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

**Eficácia de controle químico sobre *Bemisia tabaci* MEAM1 (Genn.)
(Hemiptera: Aleyrodidae) e a transmissão do vírus do mosaico
dourado do feijoeiro**

Carla Detoni Ezequiel

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

**Piracicaba
2020**

Carla Detoni Ezequiel
Bacharela e Licenciada em Ciências Biológicas

**Eficácia de controle químico sobre *Bemisia tabaci* MEAM1 (Genn.) (Hemiptera:
Aleyrodidae) e a transmissão do vírus do mosaico dourado do feijoeiro**
versão revisada de acordo com a resolução CoPGr 6018 de 2011

Orientador:
Prof. Dr. **JOÃO ROBERTO SPOTTI LOPES**

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

Piracicaba
2020

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

Ezequiel, Carla Detoni

Eficácia de controle químico sobre *Bemisia tabaci* MEAM1 (Genn.) (Hemiptera: Aleyrodidae) e a transmissão do vírus do mosaico dourado do feijoeiro / Carla Detoni Ezequiel. - - versão revisada de acordo com a resolução CoPGr 6018 de 2011. - - Piracicaba, 2020.

71p.

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

1. Mosca-branca 2. *Bean golden mosaic virus* 3. Pulverização foliar 4. Tratamento de sementes I. Título

Aos meus pais, Claudia e Sérgio, por acreditarem em mim e sempre
estarem ao meu lado.

Graças ao incentivo de vocês, hoje, posso comemorar mais essa
conquista!

Dedico

Agradecimentos

É tão bom saber que temos pessoas com quem podemos contar, e assim começo agradecendo à Deus, por ter colocado cada uma delas no meu caminho. Obrigada Deus pela minha vida e por sempre estar comigo!

Aos meus pais, Claudia e Sérgio, por serem um exemplo de caráter, perseverança e amor. Obrigada por me apoiarem em tudo, mesmo com as minhas indecisões.

As minhas irmãs, Bianka e Júlia, por todo apoio, amizade, companheirismo e amor. Vocês são mulheres inspiradoras e tenho muito orgulho de quem se tornaram.

Aos meus avós, Dirce e Santo, que são exemplos de força e que sempre me perguntavam se eu estava cuidando bem dos meus bichinhos.

Ao meu orientador professor Dr. João Roberto Spotti Lopes, por todo suporte e paciência desde o estágio e ter me aceitado de volta ao Laboratório no Mestrado. Muito obrigada por sua orientação que foi estendida até aos finais de semana.

Aos professores do Departamento de Entomologia e Acarologia por todo ensinamento durante as aulas, que pra mim, foi de um enorme prazer poder ter compartilhado desse momento de conhecimento com vocês!

A toda equipe da empresa Corteva Agrisciences por todo o auxílio durante essa caminhada, em especial, aos pesquisadores Cristiane Müller, Luiz Marques e Augusto Kalsing pelo incentivo e por toda ajuda.

Ao Dr. Mario Henrique Dal Pogetto, pesquisador da Corteva AgriSciences, que me ajudou com ideias para meu projeto e não mediu esforços para me ajudar nos experimentos, dando total auxílio. Obrigada por todas as dicas e conversas durante os anos de trabalho.

Aos meus ex-colegas de trabalho da Corteva AgriSciences e amigos, Dauri Fadin e Nelson Alvarenga, que por tantas vezes me ajudaram com meus experimentos e dados. São duas pessoas de um grande coração, que quando souberam que eu tinha passado na seleção de Mestrado, ficaram tão felizes quanto eu!

Ao funcionário da Corteva, José Atílio Piccoli (Zezinho), que me deu suporte com as minhas plantinhas de feijão, desde o plantio até a manutenção delas nas casas-de-vegetação.

Aos meus amigos do Laboratório da empresa, Vanbasther Almeida, Alessandra Bertola, Ana Lúcia Teixeira, Isabel Moraes e Drielly Duarte, por toda a ajuda durante os anos de trabalho conjunto com o Mestrado. Foram anos difíceis de conciliação, mas que no final deu tudo certo!

A professora Dra. Renate Krause-Sakate, do Departamento de Proteção Vegetal da Universidade Estadual Paulista (UNESP/Botucatu), pela gentileza em doar o isolado utilizado na pesquisa e por ter me recebido tão bem em seu laboratório.

As minhas amigas do Laboratório de Insetos Vetores, Mariana Bossi, Camila Haddad, Karen Komada, Taciana de Azevedo, Thalita Albuquerque, Tatiana Borbon, Natahlie Maluta e Flávia Correr, por me ajudarem desde o início, com dicas de como realizar os experimentos, com a manutenção das plantas nas estufas e a criação de mosca-branca e com as correções da escrita da dissertação. Muito obrigada, meninas!

Aos funcionários da ESALQ, Carlos Castilho (Carlinhos) pelo suporte com a manutenção das plantas e Andréa Sintoni por não ter me deixado desistir do Mestrado.

Aos meus colegas de classe Bianca Corrêa, Daniela Milanez, Euclides Vilanova e Mariana Yamada, pelo companheirismo e por toda ajuda.

Ao Dr. Gabriel Favara, do Departamento de Fitopatologia da ESALQ, pelo apoio e ensinamentos sobre trabalhos com mosca-branca.

Ao Dr. José Bruno Malaquias, do Departamento de Entomologia e Acarologia da ESALQ, por todo suporte com as análises estatísticas dos dados. Obrigada, por ter reservado um tempo para me passar suas explicações e me ajudar até o final da minha dissertação.

As minhas amigas, Karina Liva, Jaciara Whitt, Julia Simione, Valéria Moscardini, Maiele Cintra, Railiane Lima, que sempre me apoiaram e estiveram sempre presentes nessa grande jornada.

Aos colegas Maurício Batista, Tiago Rezende, Marcelo Mochetti, Lucas Giorgianni, Eduardo Vicentin e Mayck Santos, que me ajudaram e estiveram presentes nesse período.

Foi uma caminhada difícil, mas ao mesmo tempo muito valiosa. Que bom que todos vocês fizeram parte disso! Muito Obrigada!

“Há uma força motriz mais poderosa que o vapor, a eletricidade
e a energia atômica: a vontade.”

Albert Einstein

SUMÁRIO

RESUMO.....	8
ABSTRACT.....	9
LISTA DE FIGURAS.....	10
LISTA DE TABELAS.....	11
1. INTRODUÇÃO.....	13
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	17
2.1. IMPORTÂNCIA DO CULTIVO DE FEJÓEIRO NO BRASIL E PERDAS POR PRAGAS	17
2.2. <i>BEMISIA TABACI</i> : BIOLOGIA, COMPORTAMENTO E DANOS.....	18
2.3. TRANSMISSÃO DE <i>BEAN GOLDEN MOSAIC VIRUS</i> POR <i>BEMISIA TABACI</i>	19
2.4. MANEJO DE MOSCA-BRANCA EM CULTIVOS AGRÍCOLAS, EM ESPECIAL DO FEJÓEIRO	21
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	25
3.1. CRIAÇÃO DE MOSCA-BRANCA.....	25
3.2. OBTENÇÃO DE PLANTAS SADIAS.....	25
3.3. ISOLADO DE <i>BEAN GOLDEN MOSAIC VIRUS</i> (BGMV) E PLANTAS-FONTE.....	26
3.4. EFEITO DE INSETICIDAS E ESTÁDIOS FENOLÓGICOS DO FEJÃO SOBRE A TRANSMISSÃO DE BGMV E A MORTALIDADE DE ADULTOS DE <i>B. TABACI</i>	26
3.4.1. Inseticidas em pulverização foliar.....	27
3.4.2. Inseticidas em tratamento de sementes	33
3.5. EFEITO DE INSETICIDAS SOBRE A TAXA DE ALIMENTAÇÃO DE ADULTOS DE <i>B. TABACI</i>	36
3.5.1. Plantas de feijão tratadas com pulverização foliar	37
3.5.2. Plantas de feijão tratadas com tratamento de sementes.....	37
3.5.3. AVALIAÇÃO DA TAXA DE INGESTÃO DO FLOEMA EM PLANTAS DE FEJÃO TRATADAS 38	
3.6. ANÁLISE ESTATÍSTICA	39
4. RESULTADOS.....	41
4.1. EFEITO DE INSETICIDAS EM PULVERIZAÇÃO FOLIAR NO CONTROLE DE <i>B. TABACI</i> E DA TRANSMISSÃO DE BEAN GOLDEN MOSAIC VIRUS (BGMV)	41
4.2. EFEITO DE INSETICIDAS EM PULVERIZAÇÃO FOLIAR NA TAXA DE ALIMENTAÇÃO DE <i>B. TABACI</i>	44
4.3. EFEITO DE INSETICIDAS EM TRATAMENTO DE SEMENTE NO CONTROLE DE <i>B. TABACI</i> E DA TRANSMISSÃO DE BGMV	47
4.4. EFEITO DE INSETICIDAS EM TRATAMENTO DE SEMENTES NA TAXA DE ALIMENTAÇÃO DE <i>B. TABACI</i>	50
5. DISCUSSÃO.....	53
6. CONCLUSÃO.....	57
REFERÊNCIAS.....	59

RESUMO

Eficácia de controle químico sobre *Bemisia tabaci* MEAM1 (Genn.) (Hemiptera: Aleyrodidae) e a transmissão do vírus do mosaico dourado do feijoeiro

