina no parasitismo de <i>Ageniaspis citricola</i>	29
3.7 Análise dos dados	31
4 RESULTADOS	33
5 DISCUSSÃO	37
6 CONCLUSÕES	43
REFERÊNCIAS	45

RESUMO

Efeito letal e subletais de inseticidas à *Ageniaspis citricola* Longvinovskaya (Hymenoptera: Encyrtidae)

O parasitoide *Ageniaspis citricola* Logvinovskaya é o principal agente de controle biológico do minador-dos-citros *Phyllocnistis citrella* Stainton. No entanto, com a detecção do Huanglongbing houve um aumento no uso de inseticidas nos pomares cítricos e não se conhece seus efeitos à *A. citricola*. Desta maneira, estudou-se o efeito letal de cinco inseticidas e a persistência aos 3, 7, 10, 17 e 24 dias após a pulverização em mudas de citros mantidas em casa de vegetação ao parasitoide *A. citricola*, nas dosagens especificadas (g i.a. L⁻¹): imidacloprido 0,04 (Provado® 200 SC), clorpirifós 0,72 (Lorsban® 480 BR), bifentrina 0,02 (Talstar® 100 EC), beta-ciflutrina 0,0125 (Turbo® 50 EC), abamectina 0,0054 (Vertimec®), bem como o efeito subletal no parasitismo em fêmeas expostas por 24 horas aos resíduos de abamectina. Imidacloprido, clorpirifós, bifentrina e beta-ciflutrina foram considerados nocivos para adultos de *A. citricola* (M > 75%), enquanto que, abamectina foi considerado inócuo (M < 25%). Com base na duração do efeito nocivo, clorpirifós e beta-ciflutrina foram considerados de vida curta (< 5 dias), enquanto que, imidacloprido foi levemente persistente (5-15 dias) e bifentrina moderadamente persistente (16-30 dias). Abamectina não alterou a taxa de parasitismo de *A. citricola*, mas alterou substancialmente a razão sexual (0,11) quando comparado ao tratamento controle (0,5). Os resultados indicam que deve-se ter cautela em recomendar os produtos avaliados, observando-se o efeito residual daqueles produtos considerados nocivos à *A. citricola*, de forma a explorar a seletividade ecológica. Abamectina, embora inócua a adultos do parasitoide, pode levar a uma redução populacional de *A. citricola*, devendo-se realizar estudos de campo para elucidar essa questão.

Palavras-chave: Parasitoide; Minador-dos-citros; Seletividade; MIP; Controle biológico

ABSTRACT

Lethal and sublethal effects of insecticides to *Ageniaspis citricola* Longvinovskaya (Hymenoptera: Encyrtidae)

Ageniaspis citricola Logvinovskaya is the main biological control agent of *Phyllocnistis citrella* Stainton. However, with the huanglongbing report, there was an increase in the use of insecticides in citrus orchards and the effects on *A. citricola* are not known. Thus, we studied the lethal effects of five insecticides and the persistence on 1, 3, 7, 10, 17 and 24 days post application in seedlings of citrus kept in greenhouse, using the specified dosages (g a.i. L⁻¹): imidacloprid 0.04 (Provado[®] 200 SC), chlorpyrifos 0.72 (Lorsban[®] 48 BR), bifenthrin 0.02 (Talstar[®] 10 EC), beta-cyfluthrin 0.0125 (Turbo[®] 5 EC), abamectin 0.0054 (Vertimec[®] 18 EC), as well as the sublethal effect on the parasitism by females exposed to residues of 24 hours of abamectin. Imidacloprid, chlorpyrifos, bifenthrin and beta-cyfluthrin were considered harmful to *A. citricola* (M > 75%) and abamectin were considered harmless (M < 25%). Chlorpyrifos and beta-cyfluthrin were considered of short life (< 5 days), imidacloprid slightly persistent (5-15 days) and bifenthrin moderately persistent (16-30 days). Abamectin did not affect the parasitism by *A. citricola*, but the sex ratio, with a sex ratio of 0.11 against 0.5 of the control. The results indicate that we must be careful to recommend the evaluated insecticides, observing the persistence of those classified as harmful to *A. citricola*, as a manner to explore the ecological selectivity. Even though considered harmless to adult parasitoids, abamectin can lead to population reduction of *A. citricola*, being necessary field studies to confirm that situation.

Keywords: Parasitoid; Citrus leafminer; Selectivity; IPM; Biological control

1 INTRODUÇÃO

Dentre as pragas que atacam as plantas cítricas, destaca-se o minador-dos-citros *Phyllocnistis citrella* Stainton (Lepidoptera: Gracillariidae), que se alimenta das células da epiderme foliar, formando galerias que causam atrofiamento foliar (JOHNSON; HENNE; BURGEIOUS, 2003). A alimentação das lagartas provoca danos característicos que simulam uma serpentina, os tecidos associados tornam-se prateados e, posteriormente, necrosados, com o secamento dessas minas (CHAGAS et al., 2001). O inseto foi relatado na Flórida em 1993 e no Brasil em 1996, estabelecendo-se rapidamente (HEPPNER, 1993; PRATES; NAKANO; GRAVENA, 1996).

A principal importância de *P. citrella*, no entanto, refere-se ao dano indireto, pois a incidência do inseto aumenta a predisposição das plantas à infecção da bactéria *Xanthomonas citri* subesp. *citri* (Hasse) (Xanthomonadales: Xanthomonadaceae) e outros microrganismos oportunistas (COOK, 1998). Chagas et al. (2001) relataram um aumento de 11 vezes na infecção de cancro cítrico em plantas infestadas com o minador-dos-citros. Neste contexto, a importância desse inseto é intensificada, devido às recentes mudanças na legislação de controle do cancro cítrico no estado, o que tem levado a um aumento progressivo na infecção por essa doença (BEHLAU; BELASQUE JR., 2014).

Existem diversos parasitoides e predadores associados a *P. citrella*, com relatos de altos níveis de parasitismo e predação em campo. No entanto, os inimigos naturais nativos não têm sido capazes de manter o equilíbrio na população da praga (CHAGAS et al., 2002). A partir desta realidade e da importância de *P. citrella* para a citricultura, no ano de 1998, foi importado, dos Estados Unidos, o parasitoide *Ageniaspis citricola* Longvovskaya (Hymenoptera: Encyrtidae), que proporcionou altas taxas de parasitismo nos países em que foi introduzido, como de 60 a 80% nos Estados Unidos, 89% na Argentina e até 98% no Peru (CHAGAS et al., 2002).

No Brasil, Parra et al. (2001) apresentaram dados de parasitismo por *A. citricola* em 17 propriedades localizadas nas regiões norte, central e sul do estado de São Paulo no período de 1998 a 2000. Os autores observaram, nas 700.000 plantas amostradas, uma recuperação do parasitoide em 88% das áreas liberadas, com taxas de parasitismo médias de 32,9, 30,8 e 4,4% nas regiões sul, central e norte, respectivamente.

No entanto, observa-se um novo panorama no manejo de insetos-praga em citros a partir de 2004, com a constatação das bactérias *Candidatus Liberibacter* spp., cujos sintomas estão associados ao huanglongbing (HLB) no Brasil (TEIXEIRA et al., 2005). As bactérias causadoras dessa doença são transmitidas pelo psíldeo-asiático-dos-citros [*Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Liviidae)].

Em vista da gravidade da doença, o controle do inseto-vetor tem sido intenso, baseando-se no uso de inseticidas. Após a constatação do HLB houve um aumento de seis vezes na utilização de inseticidas nos pomares cítricos (NEVES et al., 2010). As aplicações, em muitos pomares, têm sido quinzenais, com produtos de amplo espectro de ação (BELASQUE-JR. et al., 2010). Essas aplicações, de forma desordenada, podem impactar os programas de manejo de pragas, principalmente pela eliminação dos inimigos naturais de *D. citri* e de outras pragas, incluindo *A. citricola*, considerado um dos casos de controle biológico clássico de maior sucesso no Brasil e mundialmente.

A integração do controle biológico com outros métodos de controle, incluindo o químico, é uma das premissas do Manejo Integrado de Pragas (MIP), sendo, portanto, essencial o estudo do efeito desses produtos aos inimigos naturais importantes em um sistema agrícola (STERN et al., 1959).

Para a viabilização dessa prática, estudos de seletividade devem ser realizados, para que se possa recomendar os produtos com menor efeito deletério ao parasitoide, viabilizando dessa forma o manejo do inseto vetor, sem comprometer o controle biológico natural presente no agroecossistema citrícola.

Durante muito tempo, esses testes basearam-se no efeito letal dos produtos, principalmente a partir do cálculo da concentração ou dose letal para 50% da população (DL₅₀ e CL₅₀) (CROFT, 1990). No entanto, muitos inseticidas não ocasionam mortalidade, mas alteram diversos atributos em um inimigo natural, como longevidade, capacidade de parasitismo, além de influenciar no desenvolvimento e comportamento, devendo-se levar em consideração esses efeitos nos trabalhos de seletividade (DESNEUX; DECOURTYE; DELPUECH, 2007; WRIGHT; VERKERK, 1995).

Neste trabalho, estudou-se o efeito direto e a persistência de cinco inseticidas largamente utilizados em citros, direcionados para alvos importantes, como *D. citri*, *P. citrella* e ácaros, bem como o efeito subletal de abamectina no parasitismo realizado por *A. citricola*.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Aspectos bioecológicos de *Phyllocnistis citrella*

O minador-dos-citros é um microlepidóptero pertencente à família Gracillariidae, descrito por Stainton em 1856, a partir de espécimes coletados na Índia, confirmando a origem asiática deste inseto. Possui envergadura de aproximadamente 4 mm, as asas são plumosas, com pelos escuros distribuídos longitudinal e transversalmente e apresentam escamas de coloração branca a prata. Apresentam um ponto preto na porção apical das asas anteriores, característico da espécie (HEPPNER, 1993; GARIJO; GARCIA, 1994; SMITH; HOY, 1995; ALBA, 1996). O dimorfismo sexual não é evidente entre os adultos, no entanto, com auxílio de um estereomicroscópio, é possível verificar, nas fêmeas, a presença de duas pequenas faixas de escamas escuras que se estendem do sétimo ao nono segmento abdominal, podendo ser visualizadas lateralmente ao lóbulo do ovipositor (ALBA, 1996; JACAS; GARRIDO, 1996).

Os ovos são depositados preferencialmente na superfície abaxial, na nervura principal e na porção mediano-apical das folhas de citros (CHAGAS; PARRA, 2000), são de difícil visualização a olho nu, apresentam formato ligeiramente convexo, são translúcidos e medem 0,3 x 0,2 mm. Próximo à eclosão tornam-se mais visíveis, pois assumem uma coloração amarelo opaca (BATRA et al., 1996; GARIJO; GARCIA, 1994; HEPPNER, 1995; ALBA, 1996). O período de incubação dos ovos é de aproximadamente 2,1 dias a 25 °C (CHAGAS; PARRA, 2000). Ao eclodirem, as lagartas penetram no tecido foliar, iniciando a construção de minas (galerias), permanecendo na folha durante todo o desenvolvimento larval. Essas minas apresentam um formato de serpentina, de coloração prateada, sendo que o dano evolui para o retorcimento das folhas, com redução na área fotossintética das plantas (JOHNSON; HENNE; BURGEIOIS, 2003).

As lagartas medem entre 1 e 3 mm de comprimento e desenvolvem-se protegidas no interior do mesófilo foliar por todo seu ciclo de vida, apresentando quatro instares, com duração média de 1,5; 1,7; 1,6 e 0,8 dias a 25 °C, respectivamente (CHAGAS; PARRA, 2000). Ao término desse período, as lagartas confeccionam uma câmara pupal característica, dobrando a margem ou a porção mediana da folha, onde se transformam em pupas (HEPPNER, 1993). O período de

desenvolvimento e o número de gerações por ano variam de acordo com a temperatura. O número de gerações por ano pode variar entre 4 e 13 (HEPPNER, 1993). Em condições favoráveis o ciclo de vida de *P. citrella* varia entre 14 e 18 dias (SABINE, 1971).

2.2 Aspectos bioecológicos de *Ageniaspis citricola*

O parasitoide *A. citricola* é um microimenóptero de coloração preto-brilhante de 0,5 a 1 mm de comprimento, pertencente à superfamília Chalcidoidea, família Encyrtidae e subfamília Encyrtinae, que se desenvolve no interior de ovos e larvas de primeiro instar de *P. citrella* (EDWARD; HOY, 1998). O parasitoide foi primeiramente descrito por Logvinoskaya (1983), a partir de espécimes fêmeas, sendo descrito como poliembriônico, produzindo entre 1 a 10 indivíduos por hospedeiro. A poliembrionia é uma característica dos encirtídeos, cujos parasitoides são importantes agentes de controle de diversas famílias de Lepidoptera (CLAUSEN, 1940 apud EDWARD; HOY, 1998). Edward e Hoy (1998) sugerem que ocorra uma poliembrionia não usual nestes insetos, em que dois indivíduos são produzidos a partir de um ovo, e não múltiplos indivíduos como ocorre na maioria das espécies.

Machos foram descritos por Evans (1995) em material introduzido na Flórida, indicando a ocorrência de partenogênese arrenótoca para esta espécie. Há dimorfismo sexual, feita pela observação dos dois primeiros antenômeros, que nas fêmeas são menores em relação aos outros segmentos e nos machos são de mesmo tamanho (LONGVINOVSKAYA, 1983). *A. citricola* é um parasitoide cenobionte (ASKEW; SHAW, 1986) por atrasar seu desenvolvimento até que o hospedeiro atinja o final do desenvolvimento larval, quando o parasitoide rapidamente empupa na câmara pupal no interior do hospedeiro, produzindo entre 1 e 12 indivíduos, com média de três indivíduos por hospedeiro (NEALE et al., 1995; ARGOV; ROSLER, 1996; HOY; NGUYEN, 1997; EDWARDS; HOY, 1998, SISCARO et al., 2000). *A. citricola* apresenta diversas características importantes a um parasitoide eficiente, como especificidade hospedeira, alto potencial reprodutivo (mais de 180 ovos por fêmea), maior proporção de fêmeas, curto ciclo de vida, elevada capacidade de dispersão e de busca pelo hospedeiro (NEALE et al., 1995; HOY; NGUYEN, 1997; EDWARDS; HOY, 1998).

Milano e Parra (2003) encontraram que o período de ovo-adulto nas temperaturas de 20, 25 e 30 °C são na média, respectivamente, de 23,6; 18,1 e 13,8 dias, não havendo diferença nas taxas de parasitismo nas três temperaturas. A longevidade não ultrapassou cinco dias a 25 e 30 °C e umidade relativa do ar de 90%, segundo Smith e Hoy (1996) e Hoy e Nguyen (1997), respectivamente. Milano e Parra (2003) encontraram longevidade de 8,5 dias para fêmeas na temperatura de 25 °C e 70% de umidade relativa do ar.

Segundo Argov e Rossler (1996), o microimenóptero apresenta ciclo de vida de 15 dias, a 25 °C. A condição térmica de 32 °C afeta negativamente o parasitoide, não havendo sobrevivência nessa condição (CHAGAS; PARRA, 2002).

2.3 Danos de *Phyllocnistis citrella*

Os danos diretos provocados por este inseto ocorrem principalmente pelo ataque às folhas, que ficam retorcidas, secam e caem, com redução na taxa de fotossíntese e no crescimento das plantas, ocasionando prejuízo dependendo do nível de infestação. No entanto, em altas infestações as lagartas podem atacar ramos e frutos (HEPPNER, 1995). Os produtores de mudas cítricas em viveiro consideram *P. citrella* uma das pragas mais importantes em sua atividade (VILLANUEVA-JIMÉNEZ; HOY, 1998a). O crescimento da planta (STANSLEY et al., 1996) e a qualidade da mesma (VILLANUEVA-JIMÉNEZ; HOY, 1998a) pode ser comprometido se o inseto não for manejado durante a produção de mudas.

Na Flórida, infestações maiores que 25% reduzem a produção de folhas, resultando em menores produtividades e aumento na abscisão foliar (HUNSBERGER et al., 1996).

Os danos indiretos são os mais importantes, pois esse inseto está envolvido no patossistema do cancro cítrico, uma das doenças mais importantes dos citros, cujo agente etiológico é a bactéria *X. citri* subesp. *citri*. A infestação por *P. citrella* aumenta em 11 vezes a infecção desta bactéria (CHAGAS et al., 2001), o que levou a uma elevação subsequente nos níveis de infecção pela bactéria logo após a constatação da presença de *P. citrella* em 1996. No ano de 1995 foram encontrados 25 focos de infecção por cancro cítrico, passando para 4180 focos em 1999 (BEHLAU; BELASQUE JR., 2014). O padrão de distribuição da doença também foi alterado, primeiramente de fortemente agregado para intermediariamente agregado

e em seguida para um padrão aleatório de distribuição (BERGAMIM-FILHO et al., 2001). *P. citrella*, no entanto, não é capaz de levar a bactéria de uma planta à outra (BELASQUE-JR. et al., 2005).

Neste contexto, o efetivo controle de *P. citrella* é fator primordial para evitar o verificado aumento subsequente nos níveis de infestação pelo cancro-cítrico, doença que pode colocar a sustentabilidade da citricultura em risco, pelos danos que ocasiona à planta e pelas barreiras fitossanitárias que essa doença acarreta.

2.4 Estratégias de manejo de *Phyllocnistis citrella*

Diversas estratégias de manejo podem ser utilizadas para o controle de *P. citrella*. Algumas opções ainda não estão disponíveis, como plantas resistentes. No Brasil, não está disponível o uso de feromônios sexuais para atração e monitoramento ou como método de confusão sexual. Trabalhos de campo realizados nos Estados Unidos demonstraram a eficácia desta técnica no manejo de *P. citrella* em pomares comerciais, usando SPLAT CLM, uma formulação em pasta que libera uma mistura do feromônio sexual dessa espécie por várias semanas (LAPOINTE; STELINSKI, 2011).

O controle químico tem sido ostensivamente utilizado para manejar *P. citrella*, apesar dessa prática ser onerosa e geralmente pouco efetiva, pois os produtos utilizados proporcionam proteção das plantas por no máximo duas semanas (KNAPP et al., 1996; PEÑA; DUNCAN, 1993). Além disso, o intenso uso desses produtos pode contribuir para a seleção de populações resistentes aos principais ingredientes ativos, causar efeitos negativos sobre inimigos naturais presentes nos agroecossistemas, contaminação ambiental e dos trabalhadores envolvidos no processo produtivo (HOY; NGUYEN, 1997).

Diversos produtos são recomendados para o manejo de *P. citrella*, de várias classes (BRASIL, 2015). O produto mais utilizado pertence à classe das avermectinas, abamectin, e tem sido utilizado largamente pelos produtores, o que tem causado preocupação no que se refere ao aumento na frequência de indivíduos resistentes ao produto (PAIVA, 2011). Embora o manejo de *P. citrella* esteja baseado fortemente no controle químico, existem diversos inimigos naturais nativos que atuam suprimindo os níveis populacionais dessa praga (JAHNKE; REDAELLI; DIEFENBACH, 2005; SÁ et al., 1999; SCHAUFF et al., 1998; HEPPNER, 1993). No

entanto, esses agentes biológicos não têm sido capazes de manter a população do inseto abaixo do nível de dano econômico. Dentre as opções disponíveis, o parasitoide *A. citricola* é considerado o inimigo natural mais promissor para a redução populacional de *P. citrella*.

Neale et al. (1995) introduziram o parasitoide na Austrália em 1995 e relataram taxas de parasitismo da ordem de 90%, dispersando-se a 300 km em três anos da sua liberação (HOY; NGUYEN, 1997). Essa experiência serviu como ponto de partida para outras introduções. Na Flórida (EUA), o parasitoide foi introduzido em 1994 e dispersou-se por uma área de 340 mil hectares, alcançando níveis de parasitismo de 80% (HOY; NGUYEN, 1997). Em Bermuda, *A. citricola* foi encontrado em 1998 e rapidamente colonizou todos os pomares cítricos da ilha de 53,3 km², com taxas de parasitismo que variaram de 70 a 100% (HOY; JESSEY, 2004).