Bemisia tabaci (Gennadius) (Hemiptera: Aleyrodidae) é um complexo de espécies crípticas de moscas-brancas, com variação na gama de hospedeiros, suscetibilidade a inseticidas, aspectos moleculares e eficiência de transmissão de fitovírus. Inseticidas com novos modos de ação, em tratamento de sementes e em aplicações foliares têm mostrado eficiência no controle de adultos da espécie *B. tabaci* Middle-East Asian Minor 1 (MEAM1), mas há poucas informações sobre a eficácia desses inseticidas para impedir a transmissão de vírus. Esta pesquisa investigou se o controle químico em feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) pode ser efetivo no controle de *B. tabaci* MEAM1 e na transmissão de *Bean golden mosaic virus* (BGMV). Assim, realizaram-se experimentos para avaliar a eficácia de inseticidas de diferentes grupos químicos, em pulverização foliar (acetamiprido, tiametoxan, ciantraniliprole, sulfoxaflor, imidacloprido, piriproxfem) e tratamento de sementes (ciantraniliprole, clotianidina, imidacloprido + tiodicarbe), no controle do inseto vetor e da transmissão do vírus. Em cada experimento, adultos sadios da mosca-branca foram previamente submetidos a um período de acesso à aquisição de 48 h em plantas de feijão infectadas por BGMV, sendo em seguida confinados sobre plantas de feijão saudáveis, em diferentes estádios fenológicos (V2, V3 e V4), de cada tratamento inseticida (5 indivíduos virulíferos por planta; 10 plantas por tratamento, incluindo testemunha não tratada). A mortalidade dos insetos foi avaliada após 48 h de exposição às plantas tratadas, sendo estas avaliadas quanto a sintomas de BGMV após 30 dias. Experimentos adicionais foram conduzidos para avaliar o efeito dos inseticidas e modos de aplicação sobre a alimentação de insetos avirulíferos e virulíferos, os quais foram confinados por 24 h sobre folhas de plantas de feijão saudáveis, em V3 e tratadas (8 insetos por planta; 10 plantas por tratamento, incluindo testemunha), em gaiolas plásticas circulares contendo papel filtro para a retenção de excrementos líquidos (*honeydew*). Em seguida, avaliou-se a mortalidade e o papel foi tratado com ninidrina para mensurar a área de excreção; no caso de insetos virulíferos, avaliou-se também a transmissão do BGMV para as plantas após 30 dias. Os resultados desta pesquisa mostram que é difícil controlar eficientemente a mosca-branca *B. tabaci* MEAM1 e a transmissão do BGMV via pulverização ou tratamento de sementes com inseticidas. Entretanto, é possível reduzir as taxas de transmissão do vírus com certos ingredientes ativos, tais como acetamiprido, em pulverização foliar e ciantraniliprole, no tratamento de sementes. A aplicação de inseticidas via semente mostrou ser eficaz no controle da mosca-branca e na redução da transmissão nos primeiros dias após a emergência das plantas, mas necessita ser complementada com aplicações foliares em V3.

Palavras-chave: Mosca-branca, *Bean golden mosaic virus*, Pulverização foliar, Tratamento de sementes

ABSTRACT

Efficacy of chemical control against *Bemisia tabaci* MEAM1 (Genn.) (Hemiptera: Aleyrodidae) and transmission of *Bean golden mosaic virus*

Bemisia tabaci (Gennadius) (Hemiptera: Aleyrodidae) is a complex of cryptic species of whiteflies with variation in host range, susceptibility to insecticides, molecular aspects and virus transmission. Insecticides with new modes of action in seed treatment and foliar application has shown promising results against the Middle-East Asian Minor 1 (MEAM1) species of *B. tabaci*. But there is no information regarding the effectiveness of these insecticides to prevent virus transmission. This research investigated if chemical control with insecticides from new chemical groups can be effective in controlling *B. tabaci* MEAM1 and transmission of *Bean golden mosaic virus* (BGMV) in common beans, *Phaseolus vulgaris* L. Thus, insecticides from different chemical groups were evaluated through seed treatment (cyantraniliprole, clothianidin, imidacloprid + thiodicarb) or foliar application (acetamiprid, thiametoxan, cyantraniliprole, sulfoxaflor, imidacloprid, pyriprofen). Healthy laboratory-reared adults of *B. tabaci* MEAM1 were submitted to 48-h virus acquisition access period on BGMV-infected bean plants. Then confined on healthy bean plants of each insecticide treatment (5 viruliferous adults per plant; 10 plants per treatment, including a control treatment without insecticides) at 2, 7 and 14 days after emergence (DAE). Insect mortality was evaluated after 48 h of in confinement treated plants. The of BGMV symptoms 30 days after the exposure of the plants to insects. Additional experiments were carried out to verify the effect of insecticides and modes application of on the feeding rate of aviruliferous and viruliferous adults, which were confined for 24 h on leaves of with insecticides treated bean plants with 7 DAE (8 individuals per plant; 10 plants per treatment, including non-treated control), inside circular plastic cages lined with a filter paper to retain the honeydew droplets excreted by the adults of whiteflies. After the confinement period, insect mortality was assessed and the paper was treated with ninhydrin to measure the excretion (stained) area. For viruliferous insects, the test plants were rated for BGMV symptoms 30 days later. The results of this research show that it is difficult to efficiently control the whitefly *B. tabaci* MEAM1 and the transmission of BGMV by spraying or treating seeds with insecticides. However, it is possible to reduce the transmission rates of viruses with certain active components, such as acetamiprid in foliar application and cyantraniliprole as seed treatment. The application of insecticides on seeds proved to be effective in controlling whitefly and reducing transmission in the first days after the emergence of plants, but it is necessary to be complemented with foliar applications in V3.

Keyword: Whitefly vector, *Bean golden mosaic virus*, Foliar application, Seed treatment

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Pulverizador research sprayer, generation III. A) detalhe do equipamento, em relação ao modo de aplicação; b) plantas de feijão em diferentes estádios fenológicos, sendo pulverizadas. 31

Figura 2. Plantas de feijão sadias, colocadas em gaiolas de garrafa pet, mantidas em sala climatizada a 28 ± 2 °C, U.R. De $70 \pm 5\%$ e fotofase de 14h, infestadas com moscas-brancas virulíferas. 32

Figura 3. Plantas de feijão carioca apresentando sintomas de infecção de BGMV. A) Folhas apresentando sintomas de atrofiamento; B) Mosaico amarelo intenso em todo o limbo foliar. 32

Figura 4. Lotes de 100 gramas de feijão carioca, individualizados em sacos plásticos, já tratados com inseticidas. 36

Figura 5. Aplicação de inseticidas, com pulverizador manual de compressão prévia de 1,5L, em plantas de feijão sadias com idade de 7 dias após a emergência. 37

Figura 6. Eficiência média ($\pm$ EPM) de controle dos adultos virulíferos de *Bemisia tabaci* para diferentes inseticidas em pulverização foliar, após 48 h de confinamento dos insetos sobre plantas de feijão (5 adultos por planta; n = 10 plantas) aos 7 e 14 dias após a emergência da cultura. A eficácia foi calculada pela fórmula de Abbott: $E\% = ((IT - it) / IT) \times 100$, onde E%= porcentagem de eficácia; IT= número médio de insetos vivos no tratamento sem inseticida; it= número médio de insetos vivos no tratamento com inseticida. 42

Figura 7. Percentual de mortalidade (A), área de excreção (corada por ninidrina) (B) por grupo de oito adultos avirulíferos de *Bemisia tabaci* após 24 h de confinamento em plantas de feijão pulverizadas com diferentes inseticidas aos 7 dias após a germinação. Médias seguidas da mesma letra não diferem pelo teste de Tukey a 5%. Barras sobre as colunas representam o erro padrão da média (n=10 plantas por tratamento) 45

Figura 8. Percentual de mortalidade (A), área de excreção (corada por ninidrina) (B) e percentual de transmissão (representado pelo número de plantas sintomáticas sob o total de plantas inoculadas) (C) por grupos de oito adultos virulíferos de *Bemisia tabaci* após 24 h de confinamento em plantas de feijão pulverizadas com diferentes inseticidas aos 7 dias após a germinação. Médias seguidas da mesma letra não diferem pelo teste de Tukey a 5%. Barras sobre as colunas representam o erro padrão da média (n=10 plantas por tratamento) 46

Figura 9. Eficiência média ($\pm$ EPM) de controle dos adultos virulíferos de *Bemisia tabaci* para diferentes inseticidas em tratamento de sementes, após 48 h de confinamento dos insetos sobre plantas de feijão (5 adultos por planta; n = 10 plantas), aos 2, 7 e 14 dias após a emergência da cultura. A eficácia foi calculada pela fórmula de abbott: $E\% = ((IT - it) / IT) \times 100$, onde E%= porcentagem de eficácia; IT= número médio de insetos vivos no tratamento sem inseticida; it= número médio de insetos vivos no tratamento com inseticida. 48

Figura 10. Percentual de mortalidade (A) e área de excreção (corada por ninidrina) (B) por grupos de oito adultos avirulíferos de *Bemisia tabaci* após 24 h de confinamento em plantas de feijão com tratamento de sementes, aos 7 dias após a germinação. Médias seguidas da mesma letra não diferem pelo teste de Tukey a 5%. Barras sobre as colunas representam o erro padrão da média (n=10 plantas por tratamento) 51

Figura 11. Percentual de mortalidade (A), área de excreção (corada por ninidrina) (B) e percentual de transmissão (representado pelo número de plantas sintomáticas sob o total de plantas inoculadas) (C) por grupos de oito adultos virulíferos de *Bemisia tabaci* após 24 h de confinamento em plantas de feijão com tratamento de sementes, aos 7 dias após a germinação. Médias seguidas da mesma letra não diferem pelo teste de Tukey a 5%. Barras sobre as colunas representam o erro padrão da média (n=10 plantas por tratamento) 52

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Inseticidas utilizados no tratamento de pulverização foliar para o controle de <i>B. tabaci</i> MEAM1 e <i>Bean golden mosaic virus</i> (BGMV)	29
Tabela 2. Inseticidas utilizados no tratamento de sementes para o controle de <i>B. tabaci</i> MEAM1 e <i>Bean golden mosaic virus</i> (BGMV).....	35
Tabela 3. Taxa de mortalidade ($\pm$ EPM) de adultos de <i>Bemisia tabaci</i> após 48 h de exposição em plantas de feijão pulverizadas com diferentes inseticidas, aos 7 e 14 dias após emergência (DAE).....	42
Tabela 4. Taxa de transmissão de <i>Bean golden mosaic virus</i> (BGMV) por <i>Bemisia tabaci</i> após período de acesso à inoculação (PAI) de 48 h em plantas de feijão pulverizadas com diferentes inseticidas, aos 7 e 14 dias após a emergência (DAE)	43
Tabela 5. Taxa de mortalidade ($\pm$ EPM) de adultos de <i>Bemisia tabaci</i> após 48h de exposição a plantas de feijão com tratamento de sementes, aos 2, 7 e 14 dias após emergência (DAE).....	48
Tabela 6. Taxa de transmissão de <i>Bean golden mosaic virus</i> (BGMV) por <i>Bemisia tabaci</i> após período de acesso à inoculação (PAI) de 48 h em plantas de feijão com sementes tratadas com diferentes inseticidas, aos 2, 7 e 14 dias após a emergência (DAE)	49

Introdução

Os patossistemas envolvendo insetos vetores são caracterizados por complexas interações planta-patógeno-vetor, devido à diversidade dos organismos participantes, condições ambientais e o modo de transmissão (HULL, 2014). Semelhante a outros fitopatógenos, os vírus podem causar mudanças na composição de voláteis, na coloração e em aspectos hormonais, nutricionais e de equilíbrio hídrico de suas plantas hospedeiras, que por sua vez podem influenciar indiretamente o comportamento, biologia, fisiologia e dinâmica populacional de seus vetores (FERERES et al., 2009; FERERES et al., 2016).