Em 1998, *A. citricola* foi introduzido no Brasil a partir de uma população da Flórida. Esse trabalho foi realizado em conjunto, por entidades públicas (ESALQ e EMBRAPA) e privadas (GRAVENA e FUNDECITRUS). Um dos principais motivadores para a introdução de *A. citricola* foi o crescimento na infecção por cancro cítrico subsequente à detecção de *P. citrella* (GRAVENA, 2001; PARRA et al., 2001, BEHLAU, BELASQUE-JR., 2014).

As liberações ocorreram em diversas áreas representativas de produção de citros nos estados de São Paulo, Minas Gerais, Goiás, Santa Catarina, Paraná, Rio Grande do Sul, Piauí, Bahia e Rio de Janeiro (CHAGAS et al., 2002). Em amostragens realizadas entre 1998 e 2000, verificou-se uma recuperação do parasitoide de 88% nas 77 mil plantas amostradas.

No entanto, o cenário de manejo de pragas em citros mudou substancialmente a partir de 2005, com a detecção das bactérias *Candidatus Liberibacter* spp. cujos sintomas estão associados ao huanglongbing (TEIXEIRA et al., 2005). Após a constatação das bactérias houve um aumento expressivo no uso de inseticidas nos pomares cítricos para o controle do inseto vetor *D. citri* (NEVES et al., 2010) e não há até o momento um estudo que demonstre a ação desses inseticidas sobre o parasitoide *A. citricola*. Portanto, faz-se necessário a realização desses estudos, de maneira a optar pelos inseticidas mais seletivos, de forma a manter o controle biológico proporcionado por *A. citricola*.

2.5 Estudos de seletividade de inseticidas a inimigos naturais

A seletividade pode ser definida como a propriedade que um inseticida apresenta de controlar a praga visada, com um impacto reduzido sobre os outros organismos presentes no agroecossistema. Dentro do MIP, é a propriedade que um inseticida apresenta de controlar a praga visada, com efeito reduzido aos inimigos naturais (GAZZONI, 1994 apud DEGRANDE et al., 2002).

A seletividade tem sido classificada em dois tipos: a ecológica e a fisiológica. Ripper et al. (1951) definiram a seletividade ecológica com base nas diferenças comportamentais ou de habitat entre as pragas e os artrópodes não alvo, de modo que os pesticidas não entrem em contato com os últimos. Isso pode ser obtido pela formulação do inseticida, período e método de aplicação, distribuição espacial do tratamento, dentre outras formas (CROFT, 1990).

A aplicação de inseticidas sistêmicos constitui uma forma de aplicação que pode levar a obtenção da seletividade ecológica, pois diversos artrópodes não alvos estarão menos expostos aos pesticidas do que se fosse realizada uma pulverização. A aplicação de pesticidas no final da tarde, quando não há forrageamento por insetos polinizadores, da mesma forma constitui uma aplicação que leva à obtenção da seletividade ecológica. Verifica-se que para obtenção da seletividade ecológica faz-se necessário um amplo conhecimento da bioecologia das pragas e inimigos naturais presentes no agroecossistema (CROFT, 1990).

Em contrapartida, a seletividade fisiológica é inerente ao produto e ocorre quando um pesticida possui maior atividade sobre a praga quando comparado a um artrópode não alvo (CROFT, 1990). Essa tolerância pode ser obtida de diversas maneiras, estando envolvidos processos de absorção, transporte, penetração, excreção e ativação de inseticidas, que, uma vez agindo em diferentes intensidades nos artrópodes, resultam em toxicidade diferencial entre duas ou mais espécies. Por outro lado, a seletividade fisiológica pode ser obtida ainda, pela retenção do pesticida no corpo gorduroso do artrópode ou pelo aumento na degradação do produto pelo sistema enzimático ou insensibilidade nos sítios de ação (CROFT, 1990).

Durante muito tempo, os testes de seletividade basearam-se apenas na dose letal (DL_{50}) ou concentração letal (CL_{50}) média, verificando-se apenas se os produtos químicos causavam ou não mortalidade aos organismos benéficos, não levando em

consideração os efeitos subletais causados nos últimos (DESNEUX; DECOURTYE; DELPUECH, 2007).

Os efeitos subletais dos agroquímicos nos organismos benéficos envolvem aqueles que não levam estes organismos à morte, mas causam efeitos na locomoção, consumo, parasitismo (busca, oviposição, tempo para reconhecimento), repelência, tempo de desenvolvimento, deformação, longevidade e reprodução (fecundidade, fertilidade, razão sexual) (WRIGHT; VERKERK, 1995; DESNEUX; DECOURTYE; DELPUECH, 2007). Segundo Hassan (1997), os testes podem ser feitos com as distintas fases do desenvolvimento do inseto. No caso de endoparasitoides, ressalta-se a importância dos ensaios de seletividade incluir e/ou se basear nos estágios que estão mais expostos à aplicação dos inseticidas, sendo pupa e adulto. Isto se deve ao fato de que os outros estágios de desenvolvimento encontram-se protegidos dos inseticidas no interior do corpo do hospedeiro.

Os testes de seletividade devem ser realizados primeiramente em nível de laboratório, por ser a forma mais drástica de exposição. Dessa forma, se um inseticida for considerado inócuo nesta condição, não é necessária a realização de estudos adicionais de seletividade. Do contrário, os inseticidas devem ser testados em nível de semicampo, e em seguida, caso não seja inócuo nessa fase, deve-se proceder à avaliação em campo (HASSAN, 1997).

Isso ocorre porque um método isoladamente não é capaz de determinar o efeito do inseticida ao inimigo natural, pois um produto considerado nocivo em laboratório pode se comportar de outra maneira em condições de semicampo e campo, onde há presença de refúgios, insolação e outras características que não ocorrem em estudos de laboratório (controle local) e que podem influenciar nos níveis de degradação e toxicidade dos inseticidas (HASSAN, 1997).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Criação e manutenção de *Phyllocnistis citrella*

Para o estabelecimento da criação de *P. citrella* coletou-se folhas infestadas de plantas de citros presentes em casas de vegetação no Departamento de Entomologia e Acarologia da ESALQ/USP, em Piracicaba, São Paulo, Brasil.

Os insetos foram criados utilizando-se plantas de limoeiro 'Cravo' (híbrido de *Citrus reticulata* Blanco × *Citrus sinensis*) como hospedeiro, com 25 a 30 cm de altura, cultivadas em recipientes plásticos (tubetes) com 20 cm de altura por 1,5 cm de diâmetro, contendo substrato a base de casca de *Pinus*. Essas plantas foram mantidas em casa de vegetação, podadas e adubadas com o produto Peter® Professional na formulação de NPK 20-20-20 para estimular o desenvolvimento das brotações. Após 15 dias, as plantas, apresentando brotações, com até 2 cm de comprimento, preferidas para oviposição segundo Chagas e Parra (2000), foram levadas à sala de criação e colocadas nas gaiolas de oviposição, constituídas de uma caixa de acrílico (60 × 60 × 50 cm de comprimento, largura e altura, respectivamente), revestidas com tela, com aberturas de ≤ 0,5 mm. A parte frontal desta caixa é de vidro transparente, apresenta uma abertura em círculo com 25 cm de diâmetro, com uma manga de tecido fino tipo *voile*, de forma a possibilitar o manuseio das plantas em seu interior.

As plantas foram expostas à oviposição por três dias, obedecendo à proporção de um casal de *P. citrella* para cada planta. Em seguida, essas plantas foram removidas das gaiolas e colocadas em prateleiras de metal na sala de criação, por um período de 15 dias, até próximo à emergência dos insetos.

As folhas contendo pupas de *P. citrella* foram seccionadas e dispostas no interior de câmaras de emergência para a obtenção dos adultos. As câmaras de emergência eram constituídas de recipientes plásticos (18 × 30 × 6 cm de comprimento, largura e altura, respectivamente), com tampa, apresentando aberturas circulares de 2,5 cm de diâmetro, revestida com tecido *voile*, para permitir trocas gasosas e evitar o excesso de umidade e a fuga dos parasitoides. Além disso, na base das gaiolas de emergência foi colocada uma folha de papel de filtro, levemente umedecida, sobre a qual foram depositadas de uma a duas camadas de folhas contendo pupas de cinco a seis dias de idade. Nessas condições, as folhas

mantiveram-se túrgidas por um período de até sete dias, nas condições ambientais descritas.

Para a alimentação dos adultos, foi oferecido mel puro, disponibilizado nas paredes das câmaras de emergência com auxílio de um pincel. Os adultos foram coletados com auxílio de tubos de vidro de 4,0 x 0,8 cm de diâmetro e liberados nas gaiolas de oviposição a cada sete dias, conforme método descrito por Chagas e Parra (2000).

3.2 Criação e manutenção de *Ageniaspis citricola*

O parasitoide *A. citricola* foi criado em gaiolas semelhantes às de criação de *P. citrella*, utilizando-se o mesmo sistema de plantas em tubetes para a produção de ovos como descrito no item 3.1, sendo que estes, em diferentes idades, foram expostos ao parasitismo por um período de 4 a 5 dias, que corresponde ao tempo médio de vida do parasitoide. Plantas de limoeiro 'Cravo', com ovos de *P. citrella* parasitados, permaneceram em grades de metal, imersas em bandejas plásticas com água em sala climatizada (temperatura de 25 ± 2 °C, UR de $70 \pm 10\%$ e fotoperíodo de 14 L: 10 E horas). Após 14 dias do parasitismo, as folhas, contendo pupas de *A. citricola* ou *P. citrella* foram seccionadas e colocadas nas câmaras de emergência. Em média, no 15º dia, a 25 °C ocorreu a emergência de *P. citrella*, e três dias após, em média, de *A. citricola*, que completava seu ciclo em média no 18º dia, sob a mesma temperatura.

Os ramos contendo as pupas foram mantidos em recipientes plásticos semelhantes às câmaras de emergência para a criação do minador, revestidos com papel de filtro umedecido, seguindo o procedimento descrito por Milano (2002).

A seguir, um esquema da criação de *P. citrella* e *A. citricola*, extraído de Parra (2002).

Figura 1- Detalhe do esquema da criação de *Phyllocnistis citrella* e *Ageniaspis citricola*

3.3 Inseticidas avaliados

Foram testados cinco inseticidas registrados no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) (BRASIL, 2015) para o manejo de pragas em pomares cítricos no Brasil. Os inseticidas e dosagens (g i.a. L⁻¹) avaliadas foram: imidacloprido 0,04 (Provado[®] 200 SC, Bayer CropScience Ltda., São Paulo, SP, Brasil), clorpirifós 0,72 (Lorsban[®] 480 BR, Dow Agrosciences Industrial Ltda., São Paulo, SP, Brasil), bifentrina 0,02 (Talstar[®] 100 EC, FMC Química do Brasil Ltda., Campinas, SP, Brasil), beta-ciflutrina 0,0125 (Turbo[®] 50 EC, Bayer CropScience Ltda., São Paulo, SP, Brasil) e abamectina 0,0054 (Vertimec[®] 18 EC, Syngenta Proteção de Cultivos Ltda., São Paulo, SP, Brasil).

3.4 Efeito direto de inseticidas sobre *Ageniaspis citricola*

Para avaliar o efeito direto de inseticidas sobre *A. citricola* foram utilizadas folhas de citros da variedade Valência cultivadas em vasos de 20 litros em casa de vegetação. No laboratório, com auxílio de um vazador metálico, foram seccionados discos de 4,0 cm de diâmetro. Feito isso, os discos foram imersos nas caldas dos

respectivos tratamentos por 5 segundos e mantidos em temperatura ambiente por três horas para a secagem dos resíduos. Após a secagem, os discos foram colocados em placas de Petri (4,5 cm de diâmetro) contendo uma mistura geleificada de ágar: água a 2,5% para evitar o ressecamento das folhas. Posteriormente, 10 adultos com até 48 horas de idade foram transferidos da criação mantida em laboratório para cada placa (unidade experimental).

Após a transferência dos adultos, as unidades experimentais foram fechadas com filme de PVC transparente, em que foram feitos diversos orifícios com um alfinete entomológico, permitindo as trocas gasosas e a retirada do excesso de umidade nas unidades experimentais. Os adultos foram alimentados com mel, que era disposto no filme de PVC a partir dos orifícios realizados com o alfinete.

As unidades experimentais foram mantidas em sala climatizada com temperatura de 25 ± 2 °C, UR $70 \pm 10\%$ e fotoperíodo 14 L: 12 E horas.

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, com cinco repetições e 10 adultos por repetição ($n = 50$).

A avaliação da mortalidade foi realizada após 24 horas de exposição dos parasitoides aos resíduos dos produtos, contando-se o número de insetos vivos e mortos em cada unidade experimental. Foram considerados mortos os insetos que não apresentavam reação ao toque de um pincel de cerdas macias. Com base nos dados de mortalidade, os inseticidas foram classificados de acordo com os critérios estabelecidos pela IOBC/WPRS, sendo: 1 - inócuo ($M < 25\%$), 2 - levemente nocivo ($25\% \leq M < 50\%$), 3 - moderadamente nocivo ($50 \leq M < 75\%$) e 4 - nocivo ($M \geq 75\%$).

3.5 Duração da atividade nociva de inseticidas sobre adultos de *Ageniaspis citricola*

Para avaliação da duração da atividade nociva dos inseticidas (persistência) sobre adultos de *A. citricola*, cinco mudas de citros da variedade Valência com aproximadamente 80 cm de altura e 20 folhas completamente desenvolvidas (maduras), cultivadas em vaso em casa de vegetação foram pulverizadas até o ponto de escorrimento com os respectivos tratamentos utilizando um pulverizador manual Guarany® com capacidade de 5 L e equipado com bico cone vazio TXVS-4 de vazão constante (cerca de 20 mL planta⁻¹), conforme recomendações da

IOBC/WPRS. Decorridos três horas e 3, 7, 10, 17, 24 dias após a pulverização dos tratamentos (DAP), uma folha foi coletada aleatoriamente de cada planta, transportada ao laboratório, seccionados discos (4,0 cm de diâmetro) para a confecção das unidades experimentais, onde foram transferidos 10 adultos do parasitoide (≤ 48 horas de idade) e acondicionados em sala climatizada seguindo o mesmo procedimento descrito no item 3.4.

O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado, com cinco repetições por tratamento ($n = 50$).

A avaliação da mortalidade foi realizada 24 horas após, da mesma maneira como descrito no item 3.4.

Quando os produtos reduziram, em menos de 25% a mortalidade dos insetos em comparação ao tratamento controle, foram classificados de acordo com a escala de persistência da IOBC/WPRS em: 1 - vida curta (< 5 dias); 2 - levemente persistente (5-15 dias); 3 - moderadamente persistente (16-30 dias) e 4 - persistente (> 31 dias) (HASSAN, 1997).

3.6 Efeitos subletais de abamectina no parasitismo de *Agrias citricola*

Diante do reduzido efeito letal ($\leq 25\%$ de mortalidade) proporcionado pelo inseticida abamectina para adultos de *A. citricola* no bioensaio de efeito direto (3.4), foi realizado um estudo para avaliar o efeito subletal deste inseticida na taxa de parasitismo de *A. citricola*. Dois tratamentos foram formados: um por fêmeas que foram previamente pulverizadas com abamectina e um controle, com fêmeas que não receberam a pulverização, com vinte e duas repetições por tratamento. As fêmeas possuíam aproximadamente 24 horas e assumimos que as mesmas estavam copuladas, pois foram retiradas da criação no laboratório, em que machos e fêmeas coexistem.

A exposição dos parasitoides ao inseticida ocorreu da mesma forma como descrito no item 3.4 e para diferenciação dos sexos utilizou-se como base os dois primeiros antenômeros, que nas fêmeas são de menor tamanho quando comparado aos machos, em que são do mesmo tamanho.

Após a exposição, as fêmeas foram dispostas nas unidades experimentais para parasitismo por 48 horas. A unidade experimental consistia de um copo plástico com capacidade de 700 mL, contendo um orifício na tampa, onde ocorreu a

passagem de um tubete com uma planta de limoeiro 'Cravo', infestada com 20 ovos de *P. citrella*. Essas plantas foram expostas para oviposição por 24 horas conforme descrito no item 3.1.

Após a fixação do tubete no copo de 700 mL, a planta foi revestida com outro copo de 300 mL, fixado com cola quente sobre a tampa do copo de 700 mL. Realizamos uma abertura retangular com as dimensões 2 x 5 cm na tampa do copo de 300 mL, onde colamos um tecido voile para aeração, que posteriormente foi afixada. No interior do copo de 300 mL, foi passado mel com auxílio de um alfinete para alimentação do parasitoide. Isso constituiu uma unidade experimental (Figura 2).

Figura 2 – Detalhe da unidade experimental utilizada no bioensaio de parasitismo de *Aeniaspis citricola*

Aos 17 dias após a formação das unidades experimentais, realizou-se uma avaliação destrutiva das plantas de limoeiro 'Cravo', em que se contabilizou o número de câmaras pupais e de pupas de *A. citricola*. As pupas foram retiradas e acondicionadas em tubos de fundo chato, e foi disposto em seu interior um pedaço de papel de filtro de 1x3 cm, levemente umedecido, sendo o tubo lacrado em seguida com um filme de PVC. Avaliou-se diariamente a emergência e a mortalidade de adultos, calculando-se em seguida a viabilidade pupal e a longevidade. Também realizou-se o cálculo da razão sexual em ambos os tratamentos.

3.7 Análise dos dados

Modelos lineares generalizados (NELDER; WEDDERBURN, 1972) com distribuição do tipo quasi-binomial foram utilizados para análise dos dados de proporção de mortalidade de *A. citricola*. A verificação da qualidade do ajuste foi feita pelo gráfico meio-normal de probabilidades com envelope de simulação (HINDE; DEMÉTRIO, 1998). Quando houve diferença significativa entre os tratamentos, múltiplas comparações (teste de Tukey, $p < 0,05$) foram realizadas por meio da função “*glht*” do pacote “*multcomp*” com ajuste dos valores de p . Todas as análises foram realizadas utilizando-se o software estatístico “*R*”, versão 3.1.2 (R DEVELOPMENT CORE TEAM, 2014).

Os dados de parasitismo (ovos e pupas) foram submetidos inicialmente a um pré-ajuste do modelo normal aos dados e verificada a normalidade dos resíduos com o teste de Shapiro-Wilk (SHAPIRO; WILK, 1965), bem como a homogeneidade de variâncias com o teste de Bartlett (BARTLETT, 1937). Quando os dados não apresentaram normalidade e/ou homocedasticidade realizou-se uma transformação pelo método da potência máxima de Box-Cox (BOX; COX, 1964). Satisfeitas as pressuposições do modelo normal, os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA), sendo as mesmas comparadas pelo teste de t ($p < 0,05$). Todas as análises foram realizadas utilizando-se o software estatístico “*R*”, versão 3.1.2 (R DEVELOPMENT CORE TEAM, 2014).

4 RESULTADOS

A exposição de adultos de *A. citricola* aos resíduos de inseticidas revelou que os inseticidas imidacloprido, clorpirifós, bifentrina e beta-ciflutrina foram altamente nocivos (classe 4) ao parasitoide *A. citricola*, causando mortalidade superior a 89%, 24 horas após a exposição, diferindo estatisticamente dos demais tratamentos ($F_{5,24} = 65,695$, $p < 0,0001$) (Tabela 1). Por outro lado, abamectina foi considerado inócuo (classe 1) para adultos de *A. citricola*, sendo similar ao tratamento controle (Tabela 1).

No que se refere à duração do efeito nocivo dos inseticidas (persistência), bifentrina ocasionou mortalidade superior a 95% até aos 17 dias após a pulverização (DAP), sendo classificado como moderadamente persistente (Tabela 2).

Imidacloprido causou mortalidade superior a 25% em relação ao controle até aos 10 DAP, sendo considerado levemente persistente para adultos de *A. citricola* (Tabela 2). Tal redução na mortalidade também ocorreu para o inseticida clorpirifós e beta-ciflutrina, que ocasionaram elevada mortalidade até o terceiro dia após a aplicação. A mortalidade para estes inseticidas aos 3 DAP foi de 98,2 e 100%, respectivamente. Na avaliação seguinte, no sétimo dia, não ocorreu mortalidade para clorpirifós, e para beta-ciflutrina esta foi de 4,4%. Desta maneira, clorpirifós e beta-ciflutrina foram considerados de vida curta.