Dentre os vetores de vírus de maior importância está *Bemisia tabaci* (*Gennadius*) (Hemiptera: Aleyrodidae), popularmente conhecida como mosca-branca, que participa do patossistema de mais de 210 doenças viróticas (POLSTON, et al., 2014), e está associada a danos de grande impacto em muitas culturas agrícolas em todo o mundo, especialmente em olerícolas. Os danos diretos se dão pela sucção de seiva do floema da planta e injeção de fitotoxinas, os danos indiretos estão relacionados à associação com fungos saprófitas (fumagina), devido à excreção de *honeydew*, e à transmissão de fitovírus (INBAR & GERLING, 2008; KANAKALA; GHANIM, 2015). Os ataques de mosca-branca começam no transplante da cultura e prosseguem no decorrer de seu desenvolvimento, ocasionando, uma redução acentuada da produtividade a curto prazo e comprometendo de forma irreversível a sustentabilidade de muitos sistemas agrícolas do país a longo prazo (CZEPAK, 2010).

Bemisia tabaci é um complexo de aproximadamente 44 espécies crípticas, com variação da gama de hospedeiros, suscetibilidade a inseticidas, transmissão de vírus e aspectos moleculares (De BARRO et al., 2011; TAY et al., 2012; LEE et al., 2013; KANAKALA; GHANIM, 2015; KANAKALA; GHANIM, 2019). Espécies do complexo *B. tabaci* transmitem vírus pertencentes a diferentes famílias e gêneros, com modos distintos de transmissão. Vários gêneros de vírus são transmitidos de modo semipersistente e não circulativo, sem período de latência e curto período de retenção no vetor, incluindo *Carlavirus* (família *Betaflexiviridae*), *Ipomovirus* (família *Potyviridae*), *Torradovirus* (família *Secoviridae*) e *Crinivirus* (família *Closteroviridae*). No caso do gênero *Begomovirus* (família *Geminiviridae*), a transmissão é do tipo persistente circulativa, havendo período de latência de horas/dias, circulação e

retenção do vírus no vetor por vários dias ou semanas (NAULT, 1997; NAVAS-CASTILLO et al., 2011).

No Brasil, *B. tabaci* ganhou maior destaque no início dos anos 1990, quando foi observado o biótipo B em cultivos de hortaliças, no interior do Estado de São Paulo (LOURENÇÃO; NAGAI, 1994; LOURENÇÃO et al., 2015), e com seu surgimento, os problemas com doenças viróticas se intensificaram, principalmente nas culturas de tomate, feijão, melão e batata (LOURENÇÃO et al., 2015). O biótipo B de *Bemisia tabaci*, atualmente classificado como espécie *B. tabaci* Middle East-Asia Minor 1 (MEAM1), ocorre em várias culturas agrícolas e plantas invasoras de todo território brasileiro, estando sua importância relacionada principalmente à transmissão de vírus para culturas de expressão econômica.

Em feijoeiro, *B. tabaci* MEAM1 transmite o vírus do mosaico dourado do feijoeiro (*Bean golden mosaic virus* - BGMV), pertencente à família *Geminiviridae* e gênero *Begomovirus* (GASPARIN et al., 2005; INOUE-NAGATA; LIMA; GILBERTSON, 2016), que causa a doença mais importante nesta cultura, reduzindo a produtividade (LOURENÇÃO; NAGAI, 1994). Os sintomas característicos da doença são o mosaico amarelo intenso em todo o limbo foliar, podendo ocorrer nanismo, encurtamento de entrenós, perda de dominância apical e brotamento das gemas axilares (FURLAN, 2004). Os danos ocasionados por BGMV podem variar de 30% a 100%, dependendo do cultivar, estágio da planta, população do vetor, presença de hospedeiros alternativos, condições ambientais e fortemente correlacionado com a época de plantio (FARIA et al., 1996).

Durante décadas o principal método de controle da mosca-branca *B. tabaci* foi químico, por meio da aplicação de inseticidas de grupos químicos convencionais, tais como organoclorados, organofosforados, carbamatos e piretroides (SHARAF, 1986), os quais não mostraram uma eficiência de controle a níveis que não comprometessem a produtividade da cultura do feijão (FARIA & ZIMMERMANN, 1988).

Em meados de 1990, inseticidas com novos modos de ação apresentaram eficiência no controle de adultos de *B. tabaci* MEAM1, tais como tiametoxam e imidacloprido, usados em tratamento de sementes e pulverização foliar, bem como acetamiprido e piriproxifem, usados em pulverizações foliares em feijoeiro (FARIA; YOKOYAMA, 2008). Entretanto, há poucas informações sobre a eficácia desses inseticidas para impedir a transmissão de BGMV por *B. tabaci* em feijoeiro.

Diante disso, o objetivo da presente pesquisa foi investigar se o controle químico, por meio do tratamento de sementes ou pulverização foliar com inseticidas de diferentes grupos químicos, pode ser efetivo no controle da mosca-branca *B. tabaci* MEAM1 e da transmissão de BGMV. Nesse sentido, realizaram-se experimentos para avaliar a eficácia de inseticidas de diferentes grupos químicos, no controle de mosca-branca virulífera e transmissão do patógeno, bem como na redução da alimentação do inseto avirulífero e virulífero.

1. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1.1. Importância do cultivo de feijoeiro no Brasil e perdas por pragas

A família *Fabaceae* é constituída por muitos gêneros e espécies, com destaque para a soja [*Glycine max* (L.) Merrill] e o feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.). O feijão é utilizado na alimentação básica da população brasileira, constituindo sua principal fonte de proteína vegetal e dá ao Brasil o status de maior produtor e consumidor dessa comódite, seguido da Índia, China, México, Uganda e Estados Unidos (ZUPPI et al., 2005).

O feijoeiro é uma das leguminosas mais semeadas, tendo grande importância econômica no Brasil, com estimativa nacional na primeira safra 19/20 de 373,8 mil hectares semeados, cultivado especialmente nas regiões Sudeste e Sul, em que Minas Gerais e Paraná apresentam maiores destaques na destinação de área cultivada (CONAB, 2019).

Apesar do cenário de destaque no país, a cultura do feijoeiro enfrenta alguns problemas fitossanitários, como a presença de fungos, nematóides, bactérias e vírus causando danos e perdas significativas a lavoura. As doenças causadas por vírus têm exercido um papel relevante para a baixa produtividade do feijoeiro no Brasil e outros países latino-americanos, devido aos métodos de controle serem muito restritos (GAMEZ, 1977; MORALES, 1994).

As doenças causadas por vírus mais importantes no feijoeiro no Brasil são: *Bean common mosaic virus* (BCMV), *Bean golden mosaic virus* (BGMV), *Bean rugose mosaic virus* (BRMV), *Cowpea mild mottle virus* (CpMMV) e *Southern bean mosaic virus* (SBMV) (FIALLOS, 2010). Além das doenças causadas por patógenos, o feijoeiro, durante toda sua fase de desenvolvimento e pós colheita, está sujeito ao ataque de inúmeras pragas. Dentre elas, estão as de solo: lagarta elasmó (*Elasmopalpus lignosellus*), lagarta rosca (*Agrotis* spp.), pulgão da raiz (*Smynthuroides betae*); da folhagem: vaquinha (*Diabrotica speciosa*), mosca-branca (*Bemisia tabaci*), cigarrinha-verde (*Empoasca kraemerii*), tripes (*Caliothrips phaseoli*), broca das axilas (*Epinotia aporema*), lagarta falsa-medideira (*Chrysodeixis includens*), complexo Spodoptera (*Spodoptera frugiperda*, *S. cosmioides*, *S. eridania*), lagarta das maçãs (*Heliothis virescens*, *Helicoverpa armigera*, *H. zea*) lagarta enroladeira das folhas (*Omiodes indicata*), lagarta cabeça de fósforo (*Urbanus proteus*); pragas de vagens:

broca da vagem (*Etiella zinckenella*) e de grãos armazenados: carunchos (*Acanthoscelides obtectus*, *Zabrotes subfasciatus*) (COSTA et al., 1986; BARBOSA et al., 2000; GALLO et al., 2002; QUINTELA, 2009). De maneira geral, as perdas no rendimento causadas pelas pragas têm sido estimadas na faixa de 33% a 86%, podendo chegar a 100% (AIDAR; KLUTHCOUSKI; STONE, 2002; ROCHA & SARTORATO, 1980). No caso especial de mosca-branca e sua interação com a transmissão de viroses, os valores estimados são de 30% a 100% (SALGUERO, 1993).

1.2. *Bemisia tabaci*: biologia, comportamento e danos

Bemisia tabaci (*Gennadius*) (Hemiptera: Aleyrodidae), inseto popularmente conhecido como mosca-branca, é uma das mais importantes pragas da agricultura, devido ao seu hábito cosmopolita e polífago. Pode causar danos diretos pela sucção da seiva do floema e inoculação de toxinas provocando alterações no desenvolvimento vegetativo e reprodutivo da planta e danos indiretos pela excreção de “honeydew”, que está associado à fungos saprófitos (fumagina) e por atuarem como importantes vetores de vírus, afetando o desenvolvimento da planta e podendo levá-la à morte (INBAR & GERLING, 2008; KANAKALA; GHANIM, 2015).

Bemisia tabaci é um complexo de aproximadamente 44 espécies crípticas, que variam desde a gama de hospedeiros, suscetibilidade a inseticidas, transmissão de vírus, até aspectos moleculares (De BARRO et al., 2011; KANAKALA; GHANIM, 2015; KANAKALA; GHANIM, 2019; LEE et al., 2013; TAY et al., 2012). No Brasil, estão presentes quatro espécies do complexo, sendo estas as espécies nativas New World 1 (NW1) e New World 2 (NW2) (MARUBAYASHI et al., 2013) e as espécies invasivas Middle East-Asia Minor 1 (MEAM1) e Mediterranean (MED), sendo esta detectada recentemente (BARBOSA et al., 2015).