O efeito subletal somente foi avaliado para o inseticida/acaricida abamectina, pois foi inócuo para adultos de *A. citricola*. Para os adultos sobreviventes à exposição a abamectina, não houve nenhum efeito na taxa de parasitismo e viabilidade pupal de *A. citricola*. Entretanto, houve interferência na razão sexual, com aumento na quantidade de machos (razão sexual de 0,11 no tratamento em que fêmeas foram expostas a abamectina e 0,5 no tratamento controle) (Tabela 3).

Tabela 1 - Número de insetos vivos e erro padrão ($N \pm EP$) e mortalidade corrigida de adultos de *Ageniaspis citricola* expostos ao contato residual de inseticidas. Temperatura 25 ± 2 °C, UR de $70 \pm 10\%$ e fotoperíodo de 14 L: 10 E horas

Tratamento	Concentração (g i.a. L ⁻¹)	N ¹ $\pm$ EP	%	Classe IOBC/WPRS
Imidacloprido	0,0400	1,00 $\pm$ 0,55 b	89,8	4
Clorpirifós	0,7200	0,00 $\pm$ 0,00 b	100,0	4
Bifentrina	0,0200	0,00 $\pm$ 0,00 b	100,0	4
Beta-ciflutrina	0,0125	0,20 $\pm$ 0,20 b	98,0	4
Abamectina	0,0054	9,60 $\pm$ 0,40 a	2,0	1
Controle	-	9,80 $\pm$ 0,20 a	-	-
F		65,695		
g.l.		5, 24		
Valor de <i>p</i>		< 0,0001		

¹Médias seguidas de mesma letra, na coluna, não diferem significativamente (GLM com distribuição quase-binomial seguido de *post hoc* teste de Tukey, $p < 0,05$)

Tabela 2 - Mortalidade de adultos de *Ageniaspis citricola* após 24 horas de exposição aos resíduos de inseticidas aos 3, 7, 10, 17 e 24 dias após a aplicação dos produtos. Temperatura de 25 ± 2 °C, UR de $70 \pm 10\%$ e fotoperíodo de 14 L: 10 E horas

Tratamento	Concentração (g i.a. L ⁻¹)	Mortalidade (%) – Dias após a pulverização ¹ (DAP)					Classe IOBC/WPRS
		3	7	10	17	24*	
Imidacloprido	0,0400	98 ± 2,00 a	40 ± 8,48 b	46 ± 4,00 b	2 ± 2,00 b	0 ± 0,00	2
Clorpirifós	0,7200	98 ± 2,00 a	0 ± 0,00 c				1
Bifentrina	0,0200	100 ± 0,00 a	96 ± 4,00 a	98 ± 2,00 a	100 ± 0,00 a	0 ± 0,00	3
Beta-ciflutrina	0,0125	100 ± 0,00 a	4 ± 4,00 c	0 ± 0,00 c			1
Abamectina	0,0054	2 ± 2,00 b					1
Controle	-	2 ± 2,00 b	6 ± 4,00 c	2 ± 2,00 c	2 ± 2,00 b	0 ± 0,00	-
F		100,750	28,308	98,126	127,890		
g.l.		5, 24	4, 20	3, 16	2, 12		
Valor de <i>p</i>		< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001		

¹Médias seguidas de mesma letra, nas colunas, não diferem estatisticamente (GLM com distribuição quase-binomial seguido por *pos hoc* teste de Tukey, *p* < 0,05)

*Dados não utilizados na análise devido à variância nula

Tabela 3 - Efeitos subletais de abamectina sobre o parasitoide *Ageniaspis citricola*. Temperatura de 25 ± 2 °C, UR de $70 \pm 10\%$ e fotoperíodo de 14 L: 10 E horas

Tratamento	Dosagem utilizada (g i. a. L ⁻¹)	Número médio de ovos parasitados ¹	Parasitismo ¹ (%)	Número médio de pupas ¹	Viabilidade pupal ¹ (%)	Razão sexual ² (fêmea/fêmea + macho)
Abamectina	0,0054	5,20 ± 0,81a	26,0 ± 4,07 a	11,8 ± 1,62 a	47,2 ± 3,15	0,11 ± 0,06
Controle	-	3,54 ± 0,55 a	17,7 ± 2,73 a	9,45 ± 1,64 a	46,6 ± 2,51	0,50 ± 0,09
		$F = 2,355$	$F = 2,355$	$F = 0,840$	$F = 0,033$	$\chi^2 = 1,247$
		$g.l. = 1, 24$	$g.l. = 1, 24$	$g.l. = 1, 24$	$g.l. = 1, 24$	$g.l. = 1$
		$p = 0,138$	$p = 0,138$	$p = 0,369$	$p = 0,856$	$p = 0,0003$

¹Médias seguidas de mesma letra, nas colunas, não diferem estatisticamente pelo teste t ($p < 0,05$)²Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem estatisticamente pelo teste de Qui-quadrado ($p < 0,05$)

5 DISCUSSÃO

O efeito de cinco inseticidas recomendados para o manejo de insetos-praga foi avaliado sobre o parasitoide *A. citricola*, um dos principais agentes de controle biológico de *P. citrella* em citros. Os resultados demonstraram que abamectina causou baixa toxicidade aguda para adultos de *A. citricola*. Em contraste, Villanueva-Jimenez e Hoy (1998b) reportaram mortalidade de 75% dos adultos de *A. citricola* exposto aos resíduos de abamectina por 24 horas. A menor mortalidade verificada no presente estudo pode estar relacionada com as diferenças intraespecíficas e aos diferentes níveis de suscetibilidade das populações testadas. Neste estudo, a população mantida em laboratório foi proveniente de pomares sem aplicação de pesticidas sintéticos (orgânico) para o manejo de pragas e doenças, mas era circundado por áreas de produção comercial de citros, com manejo convencional de pragas, indicando possível fluxo gênico entre as populações dessas áreas de cultivo, com possível seleção de indivíduos resistentes a abamectina. Da mesma forma que no presente estudo, o uso de abamectina causou baixa mortalidade de adultos de *Bracon nigricans* Szépligeti (Hymenoptera: Braconidae) (BIONDI et al., 2013) e *Tamarixia radiata* (Waterston) (Hymenoptera: Eulophidae) (LIRA et al., 2015) expostos aos resíduos do produto. A baixa toxicidade aguda de abamectina a adultos de parasitoides é atribuído, em hipótese, a baixa capacidade de penetração do produto no tegumento dos insetos durante o caminhar sobre a superfície tratada, e a alta metabolização do ingrediente ativo pelo inimigo natural. Essa hipótese é suportada por Hornsby et al. (1996) que relataram baixa atividade de abamectina sobre inimigos naturais, aspecto atribuído à menor penetração do produto no corpo dos insetos e às alterações nos receptores do ácido aminobutírico (GABA) proporcionando menor ativação dos receptores dos canais de cloro e/ou maior metabolização do produto, devido à ação mais pronunciada das enzimas de detoxificação do produto pelos inimigos naturais.

Além da baixa mortalidade de adultos de *A. citricola*, abamectina não afetou a capacidade de parasitismo e a taxa de emergência da progênie do parasitoide. Da mesma forma, nenhum efeito significativo foi observado na capacidade de parasitismo de *Habrobracon hebetor* (Say) (Hymenoptera: Braconidae) (MAHDAVI et al., 2011) e *Trichogramma atopovirilia* Oatman & Platner (Hymenoptera:

Trichogrammatidae) (PRATISSOLI et al., 2011) e na taxa de emergência de *Hemiptarsenus varicornis* (Girault) (Hymenoptera: Eulophidae) (BJORKSTEN; ROBINSON, 2005) expostos ao inseticida abamectina. Esses resultados sugerem que abamectina não afeta a eficácia de parasitoides no controle de insetos-praga quando os adultos são expostos diretamente aos resíduos do inseticida.

No entanto, a exposição de adultos de *A. citricola* a abamectina resultou em menor proporção de fêmeas (razão sexual = 0,11) na progênie. Efeito similar foi observado por Biondi et al. (2013) em adultos de *B. nigricans* tratados com benzoato de emamectina (inseticida pertencente ao mesmo grupo da abamectina). De acordo com os autores, a razão sexual na progênie foi de 0,08, indicando alta emergência de machos na geração subsequente. Essas alterações na proporção de machos e fêmeas pode estar associada à suscetibilidade diferencial entre os sexos e a efeitos fisiológicos na fertilização dos óvulos quando os adultos são expostos ao inseticida (ALIX et al., 2001; DESNEUX; DECOURTYE; DELPUECH, 2007). Portanto, a menor proporção de fêmeas na população pode reduzir a eficácia do parasitoide no controle biológico de *P. citrella* ao longo do tempo, pois, somente as fêmeas são capazes de realizar o parasitismo de ovos e larvas de primeiro instar do inseto-praga. Cabe salientar, no entanto, que este estudo foi realizado em condições laboratoriais, onde os insetos são submetidos a uma situação drástica, expondo-o a uma condição de máximo contato com o inseticida. Dessa forma, é provável que em condições de campo, os efeitos do inseticida abamectina sobre a razão sexual sejam inferiores aos observados no presente estudo. Essa hipótese é suportada por Villanueva-Jiménez, Hoy e Davies (2000) que reportaram nenhum efeito significativo na capacidade de parasitismo de *A. citricola*. No entanto, estudos de campo devem ser realizados para verificar os efeitos subletais causados pelo inseticida abamectina na população e a eficácia do parasitoide no controle biológico de *P. citrella* nas gerações subsequentes.

Por outro lado, os inseticidas imidacloprido, beta-ciflutrina, bifentrina e clorpirifós foram altamente nocivos para adultos de *A. citricola* (mortalidade > 89%). Esses resultados são similares aos reportados por Villanueva-Jiménez e Hoy (1998b), que verificaram 100% de mortalidade de adultos de *A. citricola* após 24 horas de exposição aos resíduos de imidacloprido. Além da elevada toxicidade verificada para *A. citricola*, clorpirifós foi considerado nocivo para adultos de diversas espécies de parasitoides, incluindo *Encarsia sophia* Girault & Dodd (Hymenoptera:

Aphelinidae) (AGGARWAL; BRAR, 2006), *Anagyrus* sp. aff. *pseudococci* Girault (Hymenoptera: Encyrtidae) (MANSOUR et al., 2011), *Aphytis melinus* DeBach (Hymenoptera: Aphelinidae) (VANACLOCHA et al., 2013) e *Aenasius bambawalei* Hayat (Hymenoptera: Encyrtidae) (SUROSH et al., 2014) tratados com o inseticida.

Da mesma forma, foi verificada alta suscetibilidade de adultos de *Microplitis croceipes* (Cress) (Hymenoptera: Braconidae), *Cardiochiles nigriceps* Vierek (Hymenoptera: Braconidae) (TILLMAN, 1995), *Telenomus remus* (Nixon) (Hymenoptera: Platygastridae) (CARMO; BUENO; BUENO, 2010) e *A. melinus* (MICHAUD; GRANT, 2003) expostos aos resíduos de bifentrina.

Por sua vez, Prabhaker et al. (2007) verificaram alta toxicidade aguda para *A. melinus*, *Gonatocerus ashmeadi* Girault (Hymenoptera: Mymaridae), *Eretmocerus eremicus* Rose & Zolnerowich (Hymenoptera: Aphelinidae) e *Encarsia formosa* Gahan (Hymenoptera: Aphelinidae) mantidos sobre os resíduos de beta-ciflutrina. A alta toxicidade desses inseticidas é atribuída à elevada absorção dos produtos pelo tegumento dos insetos durante o caminhamento sobre as superfícies tratadas e à baixa capacidade de desintoxicação de ingredientes ativos pelas enzimas oxidases e hidrolases (SIEGFRIED, 1993). Portanto, o uso sucessivo desses inseticidas pode afetar consideravelmente a densidade e a dinâmica populacional de *A. citricola* nos pomares cítricos e inviabilizar o controle biológico de *P. citrella* exercido pelo parasitoide nos programas de manejo integrado de pragas.

Além da toxicidade aguda, bifentrina (Talstar 100 EC, 0,02 g i.a. L⁻¹) foi considerado moderadamente persistente (17 DAP, classe 3) para adultos de *A. citricola*. Este resultado é similar aos obtidos por Lira et al. (2015) que verificaram mortalidade superior a 25% de adultos de *T. radiata* até 17 DAP. Em contraste, Udayagiri et al. (2000) demonstraram que bifentrina causou mortalidade de 90% de adultos de *Anaphes iole* Girault (Hymenoptera: Mymaridae) aos 18 DAP do inseticida (Brigade 100 WP, 0,05 g i.a. L⁻¹). A maior duração da atividade nociva verificada no estudo de Udayagiri et al. (2000) pode ser atribuída à formulação, pois esses autores utilizaram a formulação pó-molhável, e a maior concentração do produto utilizado no bioensaio. Essa hipótese é suportada pelo estudo de Arthur (1994) que verificaram menor duração da atividade residual de bifentrina quando o produto foi utilizado na formulação concentrado emulsionável quando comparado ao pó-molhável. De acordo com o autor, a formulação concentrado emulsionável proporciona menor capacidade de adesão na superfície tratada do que a pó-molhável.

Por outro lado, imidacloprido (Provado 200 SC, 0,04 g i.a. L⁻¹) foi levemente persistente (10 DAP, classe 2) e clorpirifós (Lorsban 480 BR, 0,72 g i.a. L⁻¹) e beta-ciflutrina (Turbo 50 EC, 0,0125 g i.a. L⁻¹) foram considerados de vida curta (< 5 dias, classe 1) para adultos de *A. citricola*. Esses resultados são similares aos reportados por Roubos et al. (2014) que verificaram mortalidade significativa de adultos de *Aphidius colemani* Viereck (Hymenoptera: Braconidae) até 10 DAP de imidacloprido. Da mesma forma, Wang et al. (2008) constataram mortalidade de adultos de *A. nilaparvatae* até 3 DAP de clorpirifós, enquanto que, Legaspi e Saldanha (1999) relataram mortalidade de adultos de *Allorhogas pyralophagus* Marsh (Hymenoptera: Braconidae) de ~ 50%, aos 4 DAP de beta-ciflutrina. O reduzido período residual de clorpirifós deve-se à ação dos fatores abióticos que causam a degradação do produto nas folhas das plantas (GETZIN, 1981). A baixa persistência residual de clorpirifós e beta-ciflutrina é uma vantagem para os programas de MIP, pois reduz o impacto sobre *A. citricola* presente nas áreas de produção, permitindo a recolonização e o estabelecimento do equilíbrio ecológico dos sistemas de produção. Essa hipótese é suportada pelo estudo de Paiva e Yamamoto (2015) que reportam altas taxas de parasitismo de *P. citrella* por *A. citricola* mesmo após sucessivas aplicações de inseticidas nos pomares.

Apesar da alta toxicidade aguda e da maior persistência desses inseticidas serem considerados inicialmente um fator limitante para uso nos programas de manejo de insetos-praga nos pomares cítricos, os resultados sugerem que esses produtos podem ser utilizados em momentos de baixa mobilidade e/ou densidade de adultos do parasitoide visando explorar a seletividade ecológica. Nas principais regiões produtoras de citros do Brasil, este período coincide com os meses secos do ano (maio a setembro), quando a taxa de crescimento vegetativo de plantas cítricas (brotações) diminui significativamente, reduzindo substancialmente os níveis de infestação de *P. citrella* (JESUS; REDAELLI; DAL SOGLIO, 2008) e de adultos de *A. citricola* nos pomares. Cabe salientar, no entanto, que neste período são realizadas intervenções químicas (principalmente com inseticidas piretroides) para o controle populacional de *D. citri*. Portanto, durante este período, o uso desses inseticidas para o manejo deste inseto-praga não irá ocasionar efeitos deletérios substanciais sobre adultos de *A. citricola*.

Os resultados obtidos neste trabalho servem de subsídio para a tomada de decisão quanto ao uso técnico dos inseticidas avaliados, de forma a explorar a

seletividade ecológica para aqueles considerados nocivos à *A. citricola*. Ainda, novas possibilidades de estudo foram geradas no que se refere a abamectina, o único produto que apresentou baixa mortalidade a adultos do parasitoide, mas alterou a razão sexual, com maior proporção de machos, devendo-se investigar o efeito dessa alteração na população do parasitoide, com uso de tabelas de vida, preferencialmente em campo.

6 CONCLUSÕES

- Os inseticidas imidacloprido, clorpirifós, bifentrina e beta-ciflutrina são nocivos para adultos de *Ageniaspis citricola* nas condições avaliadas no presente trabalho;
- O inseticida abamectina não afeta a sobrevivência, a capacidade de parasitismo e a taxa de emergência de *Ageniaspis citricola*, mas aumenta a proporção de machos na progênie;
- A duração da atividade nociva dos inseticidas bifentrina é de aproximadamente 17 dias, enquanto que, imidacloprido é de 10 dias e beta-ciflutrina e clorpirifós são de três dias.

REFERÊNCIAS

AGGARWAL, N.; BRAR, D.S. Effects of different neem preparations in comparison to synthetic insecticides on the whitefly parasitoid *Encarsia sophia* (Hymenoptera: Aphelinidae) and the predator *Chrysoperla carnea* (Neuroptera: Chrysopidae) on cotton under laboratory conditions. **Journal of Pest Science**, Tokyo, v. 79, n. 4, p. 201-207, 2006.

ALBA, C.G. **El minador de los citricos, *Phyllocnistis citrella*, Stainton. Introduccion y comportamiento en España. Descripción, daños y caracterización ecologica:** estrategia de lucha. Malaga: Consejería de Agricultura y Pesca, 1996. 18p.

ALIX, A.; CORTESERO, A.M.; NÉNON, J.P.; ANGER, J.P. Selectivity assessment of chlorfenvinphos reevaluated by including physiological and behavioral effects on an important beneficial insect. **Environmental Toxicology and Chemistry**, New York, v. 20, n. 11, p. 2530-2536, 2001.

ARGOV, Y.; RÖSSLER, Y. Rearing methods for the citrus leafminer *Phyllocnistis citrella* Stainton, and its parasitoids in Israel. **Biological Control**, Orlando, v.11, n. 1, p. 18-21, 1998.

ARTHUR, F.H. Residual efficacy of cyfluthrin emulsifiable concentrate and wettable powder formulations on porous concrete and on concrete sealed with commercial products prior to insecticide application. **Journal of Stored Products Research**, Oxford, v. 30, n. 1, p. 79-86, 1994.

ASKEW, R.; SHAW, M.R. Parasitoid communities: their size, structure and development. In: WAAGE, J.; GREATHEAD, D. (Ed.) **Insect Parasitoids**. London: Academic Press, 1986. p. 225-264.

BARTLETT, M. S. Properties of sufficiency and statistical tests. **Proceedings of the Royal Society of London**, London, v. 160, p. 268-282, 1937.

BATRA, R.C.; SANDHU, S.C.; SHARMA, S.C.; SINGH, R. Biology of the citrus leafminer on some rootstocks and its relationships with abiotic factors. **The Punjab Horticultural Journal**, Patiala, v. 28, n. 2, p. 30-35, 1988.

BEHLAU, F.; BELASQUE-JR, J. **Cancro cítrico:** a doença e seu controle. Araraquara: Fundecitrus, 2014. 94p.

BELASQUE-JR, J.; BASSANEZI, R.B.; YAMAMOTO, P.T.; AYRES, A.J.; TACHIBANA, A.; VIOLANTE, A.R.; TANK-JR, A.; DI GIORGI, F.; TERSI, F.E.A.; MENEZES, G.M.; DRAGONE, J.; JANK-JR, R.H.; BOVÉ, J.M. Lesson from huanglongbing management in São Paulo State, Brazil. **Journal of Plant Pathology**, Dordrecht, v. 92, n. 2, p. 285-302, 2010.

BERGAMIN-FILHO, A.; AMORIM, L.; GOTTWALD, T.R.; LARANJEIRA, F.F. Spatial distribution of citrus canker in São Paulo - Brazil. Understanding epidemics for better disease management. INTERNATIONAL WORKSHOP ON PLANT DISEASE

EPIDEMIOLOGY, 8. 2001. **Abstract...** Ouro Preto:International Workshop on Plant Disease Epidemiology, 2001. p. 29.

BIONDI, A.; ZAPPALÀ, L.; STARK, J.D.; DESNEUX, N. Do biopesticides affect the demographic traits of a parasitoid wasp and its biocontrol services through sublethal effects? **PLoS ONE**, San Francisco, v. 8, n. 9, p. e76458, 2013.