A espécie MEAM1, também conhecida como biótipo B, é a espécie mais distribuída mundialmente e no Brasil foi detectada no começo de 1990, devido ao comércio internacional de plantas ornamentais (LOURENÇÃO; NAGAI, 1994) e hoje é a espécie de maior predominância no país (MORAES et al., 2016; MARUBAYASHI et al., 2013).

Os indivíduos pertencentes a este complexo possuem tamanho reduzido, em média $1,03 \pm 0,17$ mm de comprimento, sendo as fêmeas significativamente maiores

que os machos (LIMA; LARA; DOS SANTOS, 2001). Possuem aparelho bucal sugador labial tetraqueta e se alimentam na face abaxial das folhas (Van LENTEREN; NOLDUS, 1990). São hemimetábolos, ou seja, sofrem metamorfose incompleta (ovo-ninfa-adulto) com quatro ínstaes ninfais (EICHELKRAUT; CARDONA, 1989), sendo que o quarto ínstar é denominado “pupa” ou “pseudo-pupa”, devido a ninfa tornar-se convexa de modo similar a uma pupa. Além disso, a ninfa de quarto ínstar pode ser diferenciada dos outros ínstaes por apresentar olhos avermelhados bem visíveis (LIMA; LARA; DOS SANTOS, 2001).

A duração do ciclo de *B. tabaci*, como na maioria dos insetos, é diretamente afetada pela temperatura, tendo uma média de 19 dias em temperatura de 32°C e se estendendo para 73 dias quando expostas à temperatura de 15°C (BROWN; BIRD, 1992). Nas temperaturas de 25°C e 28°C, o ciclo é completado em 21 e 22,3 dias, respectivamente (SALAS & MENDONÇA, 1995).

A reprodução de moscas-branca pode ser através de partenogênese arrenótoca ou sexuada com oviparidade. Na reprodução sexuada, a prole será tanto de machos como de fêmeas, enquanto que na partenogênese arrenótoca somente originarão machos (VILLAS BÔAS et al., 1997). Os ovos depositados pelas fêmeas, ficam presos por um pedicelo à epiderme foliar na face abaxial das folhas, envolvidos por uma cera de coloração branca (BUCKNER et al., 2002).

O complexo *B. tabaci* está envolvido no patossistema de cerca de 129 doenças viróticas (), sendo os vírus pertencentes a diferentes famílias e gêneros com distintos modos de transmissão, como transmissão semipersistente (não circulativos) os dos gêneros *Carlavirus* (família: *Betaflexiviridae*), *Ipomovirus* (família: *Potyviridae*), *Torradovirus* (família: *Secoviridae*) e *Crinivirus* (família: *Closteroviridae*); e transmissão persistente-circulativa os inseridos no gênero *Begomovirus* (família: *Geminiviridae*) (NAULT, 1997; NAVAS-CASTILHO et al., 2011).

1.3. Transmissão de *Bean golden mosaic virus* por *Bemisia tabaci*

As doenças causadas por vírus interferem diretamente nos compostos sintetizados pela planta, principalmente em relação aos aminoácidos e nucleotídeos, que passam a ser utilizados na replicação do parasita, prejudicando o desenvolvimento da planta hospedeira. Assim, as plantas infectadas por vírus

apresentam baixo desenvolvimento vegetativo, menor rendimento da produção, baixa qualidade de seus produtos e menor longevidade produtiva (BEDENDO, 1995).

A doença do mosaico dourado do feijoeiro, ou *Bean golden mosaic virus* (BGMV) caracteriza-se pelo mosaico amarelo intenso em todo o limbo foliar, nanismo, encurtamento de entrenós, perda de dominância apical e brotamento das gemas axilares (FURLAN, 2004). Além disso, as plantas infectadas com o vírus podem apresentar intensa clorose foliar e atrofiamento e as vagens deformadas (GALVEZ & MORALES, 1994).

O BGMV, causador da doença do mosaico dourado do feijoeiro, foi relatado pela primeira vez no Brasil em 1961, sem grande importância econômica na época (COSTA, 1965). A partir de 1973, esta virose passou a ser considerada a mais importante da cultura no Brasil, principalmente nos estados do Paraná e São Paulo (INOUE-NAGATA et al., 2016). Inoue-Nagata et al. (2016) destacam ainda que a doença continua tendo grande relevância para a cultura, no estado do Paraná e São Paulo e atualmente encontra-se também nos estados de Goiás e Minas Gerais. Atualmente ainda é considerado um vírus de grande importância no Brasil (INOUE-NAGATA; LIMA; GILBERTSON, 2016).

Furlan (2004) destaca que as condições favoráveis para a doença são temperaturas elevadas, na faixa de 30°C e umidade baixa, favorecendo o aumento da população do vetor e conseqüentemente, maior incidência do BGMV.

O BGMV pertence ao gênero *Begomovirus*, família *Geminiviridae* que apresentam como característica partículas icosaédricas geminadas e seu genoma constituído de DNA circular de fita simples (STANLEY et al., 2005). Esta família é dividida em nove gêneros segundo a classificação do Comitê Internacional de Classificação de Vírus (ICTV): *Becurtovirus*, *Begomovirus*, *Capulavirus*, *Curtovirus*, *Eragrovirus*, *Grablovirus*, *Mastrevirus*, *Topocuvirus* e *Turncurtovirus*. Dentre estes gêneros, destaca-se o *Begomovirus* com 409 espécies (ICTV, 2018).

BGMV é transmitido de maneira persistente-circulativa por *B. tabaci*, ou seja, o inseto ao se alimentar de uma planta infectada adquire o vírus, que irá circular pelo seu corpo até atingir as glândulas salivares acessórias. Após um determinado período de latência, o inseto é capaz de inocular o patógeno durante o processo de salivação em uma planta hospedeira sadia. Essa relação persistente do vírus com seu vetor, permite que a mosca-branca permaneça apta a transmitir o vírus a plantas sadias durante dias ou semanas (NAULT, 1997).

Segundo Lastra (1993), para a aquisição de begomovírus por mosca-branca é necessário um período de acesso à aquisição (PAA) de aproximadamente 4 horas, no entanto, períodos mais longos resultam no aumento da eficiência de transmissão (POLSTON et al., 1990). O período de latência irá depender das condições ambientais e do vírus a ser transmitido, podendo variar de 4 a 20 horas. Outros autores consideram que o período de latência pode ser entre 6 a 12 horas (ROSELL; TORREZ-JEREZ; BROWN, 1999). Com relação ao período de acesso à inoculação (PAI), foi registrado uma variação de 30 minutos a 24 horas, com eficiência de transmissão de 18% e 67%, respectivamente (MUNIYAPPA et al., 2000; SANTOS; ÁVILA; RESENDE, 2003).

1.4. Manejo de mosca-branca em cultivos agrícolas, em especial do feijoeiro

Para o sucesso no controle de pragas, é necessário o agrupamento de medidas que possam contribuir com a redução de danos que são provocados pelas pragas. O Manejo Integrado de Pragas (MIP) visa integrar as ações/práticas de controle (cultural, químico e biológico) de maneira harmônica, preocupando-se com os aspectos econômicos, toxicológicos, ambientais e sociais, na redução dos níveis de infestação de pragas e com a incidência de viroses.

De maneira preventiva, o controle cultural é implementado para a redução de infestação de pragas e doenças. Uma das alternativas é o estabelecimento de um calendário de plantio anual, com período mínimo entre 60 a 120 dias consecutivos livres de cultivo, dependendo da região. O uso de barreiras vivas, é outra medida de impedir ou retardar a entrada de pragas na lavoura. Devem ser perpendiculares à direção predominante do vento, rodeando a lavoura (VILLAS BÔAS, 2005).

A diminuição do número de indivíduos de mosca-branca nas culturas também está relacionada à queda de temperatura. Rodrigues et al. (1997) recomendam um manejo nas épocas de plantio, como efetuar a semeadura de feijão na safra das águas, em épocas que a população de mosca-branca é menor, como no período de Outubro a Novembro e, no Outono-Inverno, da segunda quinzena de Abril até Agosto e na safra da seca, início de Janeiro a Março.

Fungos entomopatogênicos representam uma alternativa importante para o manejo de mosca-branca em diversas culturas, podendo provocar doença e morte nas

populações do inseto. Sua utilização pode estar ou não associada aos inseticidas químicos seletivos (ALVES et al., 1997). *Beauveria bassiana*, algumas espécies de *Cordyceps*, *Lecanicillium* (*Verticillium*) e *Aschersonia* destacam-se como fungos entomopatogênicos promissores no controle da praga. (DE BARRO, 1995; ALVES & PEREIRA, 1998). *B. bassiana* já tem registro de comercialização, com o produto Boveril WP PL63, pela empresa Koppert Biological Systems, utilizado em todas as culturas para controle de mosca-branca.

Dentre os inimigos naturais, os parasitóides apresentam 25 espécies de Hymenopteros da família *Aphelinidae* (gêneros *Aphelosoma*, *Eretmocerus* e *Encarsia*) e 1 espécie da família *Ceraphronidae* (gênero *Aphanogmus*); já os predadores possuem 7 espécies de Neurópteros da família *Chrysopidae* (gêneros *Anisochrysa*, *Brinchochrysa*, *Chrysopa*, e *Chrysoperla*), 1 espécie de Hemiptera da família *Anthocoridae* (gênero *Orius*), 10 espécies de Coleópteros da família *Coccinellidae* (gêneros *Brumoides*, *Brumus*, *Catana*, *Coccinella*, *Coleomegilla*, *Cycloneda*, *Eriopis*, *Harmonia*, *Menochilus*, e *Scymnus*); 12 espécies de ácaros das famílias *Phytoseiidae* (gêneros *Amblyseius*, *Euseius*), *Tarsonemidae* (gêneros *Polyphagotarsonemus*, *Typhlodromus*) e *Stigmaeidae* (gênero *Agistemus*) (DOMÍNGUEZ; IRAHETA; SERMEÑO, 1991).

No Brasil, foram relatados a presença dos parasitóides: *Eretmocerus mundus*, *Encarsia inaron*, *E. basicincta*, *E. aleurothrix*; ácaro predador de ovos: *Amblyseius swirskii*, Coleóptero predador de ovos e ninfas: *Delphastus davidsoni* e fungos entomopatogênicos: *Verticillium lecanii*, *Aschersonia* cf. *goldiana* (LOURENÇÃO; YUKI; ALVES, 1999; LOURENÇÃO; MIRANDA; ALVES, 2001; OLIVEIRA et al., 2003; BALDIN et al., 2011; LOURENÇÃO et al., 2014; CAVALCANTE et al., 2015).