BJORKSTEN, A.T.; ROBINSON, M. Juvenile and sublethal effects of selected pesticides on the leafminer parasitoid *Hemiptarsenus varicornis* and *Diglyphus isaea* (Hymenoptera:Eulophidae) from Australia. **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v. 98, n. 6, p. 1831-1838, 2005.

BOX, G.E.P; COX, D.R. An analysis of transformations. **Journal of the Royal Society**, London, v. 26, n. 4, p. 211-252, 1964.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **AGROFIT**: sistema de agrotóxicos fitossanitários. Disponível em: <[HTTP://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons](http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons)>. Acesso em: 10 jan. 2015.

CARMO, E.L.; BUENO, A.F.; BUENO, R.C.O.F. Pesticide selectivity for the insect egg parasitoid *Telenomus remus*. **Biocontrol**, Dordrecht, v. 55, n. 4, p. 455-464, 2010.

CHAGAS, M.C.M.; PARRA, J.R.P. *Phyllocnistis citrella* Stainton (Lepidoptera: Gracillariidae): técnica de criação e biologia em diferentes temperaturas. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Londrina, v. 29, n. 2, p. 227-235, 2000.

CHAGAS, M.C.M.; PARRA, J.R.P.; MILANO, P.; NASCIMENTO, A.M.; PARRA, A.L.G.C.; YAMAMOTO, P.T. *Ageniaspis citricola*: Criação e estabelecimento no Brasil. In: PARRA, J.R.P.; BOTELHO, P.S.M.; CORRÊA-FERREIRA, B.S.; BENTO, J.M.S. (Ed). **Controle Biológico no Brasil**: parasitoides e predadores. São Paulo: Manole, 2002. cap. 23. p. 377-394.

CHAGAS, M.C.M.; PARRA, J.R.P.; NAMEKATA, T., HARTUNG, J.S.; YAMAMOTO, P.T. *Phyllocnistis citrella* Stainton (Lepidoptera: Gracillariidae) and its relationship with the citrus canker bacterium *Xanthomonas axonopodis* pv. *citri* in Brazil. **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 1, n. 1, p. 55-59, 2001.

COOK, A.A. Association of citrus canker pustules with leafminer tunnels in North Yemen. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 72, n. 6, p. 544-546, 1988.

CROFT, BA. **Arthropod Biological Control Agents and Pesticides**. New York: Wiley, 1990. 723 p.

DEGRANDE, P.E.; REIS, P.R.; CARVALHO, G.A.; BELARMINO, L.C. Metodologia para avaliar o impacto de pesticidas sobre inimigos naturais. In: PARRA, J.R.P.; BOTELHO, P.S.M.; CORRÊA-FERREIRA, B.S.; BENTO, J.M.S. (Ed.). **Controle Biológico no Brasil**: parasitoides e predadores. São Paulo: Manole, 2002. cap. 5, p. 71-93.

DESNEUX, N.; DECOURTYE, A.; DELPUECH, J.M. The sublethal effects of pesticides on beneficial arthropods. **Annual Review of Entomology**, Stanford, v. 52, p. 81-106, 2007.

EDWARDS, O.R.; HOY, M.A. Biology of *Ageniaspis citricola* (Hymenoptera: Encyrtidae), a parasitoid of the Leafminer *Phyllocnistis citrella* (Lepidoptera: Gracillariidae). **Annals of the Entomological Society of America**, College Park, v. 91, n. 5, p. 1-7, 1998.

EVANS, G. Discovery of the male of *Ageniaspis citricola* (Hymenoptera: Encyrtidae), a parasitoid of the citrus leafminer, *Phyllocnistis citrella* (Lepidoptera: Gracillariidae). **Florida Entomologist**, Gainesville v. 78, p. 134-136, 1995.

GARIJO, C.; GARCÍA, E.J. *Phyllocnistis citrella* (Stainton, 1856) (Insecta: Lepidoptera: Gracillariidae: Phyllocnistinae) en los cultivos de cítricos de andalucía (Sur España): biología, ecología y control de la plaga. **Boletín de Sanidad Vegetal. Plagas**, Madrid, v. 20, n. 4, p. 815-816, 1994.

GETZIN, L.W. Dissipation of chlorpyrifos from dry soil surfaces. **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v. 74, n. 6, p. 707-713, 1981.

GRAVENA, S. "Vespinha importada controla Minadora": *Ageniaspis citricola*, a microvespa que veio da Flórida, se deu bem na citricultura brasileira e foi um sucesso no controle biológico da Minadora dos Citros. **Citricultura Atual**, Cordeirópolis, n. 22, p. 14-15, 2001.

HASSAN, S.A. Métodos padronizados para testes de seletividade, com ênfase em *Trichogramma*, p.207-233. In: PARRA, J.R.P.; ZUCCHI, R.A. (Ed.). **Trichogramma e o controle biológico aplicado**. Piracicaba: FEALQ, 1997. cap. 8, p. 207-233.

HEPPNER, J. B. Citrus leafminer (Lepidoptera: Gracillariidae) on fruit in Florida. **Florida Entomologist**, Gainesville, v. 78, n. 1, p. 83-186, 1995.

HEPPNER, J.B. Citrus leafminer, *Phyllocnistis citrella*, in Florida (Lepidoptera: Gracillariidae: Phyllocnistinae). **Tropical Lepidoptera**, Gainesville, v. 4, p. 49-64, 1993.

HINDE, J.; DEMÉTRIO, C.G.B. Overdispersion: models and estimation. **Computational Statistics & Data Analysis**, Amsterdam, v. 27, n. 2/3, p. 151-170, 1998.

HORNSBY, A.G.; WAUCHOPE, R.; HERNER, A.E. **Pesticide properties in the environment**. New York: Springer, 1996. 227p.

HOY, M.A.; JESSEY, C. *Ageniaspis citricola* (Hymenoptera: Encyrtidae) established in Bermuda. **Florida Entomologist**, Gainesville, v. 87, n. 2, p. 229-230, 2004.

HOY, M.A.; NGUYEN, R. Classical biological control of the citrus leafminer *Phyllocnistis citrella* Stainton (Lepidoptera: Gracillariidae): Theory, practice, art and science. **Tropical Lepidoptera**, Gainesville, v. 8, n. 1, p. 1-19, 1997.

HUNSBERGER, A.G.B.; PEÑA, J.E.; SCHAFFER, B. Relationship of citrus leafminer density to citrus damage and yield. In: MANAGING THE CITRUS LEAFMINER. Gainesville, 1996. **Proceedings...** Gainesville: Managing the citrus leafminer, 1996. p. 86.

JACAS, J.A.; GARRIDO, A. Differences in the morphology of male and female of *Phyllocnistis citrella* (Lepidoptera: Gracillariidae). **Florida Entomologist**, Gainesville, v. 79, n. 4, p. 603-606, 1996.

JAHNKE, S.M.; REDAELLI, L.R.; DIEFENBACH, L.M.G. Parasitismo em *Phyllocnistis citrella* Stainton (Lepidoptera: Gracillariidae) em pomares de citros em Montenegro, RS. **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 35, n. 3, p. 357-363, 2006.

JESUS, C.R.; REDAELLI, L.R.; DAL SOGLIO, F.K. Flutuação populacional de *Phyllocnistis citrella* Stainton em *Citrus deliciosa* e no híbrido Murcott *Citrus sinensis* x *Citrus reticulata*. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 38, n. 3, p. 593-600, 2008.

JOHNSON, S.J.; HENNE, D. C.; BOURGEOIS, W.J. Biological control of the citrus leafminer with *Ageniaspis citricola* (Hymenoptera: Encyrtidae) in Louisiana. **Proceedings of the Florida State Horticultural Society**, Tallahassee, v. 116, p. 224- 226, 2003.

KNAPP, J.L.; BROWNING, H.W.L.; ALBRIGO, G.; PENA, J.E.P.; STANSLY, A.; BULLOCK, R.C. Management of the citrus leafminer: chemical options. **Citrus Industry**, Tampa, v. 77, n. 3, p. 48-49, 1996.

LAPOINTE, S.L.; STELINSKI, L.L. An applicator for high viscosity semiochemical products and intentional treatment gaps for mating disruption of *Phyllocnistis citrella*. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, Dordrecht, v. 141, n. 2, p. 145-153, 2011.

LEGASPI, J.C.; LEGASPI JR, B.C.; SALDAÑA, R.R. Laboratory and field evaluations of biorational insecticides against the mexican rice borer (Lepidoptera: Pyralidae) and a parasitoid (Hymenoptera: Braconidae). **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v. 92, n. 4, p. 804-810, 1999.

LIRA, A.C.S.; ZANARDI, O.Z.; BELOTI, V.H.; BORDINI, G.P.; YAMAMOTO, P.T.; PARRA, J.R.P.; CARVALHO, G.A. Lethal and sublethal impacts of acaricides on *Tamarixia radiata*, an important ectoparasitoid of *Diaphorina citri*. **Journal of Economic Entomology**, Lanham, 2015. (*In press*)

LOGVINOSKAYA, T.V. A new species of *Ageniaspis* Dahlbom 1857 (Hymenoptera: Encyrtidae) from Vietnam. **Entomological Review**, Washington v.62, p.150-152, 1983.

MAHDAVI, M.; SABER, M.; RAFIEE-DASTJERDI, H.; MEHRVAR, A. Comparative study of the population level effects of carbaryl and abamectin on larval ectoparasitoid *Habrobracon hebetor* Say (Hymenoptera: Braconidae). **Biocontrol**, Dordrecht, v. 56, n. 6, p. 823-830, 2011.

MANSOUR, R.; SUMA, P.; MAZZEO, G.; LEBDI, K.G; RUSSO, A. Evaluating side effects of newer insecticides on the vine mealybug parasitoid *Anagyrus* sp. near *pseudococci*, with implications for integrated pest management in vineyards. **Phytoparasitica**, Bet Dagan, v. 39, n. 4, p. 369-376, 2011.

MICHAUD, J.P.; GRANT, A.K. IPM-compatibility of foliar insecticides for citrus: indices derived from toxicity to beneficial insects from four orders. **Journal of Insect Science**, Tokyo, v. 3, n. 1, p. 18, 2003.

MILANO, P. **Otimização da criação de *Ageniaspis citricola* Logvinovskaya, 1983 (Hymenoptera: Encyrtidae) em laboratório e sua adaptação no Estado de São Paulo**. 2002. 85p. Dissertação (Mestrado em Entomologia) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2002.