Esses agentes biológicos são de grande importância para a diminuição da densidade populacional da praga. Com isso, devem ser liberados no início do cultivo, já que normalmente a população de mosca-branca é baixa, para que haja um equilíbrio entre praga e inimigo natural (SILVA et al., 1968).

Devido à suscetibilidade do feijão ao BGMV, a Embrapa Arroz e Feijão e a Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia desenvolveram um feijão geneticamente modificado, o evento Embrapa 5.1, primeiro transgênico resistente ao geminivírus no campo (FARIA; CARNEIRO; ARAGÃO, 2010). Essa cultivar começou a ser plantada no Brasil em outubro de 2019 e deve estar disponível ao consumidor no primeiro trimestre de 2020 (AGROLINK, 2019).

Durante décadas, o controle de *Bemisia* spp. foi baseado exclusivamente nos inseticidas convencionais como, os organoclorados, organofosforados, carbamatos e piretróides (SHARAF, 1986), que eram utilizados por pulverizações para garantir a redução de BGMV, controlando o vetor. Porém, não foi observada nenhuma eficiência dos produtos utilizados, em níveis populacionais que não comprometessem a produtividade (FARIA & ZIMMERMANN, 1988). A partir de 1990, inseticidas com novos modos de ação e propriedades seletivas, foram desenvolvidos para o controle dos diferentes estádios de desenvolvimento de mosca-branca. Tais produtos, como piriproxifem, atuando na supressão da embriogênese, afetando a formação da progênie e o balanço hormonal e imidacloprido e tiametoxan, que atuam nos receptores de acetilcolina no sistema nervoso do inseto (ELBERT et al., 1990; OETTING & ANDERSON, 1990; ISHAAYA & HOROWITZ, 1992).

No controle de adultos de *B. tabaci*, em destaque, estão os neonicotenoídeos, que apresentam uma característica chave que o diferencia de outros grupos químicos populares, que é sua natureza sistêmica. Os neonicotenoídeos são moléculas relativamente pequenas e são altamente solúveis em água. Após a absorção pela planta, esses compostos e seus metabólitos circulam (principalmente via transporte do xilema) pelos tecidos das plantas e fornecem um período de proteção contra vários insetos/artrópodes que se alimentam de seiva (NAUEN et al. 2008; MAGALHAES et al. 2009).

Segundo Basu (1995), a ênfase do uso de controle químico tem sido para produtos que induzem a mudança comportamental do inseto, pela repelência ou irritação; o uso de inseticidas reguladores de crescimento e desenvolvimento de mosca-branca e a mistura de piretróides e compostos organofosforados, que tem se mostrado eficiente, no prolongamento do período de controle do inseto.

O modo de aplicação também tem sido alvo de estudos. Inseticidas no tratamento de sementes têm sido utilizados preventivamente e são diferenciados de outros tipos de inseticidas pelo seu modo de ação sistêmico. Após a semeadura desprendem-se das sementes e, devido a sua baixa pressão de vapor e solubilidade em água, são lentamente absorvidos pelas raízes, conferindo à planta um adequado período de proteção contra insetos do solo e da parte aérea (SILVA, 1998). E quando realizada adequadamente, possibilita reduzir o número de aplicações foliares, que por muitas vezes, precisam ser iniciadas logo após a emergência das plântulas (MENTEN, 1991).

A aplicação foliar de inseticidas ainda tem sido o método de controle predominante, sendo que na safra da seca (janeiro a abril), onde a ocorrência de pragas é elevada, as aplicações são realizadas entre três a quatro pulverizações nas primeiras semanas após a emergência das plantas, para o controle de vaquinha. Posteriormente são necessárias outras aplicações para o controle da cigarrinha, ácaro-branco, percevejos e lagartas (MODA-CIRINO, 2006). Para mosca-branca, devido a importância como transmissora de vírus, o seu manejo deve ser realizado de acordo com a época de plantio. Em áreas com histórico de alta incidência de BGMV e no plantio do feijão na época da seca, desde que a mosca-branca esteja presente na área amostrada, seu controle deve ser feito do plantio até o estágio de florescimento, que é o período mais crítico para a cultura em relação ao vetor, com tratamento de sementes e complementado com pulverizações semanais, sendo quatro a cinco pulverizações suficientes (QUINTELA, 2001).

Contudo, a partir dos princípios do MIP, é necessário a busca de inseticidas seletivos ou o seu uso seletivo, sendo de importância o prolongamento de sua vida útil na eficiência contra o vetor. Ambas opções poderiam ser implementadas mediante a avaliação de novos produtos, o aperfeiçoamento dos métodos de aplicação e o monitoramento constante dos níveis de resistência de mosca-branca em áreas específicas, a fim de sugerir esquemas de rotação dos inseticidas, no contexto de outras práticas próprias do MIP (HILJE, 1996).

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Criação de mosca-branca

A colônia inicial de *Bemisia tabaci* MEAM1 foi obtida junto ao Instituto Agrônômico (IAC) e mantida em casa-de-vegetação, revestida com tela anti-afídica sobre plantas de couve (*Brasica oleracea* L. var. *acephala* DC., cv. Manteiga) no Laboratório de Insetos Vetores de Fitopatógenos, no Departamento de Entomologia e Acarologia da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” (ESALQ/USP). A confirmação da espécie de *Bemisia tabaci* foi realizada periodicamente, via análise molecular. As plantas de couve foram plantadas em vasos plásticos de 2,5L contendo substrato Tropstrato HT, composto de casca de pinus, turfa e vermiculita expandida (Vida Verde, Mogi Mirim, SP). As plantas da colônia de mosca-branca eram renovadas semanalmente acrescentando-se três a quatro plantas novas de couve, e removendo as plantas mortas ou velhas.

2.2. Obtenção de plantas sadias

Para a obtenção de plantas utilizadas nos experimentos, semeou-se feijão do cultivar carioca, Bola Cheia em vasos plásticos de 1L contendo substrato comercial, Tropstrato HT (Vida Verde). Após o plantio, os vasos foram mantidos em casa-de-vegetação até as plantas atingirem os estádios fenológicos utilizados nos experimentos (V2, V3 e V4). Todas as plantas foram mantidas em casa-de-vegetação com tela anti-afídica e fertirrigadas com suspensão aquosa contendo 0,08g/L de nitrato de amônia (33% N, 1% K) e 0,91 g/L de nitrato de cálcio (15,5% N, 18% Ca), e com suspensão contendo 0,33 g/L de sulfato de magnésio (1% K₂O, 11,8% S, 9% Mg), 0,36g/L de nitrato de potássio (12% N, 43% K₂O, 1% S, 1% Mg), 0,14g/L de fosfato monoamônico (12% N, 61% P₂O₅), 0,09g/L de ferro (5% Fe orto-orto, 6% quelato de Fe EDTA), 0,03 g/L de sulfato de cobre (24% Cu, 11% S) e 0,02 g/L de sulfato de zinco (20% Zn, 10% S), duas vezes por semana.

2.3. Isolado de *Bean golden mosaic virus* (BGMV) e plantas-fonte

O isolado de BGMV foi gentilmente fornecido pela Prof. Renate Krause-Sakate, do Departamento de Proteção Vegetal da Universidade Estadual Paulista (UNESP/Botucatu). O isolado foi coletado a partir de plantas de feijão infectadas, em Bragança Paulista-SP e teve sua identidade confirmada através de sequenciamento do genoma. O mesmo foi mantido em plantas de feijão, as quais foram utilizadas como plantas fonte iniciais.

Para manutenção do isolado e obtenção de plantas-fontes de vírus para utilização nos experimentos, foram realizadas mensalmente, aquisições de BGMV de plantas de feijão (cultivar carioca) infectadas, e posterior inoculação em feijoeiros sadios, com 7 DAE, utilizando os insetos previamente sadios da colônia mantida em casa-de-vegetação. Para obtenção de plantas infectadas, utilizaram-se plantas de feijão sintomáticas, as quais foram colocadas em gaiolas feitas de garrafa pet, sendo liberados de 50-100 adultos por gaiola contendo as plantas infectadas, onde ficaram confinados por um período de acesso à aquisição (PAA) de 48 h. Em seguida, grupos de 10 insetos virulíferos foram confinados em gaiolas de garrafa pet com plantas de feijão sadias, por um período de acesso à inoculação (PAI) de 48 h. Após o PAI, os insetos foram retirados com auxílio de um sugador e mortos, e as plantas foram pulverizadas com ciantraniliprole (750 mL/ha) para eliminação de possíveis estágios imaturos do inseto, e mantidas em casa-de-vegetação, dentro de gaiolas de tecido *voile*.

Para a obtenção de indivíduos virulíferos de *B. tabaci*, adultos da criação com 5-10 dias após a emergência foram submetidos a um PAA de 48 h em plantas-fonte de BGMV. Para os ensaios com inseticidas, utilizaram-se plantas-fonte sintomáticas de BGMV com 4 a 5 semanas após a inoculação.

2.4. Efeito de inseticidas e estádios fenológicos do feijão sobre a transmissão de BGMV e a mortalidade de adultos de *B. tabaci* MEAM1

Para a avaliação do efeito de inseticidas na mortalidade de adultos de *B. tabaci* e na transmissão do vírus, os experimentos foram conduzidos em laboratório com sala climatizada de 28 ± 2 °C, U.R. de $70 \pm 5\%$ e fotofase de 14 h.

2.4.1. Inseticidas em pulverização foliar

O experimento foi conduzido em parceria com a Estação Experimental da empresa Corteva Agrisciences em Mogi Mirim, SP, no período de abril a agosto de 2019.

Sementes de feijão carioca (sem tratamento de sementes) foram semeadas em vasos de 1L com substrato Tropstrato (conforme descrito no tópico 3.2). Para esse experimento, foram utilizadas plantas de feijão em estádios fenológicos V3 e V4. Durante todo o ensaio as plantas foram mantidas em casa-de-vegetação telada com irrigação diária e fertirrigação.

Seis produtos comerciais com ingredientes ativos de diferentes grupos químicos foram aplicados nos diferentes estádios fenológicos do feijão com pulverizador Research Sprayer, Generation III (Figura 1), com pressão constante de CO₂ na velocidade de 2,25 metros por segundo, utilizando o bico tipo leque em volume de calda de 200L/ha, nas doses descritas na Tabela 1.

Adultos de *B. tabaci* MEAM1 sadios, foram submetidos a um período de acesso à aquisição (PAA) de 48 h em plantas-fonte, ou seja, plantas infectadas com BGMV. Cerca de 1500 adultos foram coletados da criação e transferidos para gaiolas de tecido *voile*, local onde as plantas-fonte foram mantidas.

Tabela 1. Inseticidas utilizados no tratamento de pulverização foliar para o controle de *Bemisia tabaci* MEAM1 e *Bean golden mosaic virus* (BGMV)

Nome comercial	Ingrediente Ativo	Grupo e subgrupo químico*	Concentração de ingrediente ativo	Dose do produto comercial	Formulação
Mospilan	Acetaprimido	4A	200g/kg	300g/ha	Pó Solúvel
Actara® 250 WG	Thiametoxam	4A	250g/kg	200g/ha	Granulado Dispersível
Benevia®	Ciantraniliprole	28	100g/kg	750mL/ha	Suspensão Concentrada em óleo
Closer® 240 SC	Sulfoxaflor	4C	240g/kg	400mL/ha	Suspensão Concentrada
Provado 200 SC	Imidacloprido	4A	200g/kg	500mL/ha	Suspensão Concentrada
Tiger 100 EC	Piriproxifem	7C	100g/kg	250mL/ha	Concentrado Emulsionável
Testemunha	-	-	-	-	-

*Fonte: IRAC (<https://www.irac-br.org/modo-de-acao>)

Após 24h da pulverização, cada planta foi infestada com cinco adultos virulíferos de mosca-branca, mantidos por um PAI de 48 h, em gaiolas pet (Figura 2). Após esse período foi registrada a mortalidade dos adultos, e os remanescentes vivos foram retirados. Posteriormente as plantas foram pulverizadas com o inseticida ciantraniliprole (750 mL/ha), para eliminação de possíveis estágios imaturos de mosca-branca, e mantidas em casa-de-vegetação por 30 dias para avaliação de sintomas (Figura 3). Foram realizadas dez repetições de cada tratamento dos dois estádios fenológicos, totalizando 140 unidades experimentais, em que essas unidades são indetificadas como as plantas de feijão saudáveis, em delineamento experimental inteiramente casualizado.

Figura 1. Pulverizador Research Sprayer, Generation III. A) Detalhe do equipamento, em relação ao modo de aplicação; B) Plantas de feijão em diferentes estádios fenológicos, sendo pulverizadas.

Figura 2. Plantas de feijão saudáveis, colocadas em gaiolas de garrafa pet, mantidas em sala climatizada a $28 \pm 2^\circ\text{C}$, U.R. de $70 \pm 5\%$ e fotofase de 14h, infestadas com moscas-brancas virulíferas.

Figura 3. Plantas de feijão carioca apresentando sintomas de infecção de BGMV. A) Folhas apresentando sintomas de atrofiamento; B) Mosaico amarelo intenso em todo o limbo foliar.

2.4.2. Inseticidas em tratamento de sementes

O experimento foi conduzido no período de junho à novembro de 2019, no Departamento de Entomologia e Acarologia da ESALQ-USP.

Para o preparo de sementes tratadas, foram pesadas as sementes de feijão em lotes de 100 gramas para cada inseticida a ser testado. Os lotes foram individualizados em sacos plásticos especiais para o tratamento de sementes e as caldas de cada inseticida foram colocadas dentro de cada saco plástico (Figura 4). Após 24 h de secagem, as sementes tratadas foram semeadas em número de quatro por vaso de 1L contendo substrato. As plantas foram mantidas em casa-de-vegetação telada com irrigação diária e fertirrigação, durante todo o período de experimentação. Após a germinação, realizou-se o desbaste das plantas, deixando apenas uma por vaso. Foram utilizadas plantas saudáveis de feijão em V2, V3 e V4.

No tratamento de sementes foram utilizados três inseticidas com ingredientes ativos de diferentes grupos químicos (Tabela 2).

Tabela 2. Inseticidas utilizados no tratamento de sementes para o controle de *Bemisia tabaci* MEAM1 e *Bean golden mosaic virus* (BGMV)

Nome comercial	Ingrediente Ativo (Grupo Químico)	Grupo e subgrupo químico*	Concentração de ingrediente ativo	Dose do produto comercial	Formulação
Poncho	Clotianidina	4A	600g/L	300mL/100kg sem	Suspensão Concentrada
Cropstar	Imidacloprido+Tiodicarbe	4A	150g/L	700mL/100 Kg sem	Suspensão Concentrada
Fortenza 600 FS®	Ciantraniliprole	28	600g/L	160mL/100 Kg sem	Suspensão Concentrada
Testemunha	-	-	-	-	-

*Fonte: IRAC (<https://www.irac-br.org/modo-de-acao>)

Conduziram-se dez repetições para cada tratamento e para cada um dos três estádios fenológicos testados, totalizando 120 unidades experimentais. Em cada planta (unidade experimental) foram transferidos cinco adultos virulíferos de mosca-branca, em delineamento inteiramente casualizado, que foram submetidos a um PAI de 48 h, mantidos em gaiolas de garrafa pet. Após esse período, foi realizada a contagem de adultos mortos e vivos e as plantas foram pulverizadas com inseticida ciantraniliprole (750 mL/ha) (para eliminação de possíveis estágios imaturos de mosca-branca) e mantidas em casa-de-vegetação por 30 dias para posterior avaliação de sintomas.

Figura 4. Lotes de 100 gramas de feijão carioca, individualizados em sacos plásticos, já tratados com inseticidas.

2.5. Efeito de inseticidas sobre a taxa de alimentação de adultos de *B. tabaci*

O experimento foi conduzido no Departamento de Entomologia e Acarologia da ESALQ-USP, no período de fevereiro de 2019 a janeiro de 2020.

Para a avaliação da taxa de ingestão de seiva do floema por *B. tabaci* MEAM1 em plantas de feijão, foram utilizados os mesmos produtos químicos da pulverização foliar e tratamento de sementes (Tabelas 1 e 2) e assim, foram montados dois ensaios em sala climatizada com temperatura de 28 ± 2 °C, U.R. de $70 \pm 5\%$ e fotofase de 14 h.

2.5.1. Plantas de feijão tratadas com pulverização foliar

Sementes de feijão carioca, Bola Cheia, foram plantadas em vasos de 1L contendo substrato comercial e foram mantidas em casa-de-vegetação até atingir o estágio fenológico de V3. Ao atingirem o estágio fenológico desejado, as plantas foram transportadas para fora da casa-de-vegetação para a pulverização dos inseticidas (Tabela 1). Formaram-se sete lotes de dez plantas (seis tratamentos químicos e um tratamento controle, com água destilada) em delineamento inteiramente casualizado. A aplicação foi realizada com pulverizador manual de compressão prévia de 1,5L (Figura 5) (volume de calda de 200L/ha) nas doses descritas na Tabela 1.

Figura 5. Aplicação de inseticidas, com pulverizador manual de compressão prévia de 1,5L, em plantas de feijão saudáveis com idade de sete dias após a emergência.

2.5.2. Plantas de feijão tratadas com tratamento de sementes

Lotes contendo 100 gramas de sementes de feijão carioca, Bola Cheia, foram individualizados em sacos plásticos com os inseticidas selecionados (Tabela 2) e tratadas conforme descrito no tópico 1.4.2.. Após 24 h, as sementes tratadas foram semeadas em número de quatro por vaso de 1L contendo

substrato comercial Tropstrato HT (Vida Verde) e, após a germinação, realizou-se o desbaste das plantas deixando apenas uma por vaso. Cada tratamento contou com 10 plantas, totalizando 40 unidades experimentais (três tratamentos com inseticida e um tratamento controle, com água destilada). As plantas foram mantidas em casa-de-vegetação com irrigação diária e fertirrigação duas vezes por semana. Ao atingirem 7 dias após emergência, as plantas foram selecionadas para a montagem do experimento.

2.5.3. Avaliação da taxa de ingestão do floema em plantas de feijão tratadas

Oito adultos sadios de *B. tabaci* MEAM1 foram confinados por 24 h em uma folha das plantas de feijão, por meio de gaiolas plásticas utilizando-se placas de Petri de poliestireno transparentes com dimensões 60 x 15 mm (diâmetro x altura). A parte superior da placa foi revestida com espuma de etil vinil acetato (EVA) para que a face adaxial do limbo foliar ficasse aderida na placa, de forma que o inseto só se alimentasse da face abaxial. A superfície de contato da placa com a folha foi coberta com espuma para evitar possíveis danos na estrutura foliar ao fechar a gaiola. Na lateral da mesma, havia alguns orifícios protegidos com tecido *voile* para permitir a circulação de ar e evitar escape dos insetos. A placa inferior foi revestida com papel filtro de 60 mm de diâmetro para reter as gotas de *honeydew* excretadas pelas moscas-brancas ao se alimentarem.

A taxa de ingestão do floema pelos insetos sadios foi avaliada indiretamente por meio da avaliação da quantidade de excrementos produzidos, utilizando-se a técnica de detecção de aminoácidos presentes nos excrementos com solução de ninidrina. Após a exposição dos insetos à folha, o papel filtro foi retirado da gaiola e colocado individualmente em placas de Petri novas e estéreis para secagem por 24 h. Em seguida, o papel filtro foi tratado com 2 mL de solução de ninidrina (SIGMA® N4876-25G) a 2% em acetona absoluta durante um minuto. Essa solução, ao reagir com os aminoácidos presentes no *honeydew*, adquire coloração roxa o local onde existem excretas (BOINA et al.,

2009; CHEN; SEO; STELINSKI, 2017), permitindo a posterior avaliação da área de deposição das excretas da mosca-branca.

Após a secagem, foram obtidas imagens através do digitalizador de imagem, tipo mesa (scanner) HP® modelo HP Photosmart Plus B210 Series Scan. As imagens foram gravadas em arquivo do tipo JPEG, com resolução de 300 DPI e processadas pelo software Quant versão 1.0.1 (VALE; FERNANDES FILHO; LIBERATO, 2003).