MILANO, P.; PARRA, J.R.P. Influência de três temperaturas na biologia e na capacidade de parasitismo de *Ageniaspis citricola* Logvinovskaya (Hymenoptera: Encyrtidae) em laboratório. **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 32, n. 2, p. 299-304, 2003.

NEALE, C.; SMITH, D.; BEATTIE, G.A.C.; MILES, M. Importation, host specificity testing, rearing and release of three parasitoids of *Phyllocnistis citrella* Stainton (Lepidoptera: Gracillariidae) in Eastern Australia. **Journal of the Australian Entomological Society**, Brisbane, v. 34, n. 4, p. 343-348, 1995.

NELDER, J.A.; WEDDERBURN, R.W.M. Generalized linear models. **Journal of the Royal Statistical Society**, Oxford, v. 135, n. 3, p. 370-384, 1972.

NEVES, M.F.; TROMBIN, V.G.; MILAN, P.; LOPES, F.F.; PEREIRA, F.C.; KALAKI, R.B. **O retrato da citricultura brasileira**. Ribeirão Preto: Markestrat, 2010. 137p.

PAIVA, P.E.B. Abamectina em citros: 30 anos de uso. **Citricultura Atual**, Cordeirópolis, v. 84, p. 18-21, 2011.

PAIVA, P.E.B.; YAMAMOTO, P.T. Natural parasitism of citrus leafminer (Lepidoptera: Gracillariidae) over eight years in seven citrus regions of São Paulo, Brazil. **Florida Entomologist**, Gainesville. (*In press*).

PARRA, J.R.P. **Controle biológico de pragas dos citros**. Bebedouro: EECB, 2002. 37p.

PARRA, J.R.P.; CHAGAS, M.C.M.; YAMAMOTO, P.T.; GRAVENA, S.; MILANO, P.; LEÃO, H.C.; MARQUES, A.; PARRA, A.L.G.C.; FIALHO, A. *Ageniaspis citricola* em citros no Brasil: visão geral, três anos após sua introdução. In: RESUMOS DO SIMPÓSIO DE CONTROLE BIOLÓGICO, 7., 2001, Poços de Caldas. **Resumos...** Resumos Do Simpósio De Controle Biológico, Poços de Caldas: SEB 2001. p. 20.

PEÑA, J.E.; DUNCAN, R.; BROWNING, H. Seasonal abundance of *Phyllocnistis citrella* (Lepidoptera: Gracillariidae) and its parasitoids in south Florida citrus. **Environmental Entomology**, Lanham, v. 25, n. 3, p.698-702, 1996.

PRABHAKER, N.; MORSE, J.G.; CASTLE, S.J.; NARANJO, S.E.; HENNEBERRY, T.J.; TOSCANO, N.C. Toxicity of seven foliar insecticides to four insect parasitoids attacking citrus and cotton pests. **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v. 100, n. 4, p. 1053-1061, 2007.

PRATES, H.S.; NAKANO, O.; GRAVENA, S. “**Minadora das folhas dos citros**” *Phyllocnistis citrella*, Stainton, 1856. Campinas: CATI, 1996. 3p. (Comunicado técnico, 129).

PRATISSOLI, D.; MILANEZ, A.M.; CELESTINO, F.N.; BARBOSA, W.F.; VIANNA, U. R.; POLANCZYK, R.A.; CARVALHO, J.R. Seletividade de inseticidas, recomendados para cucurbitáceas para *Trichogramma atopovirilia* Oatman & Platner (Hymenoptera: Trichogrammatidae) em condições de laboratório. **Revista Ceres**, Viçosa, v. 58, n. 5, p. 661-664, 2011.

R DEVELOPMENT CORE TEAM. **R**: a language and environment for statistical computing. Vienna: R Foundation for Statistical Computing, 2014. 1706p.

RIPPER, W.E.; GREENSLADE, R.M.; HARTLEY, G. Selective insecticides and biological control. **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v. 44, n. 4, p. 448-458, 1951.

ROUBOS, C.R.; RODRIGUEZ-SAONA, C.; HOLDCRAFT, R.; MASON, K.S.; ISAACS, R. Relative toxicity and residual activity of insecticides used in blueberry pest management: mortality of natural enemies. **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v. 107, n. 1, p. 277-285, 2014.

SÁ, L.A.; COSTA, V.A.; OLIVEIRA, W.P.; ALMEIDA, G.R. Parasitoids of *Phyllocnistis citrella* in Jaguariúna, State of São Paulo, Brazil, before and after the introduction of *Ageniaspis citricola*. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 57, n. 4, p. 799-801, 2000.

SABINE, B.N.E. Citrus leaf miner. **Queensland Agricultural Journal**, Brisbane, v. 20, p. 127-129, 1971.

SCHAUFF, M.E.; LASALLE, J.; WIJESEKARA, G.A. The genera of Chalcidae parasitoids (Hymenoptera: Chalcidoidea) of citrus leafminer *Phyllocnistis citrella* Stainton (Lepidoptera: Gracillariidae). **Journal of Natural History**, London, v. 32, p. 1001-1056, 1998.

SHAPIRO S.S.; WILK, M.B. An analysis of variance test for normality (complete samples). **Biometrika**, London, v. 52, n. 3/4, p. 591-611, 1965.

SIEDFRIED, B. Comparative toxicity of pyrethroid insecticides to terrestrial and aquatic insects. **Environmental Toxicology and Chemistry**, New York, v. 12, n. 9, p. 1683-1689, 1992.

SISCARO, G.; LONGO, S.; MINEO, G. Introduzione e ruolo dei parassitidi esotici nel controllo biologico della minatrice serpentina degli agrumi in Italia. **Atti dell'Accademia Nazionale Italiana di Entomologia**, Rendiconti, v. 48, p. 291-304. 2000.

SMITH, J.M.; HOY, M.A. Rearing methods for *Ageniaspis citricola* (Hymenoptera: Encyrtidae) and *Cirrospilus quadristriatus* (Hymenoptera: Eulophidae) released in a classical biological control program for the citrus leafminer *Phyllocnistis citrella* (Lepidoptera: Gracillariidae). **Florida Entomologist**, Gainesville, v. 78, n. 4, p. 601-608, 1995.

STANSLY, P.A.; ALBRIGO, L.G.; ROUSE, R.E. Impact of citrus leafminer on growth and yield of orange and grapefruit. In: HOY, M.A. (Ed.). **Proceedings, International Meeting: Managing the citrus leafminer**. Orlando, 1996. p.47-48.

STERN, V.M.; SMITH, R.F.; VAN DEN BOSCH, R.; HAGEN, K.S. The integration of chemical and biological control of the spotted alfalfa aphid: the integrated control concept. **Hilgardia**, Berkeley, v. 29, n. 2, p. 81-101, 1959.

SUROSHE, S.S.; GAUTAM, R.D.; FAND, B.B. Safety evaluation of insecticides on adult *Aenasius bambawalei* Hayat (Hymenoptera: Encyrtidae), a solitary endoparasitoid of the mealybug, *Phenacoccus solenopsis* Tinsley. **Indian Journal of Entomology**, New Delhi, v. 76, n. 3, p. 224-228, 2014.

TEIXEIRA, D.C.; DANET, J.L.; EVEILLARD, S.; MARTINS E.C.; JESUS JR, W.C.; YAMAMOTO, P.T.; LOPES, A.S.; BASSANEZI, R.B.; AYRES, A.J.; SAILLARD, C.; BOVÉ, J.M. Citrus huanglongbing in São Paulo State, Brazil: PCR detection of the 'Candidatus' Liberibacter species associated with the disease. **Molecular and Cellular Probes**, London, v. 19, n. 3, p. 173-179, 2005.

TILLMAN, P.G. Susceptibility of *Microplitis croceipes* and *Cardiochiles nigriceps* (Hymenoptera: Braconidae) to field rates of selected cotton insecticides. **Journal of Entomological Science**, Tifton, v. 30, n. 3, p. 390-396, 1995.

UDAYAGIRI, S.; NORTON, A.P.; WELTER, S.C. Integrating pesticide effects with inundative biological control: interpretation of pesticide toxicity curves for *Anaphes iole* in strawberries. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, Dordrecht, v. 95, n. 1, p. 87-95, 2000.

VANACLOCHA, P.; VIDAL-QUIST, C.; OHEIX, S.; MONTÓN, H.; PLANES, L.; CATALÁN, J.; TENA, A.; VERDÚ, M.J.; URBANEJA, A. Acute toxicity in laboratory tests of fresh and aged residues of pesticides used in citrus on the parasitoid *Aphytis melinus*. **Journal of Pest Science**, Tokyo, v. 86, n. 2, p. 329-336, 2013.

VILLANUEVA-JIMÉNEZ, J.A.; HOY, M.A. Constraints on developing an IPM program for citrus leafminer (Lepidoptera: Gracillariidae) in Florida nurseries. **HortTechnology**, Alexandria, v. 8, p. 332-345. 1998a.

VILLANUEVA-JIMÉNEZ, J.A.; HOY, M.A. Toxicity of pesticides to the citrus leafminer and its parasitoid *Ageniaspis citricola* evaluated to assess their suitability for an IPM program in citrus nurseries. **Biocontrol**, Dordrecht, v. 43, n. 3, p. 357-388, 1998b.

VILLANUEVA-JIMÉNEZ, J.; HOY, M.A.; DAVIS, F.S. Field evaluation of integrated pest management-compatible pesticides for the citrus leafminer *Phyllocnistis citrella* (Lepidoptera: Gracillariidae) and its parasitoid *Ageniaspis citricola* (Hymenoptera:

Encyrtidae). **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v. 93, n. 2, p. 357-367, 2000.

WANG, H.Y.; YANG, Y.; SU, J.Y.; SHEN, J.L.; GAO, C.F.; ZHU, Y.C. Assessment of the impact of insecticides on *Anagrus nilaparvatae* (Pang et Wang) (Hymenoptera: Mymaridae), an egg parasitoid of the rice planthopper, *Nilaparvata lugens* (Hemiptera: Delphacidae). **Crop Protection**, Guildford, v. 27, p. 514-522, 2008.

WRIGHT, D.J.; VERKERK, R.H.J. Integration of chemical and biological control systems for arthropods: evaluation in a multitrophic context. **Pesticide Science**, Oxford, v. 44, n. 3, p. 207-218, 1995.