A avaliação foi realizada com o uso da paleta de cores disponível no programa, em que as pontuações com diferentes tons de roxo (excretas de *honeydew*) foram reduzidas a apenas uma cor: verde. Com o comando resultado, o software forneceu a área ocupada com a cor escolhida.

O mesmo procedimento foi realizado para adultos virulíferos da mosca-branca, os quais foram submetidos a um PAA de 48 h em plantas-fonte de feijão. Após esse período, foram separados em lotes de oito adultos e confinados em plantas de sadias de feijão, por meio de gaiolas, e mantidos por um PAI de 24 h.

Em ambos os ensaios, ou seja, com adultos avirulíferos e virulíferos, após o PAI foi feita a contagem dos insetos mortos, sendo os remanescentes vivos retirados. As plantas foram pulverizadas com o inseticida ciantraniliprole (750 mL/ha) para eliminação de possíveis estágios imaturos de mosca-branca e mantidas em casa-de-vegetação por 30 dias, para avaliação de sintomas.

2.6. Análise estatística

Para as análises de mortalidade dos insetos pelos inseticidas nos experimentos de pulverização foliar e de tratamento de sementes, foi utilizado um modelo linear generalizado do tipo quasibinomial. A qualidade do ajuste do modelo foi confirmada com um envelope simulado meio normal, para isto foi utilizando o pacote hnp (MORAL *et al.* 2017) do programa R (R CORE TEAM, 2019). Os contrastes de médias entre os tratamentos foram conduzidos por meio da função glht do pacote multcomp (TORSTEN *et al.* 2008).

A análise de Deviance foi realizada para a interação envolvendo as fontes de variação tempo de avaliação (fator 1) e inseticidas (fator 2) para a variável dependente sobrevivência (%). Nos demais casos a análise de Deviance foi conduzida apenas para analisar o efeito do fator 1. De acordo com o método de amostragem das unidades experimentais, o fator tempo não foi considerado como medida repetida no tempo.

A percentagem de eficácia dos inseticidas no controle de mosca-branca foi calculada pela fórmula de Abbot (ABBOTT, 1925):

$$E\% = \left(\frac{IT - it}{IT} \right) \times 100$$

Em que $E\%$ é a percentagem de eficácia; IT é o número de insetos vivos na testemunha (insetos que se alimentaram de plantas sem tratamento químico); it é o número de insetos vivos nos tratamentos com produtos químicos.

Os dados de excreção de honeydew (área corada pela solução de ninidrina) coletados nos experimentos de efeitos de inseticidas sobre a taxa de alimentação também foram submetidos a análises com o modelo gaussiano (distribuição normal). Após a detecção dos efeitos significativos, as médias foram comparadas pelo teste de Tukey (5%).

3. RESULTADOS

3.1. Efeito de inseticidas em pulverização foliar no controle de *B. tabaci* MEAM1 e da transmissão de Bean golden mosaic virus (BGMV)

Para a taxa de mortalidade de adultos virulíferos de *B. tabaci* MEAM1 após 48 h de exposição sobre plantas tratadas, a análise de variância não mostrou interação significativa entre os tratamentos com inseticidas em pulverização foliar e os períodos após a emergência do feijão em que foram feitas as pulverizações. Não houve diferença na mortalidade ocasionada pelos inseticidas nos diferentes estádios fenológicos (V3 e V4). Todavia, para ambos os períodos houve diferença estatística entre tratamentos com inseticidas e a testemunha (Tabela 3). A pulverização com o inseticida acetaprimido resultou em maior mortalidade de adultos virulíferos de *B. tabaci* do que os demais inseticidas testados. Assim, esse inseticida mostrou uma maior eficiência no controle de mosca-branca, para ambos os períodos após a emergência das plantas de feijão (Figura 6). Dentre os inseticidas testados, piriproxifem foi o que resultou em menor mortalidade de adultos virulíferos de mosca-branca, não diferindo apenas de imidacloprido (Tabela 3), sendo os menos eficazes quando pulverizados em V3 e V4, respectivamente (Figura 6).

Insetos virulíferos submetidos a um período de acesso à inoculação (PAI) de 48 h sobre plantas sadias de feijão tratadas com o inseticida acetaprimido induziram a mais baixa taxa de transmissão de BGMV (20%) em V3 e V4 (Tabela 4)., Embora ocasionando baixa mortalidade (13%) do inseto durante o PAI, a pulverização com o inseticida piriproxifem resultou em taxas de transmissão relativamente baixas, especialmente aos 7 DAE (20%) (Tabela 4). Já o inseticida ciantraniliprole foi o que menos reduziu a transmissão em relação à testemunha, permitindo a infecção de 50 e 70% das plantas quando testado em V3 e V4, respectivamente (Tabela 4).

Tabela 3. Taxa de mortalidade ($\pm$ EPM) de adultos virulíferos de *Bemisia tabaci* MEAM1 após 48 h de exposição em plantas de feijão, em V3 e V4, pulverizadas com diferentes inseticidas

Inseticida	Mortalidade (%)		
	V3	V4	Média
Acetamiprido	51,0 $\pm$ 5,1 ^x	64,0 $\pm$ 5,9	57,5 $\pm$ 4,0 a
Tiametoxam	39,0 $\pm$ 5,5	47,0 $\pm$ 4,2	43,0 $\pm$ 3,5 b
Ciantraniliprole	30,0 $\pm$ 3,4	34,0 $\pm$ 5,2	32,0 $\pm$ 3,1 c
Sulfoxaflor	27,0 $\pm$ 3,9	36,0 $\pm$ 5,7	31,5 $\pm$ 3,5 c
Imidacloprido	34,0 $\pm$ 4,8	20,0 $\pm$ 5,8	27,0 $\pm$ 3,9 cd
Piriproxfem	13,0 $\pm$ 4,4	29,0 $\pm$ 6,9	21,0 $\pm$ 4,2 d
Testemunha	2,0 $\pm$ 1,4	1,0 $\pm$ 1,0	1,5 $\pm$ 0,8 e

^xMédias seguidas de mesma letra minúscula nas colunas não diferem entre si por meio da função "glht" ($P < 0,05$). O desdobramento da interação tratamento versus tempo não foi efetuado devido a não significância dessa interação ($P > 0,05$). Cada tratamento teve 10 repetições, usando-se 5 adultos virulíferos de *B. tabaci* confinados sobre uma planta de feijão por repetição.

Figura 6. Eficácia média ($\pm$ EPM) de controle dos adultos virulíferos de *Bemisia tabaci* para diferentes inseticidas em pulverização foliar, após 48 h de confinamento dos insetos sobre plantas de feijão (5 adultos por planta; n = 10 plantas) em sucessivos estágios fenológicos (V3 e V4). A eficácia foi calculada pela fórmula de Abbott: $E\% = ((IT - it) / IT) \times 100$, onde E% = Porcentagem de eficácia; IT = número médio de insetos vivos no tratamento sem inseticida; it = número médio de insetos vivos no tratamento com inseticida.

Tabela 4. Taxa de transmissão de *Bean golden mosaic virus* (BGMV) por *Bemisia tabaci* MEAM1 após período de acesso à inoculação (PAI) de 48 h em plantas de feijão, em V3 e V4, pulverizadas com diferentes inseticidas

Inseticidas	V3			V4		
	Rep. I	Rep. II	Total (%)	Rep. I	Rep. II	Total (%)
Acetamiprido	2/10	2/10	4/20 (20)	4/10	0/10	4/20 (20)
Tiametoxam	5/10 ^a	1/10	6/20 (30)	10/10	2/10	12/20 (60)
Ciantraniliprole	6/10	4/10	10/20 (50)	9/10	5/10	14/20 (70)
Sulfoxaflor	4/10	2/10	6/20 (30)	6/10	6/10	12/20 (60)
Imidacloprido	3/10	2/10	5/20 (25)	8/10	4/10	12/20 (60)
Piriproxifem	4/10	0/10	4/20 (20)	7/10	1/10	8/20 (40)
Testemunha	9/10	9/10	18/20 (90)	7/10	9/10	16/20 (80)

^a Proporção de plantas com sintomas de BGMV sobre o total de plantas inoculadas. Os insetos foram submetidos a um período de acesso à aquisição (PAA) de 48 h em plantas-fonte de BGMV e em seguida transferidos em número de cinco por planta-teste sadia para inoculação

3.2. Efeito de inseticidas em pulverização foliar na taxa de alimentação de *B. tabaci* MEAM1

Houve efeito significativo da pulverização de inseticidas em plantas de feijão sobre a alimentação de adultos avirulíferos de *B. tabaci*, baseando-se na análise da área de excreção de *honeydew* ($F=4.0$; $GL=6$; $P= 0.0019$). Porém, apenas acetamiprido e sulfoxaflor reduziram significativamente a área de excreção em relação à testemunha (Figura 7B). Por outro lado, todos os inseticidas testados ocasionaram mortalidade mais elevada que a testemunha, com destaque para acetamiprido (cerca de 97%), cujo efeito foi mais letal que o dos demais inseticidas (Figura 7A).

No caso de adultos virulíferos de *B. tabaci*, todos os inseticidas em pulverização reduziram a alimentação de adultos em relação à testemunha, exceto Piriproxifen ($F= 16.6$; $GL=6$; $P < 0,0001$) (Figura 8B). Acetaprimido e tiametoxam foram os inseticidas que ocasionaram maior mortalidade (aproximadamente 50-60%) de moscas-brancas virulíferas, enquanto que sulfoxaflor, imidacloprido e piriproxifem propiciaram baixa mortalidade ($< 25\%$) (Figura 8A).

A avaliação de sintomas de BGMV cerca de 30 dias após o confinamento de adultos virulíferos de *B. tabaci* em plantas de feijão tratadas com os diferentes inseticidas permitiu uma avaliação de impacto dos tratamentos sobre a transmissão do vírus. Nenhum dos inseticidas impediu a transmissão, mas observou-se a menor taxa de transmissão (10%) em plantas tratadas com acetamiprido (Figura 8C). No caso de plantas tratadas com tiametoxan, a taxa de transmissão foi mais elevada (50%), embora este produto tenha apresentado efeito letal e de redução de alimentação semelhante ao acetamiprido. Por outro lado, observou-se a taxa mais elevada de transmissão (60%) em plantas tratadas com piriproxifen, que não afetou significativamente a alimentação da mosca-branca e ocasionou baixa mortalidade (60%) (Figura 8C).

Figura 7. Percentual de mortalidade (A), área de excreção (corada por ninidrina) (B) por grupo de oito adultos avirulíferos de *Bemisia tabaci* após 24 h de confinamento em plantas de feijão, em V3, pulverizadas com diferentes inseticidas. Médias seguidas da mesma letra não diferem pelo teste de Tukey a 5%. Barras sobre as colunas representam o erro padrão da média (n=10 plantas por tratamento)

Figura 8. Percentual de mortalidade (A), área de excreção (corada por ninidrina) (B) e percentual de transmissão (representado pelo número de plantas sintomáticas sob o total de plantas inoculadas) (C) por grupos de oito adultos virulíferos de *Bemisia tabaci* após 24 h de confinamento em plantas de feijão, em V3, pulverizadas com diferentes inseticidas. Médias seguidas da mesma letra não diferem pelo teste de Tukey a 5%. Barras sobre as colunas representam o erro padrão da média (n=10 plantas por tratamento)

3.3. Efeito de inseticidas em tratamento de semente no controle de *B. tabaci* e da transmissão de BGMV

A taxa de mortalidade de adultos virulíferos de *B. tabaci* após 48 h de exposição em plantas de feijão com tratamento de sementes diferiu entre os inseticidas testados e entre os períodos (dias após a emergência - DAE) em que o teste foi realizado, assim como houve interação significativa entre os dois fatores ('inseticidas' e 'DAE'). Todos os inseticidas propiciaram maior mortalidade aos 2 DAE, havendo uma queda elevada aos 7 e 14 DAE, com taxas abaixo de 20% para todos os inseticidas (Tabela 5). Entre os inseticidas avaliados para o tratamento de sementes, ciantraniliprole foi o que resultou nas maiores taxas de mortalidade aos 2 e 7 DAE, diferindo estatisticamente de imidacloprido+tiodicarbe, mas não de clotianidina. Aos 14 DAE, clotianidina resultou em maior taxa de mortalidade, não havendo diferença entre os demais inseticidas testados. Assim, observou-se maior eficácia de ciantraniliprole no controle de mosca-branca aos 2 e 7 DAE, e de clotianidina aos 14 DAE (Figura 9).

Adultos virulíferos de *Bemisia tabaci* mostraram baixa taxa de transmissão de BGMV (0-10%) quando submetidas a um PAI de 48 h sobre plantas de feijão aos 2 DAE, obtidas de sementes tratadas com os três inseticidas testados (Tabela 6). Entretanto, os inseticidas em tratamentos de sementes mostraram-se menos eficazes em evitar a transmissão aos 7 e 14 DAE, quando foram observadas taxas de transmissão variando de 30 a 60%. Sementes tratadas com o inseticidas clotianidina e imidacloprido + tiodicarbe apresentaram as menores taxas de transmissão de BGMV (30-35%) aos 7 DAE (Tabela 6), mesmo tendo ocasionado baixas taxa de mortalidade ($\leq 15\%$) do inseto durante o PAI (Tabela 5).

Tabela 5. Taxa de mortalidade ($\pm$ EPM) de adultos de *Bemisia tabaci* MEAM1 após 48h de exposição a plantas de feijão, em V2, V3 e V4, com tratamento de sementes

Inseticida	Mortalidade (%)			
	V2	V3	V4	Média
Ciantraniliprole	93,0 $\pm$ 2,6 aA ^x	17,0 $\pm$ 3,9 aB	8,0 $\pm$ 2,7 bB	39,3 $\pm$ 5,3 a
Clotianidina	56,0 $\pm$ 8,1 abA	15,0 $\pm$ 3,2 abB	19,0 $\pm$ 4,5 aB	30,0 $\pm$ 4,0 ab
Imidacloprido + Tiodicarbe	51,0 $\pm$ 4,2 bA	12,0 $\pm$ 4,0 bB	8,0 $\pm$ 2,7 bB	23,7 $\pm$ 3,3 b
Testemunha	1,0 $\pm$ 1,0 cC	3,0 $\pm$ 1,6 cC	2,0 $\pm$ 1,4 cC	2,0 $\pm$ 0,8 c

^xMédias seguidas de mesma letra minúscula, nas colunas e maiúsculas, nas linhas não diferem entre si por meio da função “glht” ($P < 0,05$). Cada tratamento teve 10 repetições, usando-se 5 adultos virulíferos de *B. tabaci* confinados sobre uma planta de feijão por repetição.

Figura 9. Eficácia média ($\pm$ EPM) de controle dos adultos virulíferos de *Bemisia tabaci* para diferentes inseticidas em tratamento de sementes, após 48 h de confinamento dos insetos sobre plantas de feijão (5 adultos por planta; n = 10 plantas) em sucessivos estágios fenológicos (V2, V3 e V4). A eficácia foi calculada pela fórmula de Abbott: $E\% = ((IT - it) / IT) \times 100$, onde E% = Porcentagem de eficácia; IT = número médio de insetos vivos no tratamento sem inseticida; it = número médio de insetos vivos no tratamento com inseticida

Tabela 6. Taxa de transmissão de *Bean golden mosaic virus* (BGMV) por *Bemisia tabaci* MEAM1 após período de acesso à inoculação (PAI) de 48 h em plantas de feijão, em V2, V3 e V4, com sementes tratadas com diferentes inseticidas

Inseticidas	V2			V3			V4		
	Rep. I	Rep. II	Total (%)	Rep. I	Rep. II	Total (%)	Rep. I	Rep. II	Total (%)
Ciantraniliprole	0/10	0/10	0/20 (0)	9/10	3/10	12/20 (60)	7/10	2/10	9/20 (45)
Clotianidina	0/10	2/10	2/20 (10)	3/10	3/10	6/20 (30)	8/10	4/10	12/20 (60)
Imidacloprido + Tiodicarbe	2/10	0/10	2/20 (10)	6/10	1/10	7/20 (35)	5/10	3/10	8/20 (40)
Testemunha	8/10	10/10	18/20 (90)	9/10	9/10	18/20 (90)	9/10	7/10	16/20 (80)

^a Proporção de plantas com sintomas de BGMV sobre o total de plantas inoculadas. Os insetos foram submetidos a um período de acesso à aquisição (PAA) de 48 h em plantas-fonte de BGMV e em seguida transferidos em número de 5 por planta-teste sadia para inoculação.

3.4. Efeito de inseticidas em tratamento de sementes na taxa de alimentação de *B. tabaci* MEAM1

Para o tratamento de sementes em feijão, houve efeito significativo sobre a alimentação de adultos avirulíferos de *B. tabaci* em plantas V3, baseando-se na análise da área de excreção de honeydew ($F=6.12$; $GL=3$; $P=0.0018$). Entretanto, não houve supressão da alimentação e apenas ciantraniliprole reduziu significativamente a área de excreção em relação à testemunha, embora não tenha diferido estatisticamente de clotianidina (Figura 10B). Todos os inseticidas testados ocasionaram baixa mortalidade dos insetos ($<20\%$) em plantas de feijão no estágio fenológico v3, não diferindo estatisticamente da testemunha (Figura 10A).

Para adultos virulíferos de *B. tabaci*, ciantraniliprole e clotianidina reduziram significativamente a alimentação em relação à testemunha, enquanto que imidacloprido+tiodicarbe não diferiu da testemunha aos 7 dias após a germinação ($F=8.06$; $GL=3$; $P=0.0003$) (Figura 11B). A taxa de mortalidade dos tratamentos também foi baixa ($<20\%$) para adultos virulíferos, sendo que apenas clotianidina diferiu em relação à testemunha (Figura 11A).

A avaliação de sintomas de BGMV, cerca de 30 dias após o confinamento de adultos virulíferos de *B. tabaci* em plantas de feijão dos diferentes tratamentos de sementes, mostrou que nenhum dos inseticidas impediu a transmissão do vírus aos 7 dias após a germinação, ocorrendo taxas elevadas de plantas sintomáticas (Figura 11C). O menor percentual de plantas sintomáticas (60%) foi observado em plantas cujas sementes foram tratadas com clotianidina. Os demais tratamentos (ciantraniliprole e imidacloprido+tiodicarbe) mostraram taxas de infecção iguais à da testemunha (90%).

Figura 10. Percentual de mortalidade (A) e área de excreção (corada por ninidrina) (B) por grupos de oito adultos avirulíferos de *Bemisia tabaci* após 24 h de confinamento em plantas de feijão com tratamento de sementes, aos 7 dias após a germinação. Médias seguidas da mesma letra não diferem pelo teste de Tukey a 5%. Barras sobre as colunas representam o erro padrão da média (n=10 plantas por tratamento)

Figura 11. Percentual de mortalidade (A), área de excreção (corada por ninidrina) (B) e percentual de transmissão (representado pelo número de plantas sintomáticas sob o total de plantas inoculadas) (C) por grupos de oito adultos virulíferos de *Bemisia tabaci* após 24 h de confinamento em plantas de feijão, em V3, com tratamento de sementes. Médias seguidas da mesma letra não diferem pelo teste de Tukey a 5%. Barras sobre as colunas representam o erro padrão da média (n=10 plantas por tratamento)

4. DISCUSSÃO

Para o controle de *B. tabaci* MEAM1 em feijoeiro, a maioria dos produtos registrados junto ao Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) são dos grupos químicos neonicotinoides, organofosforados, éter piridiloxipropílico, feniltiouréia, antranilamina e piretróides (AGROFIT, 2020). Apesar do vasto número de produtos recomendados, Horowitz & Ishaaya (1995) e Lacerda & Carvalho (2008), relatam que, em muitos casos, o tratamento com inseticidas convencionais não é eficiente devido ao hábito do inseto, em estágios imaturos e adultos, de localizarem-se na face abaxial das folhas e também pelo rápido desenvolvimento de resistência. Dessa forma, é recomendado que haja rotação de produtos e a alternância de ingredientes ativos, bem como de grupos químicos com diferentes modos de ação, visando o manejo da resistência desse inseto-praga (ALENCAR *et al.*, 1998).

Poucos estudos foram feitos relacionando a mortalidade de adultos de mosca-branca por inseticidas e a transmissão de BGMV em feijoeiro (ALVES *et al.*, 2001; BARBOSA *et al.*, 2002; SCARPELLINI *et al.*, 2002). No presente trabalho, os resultados do experimento de pulverização foliar com inseticidas no controle de adultos de mosca-branca virulíferas mostraram, de maneira geral, que o inseticida acetamiprido, pertencente ao grupo químico dos neonicotinoides, foi o que propiciou maior proteção ao feijoeiro contra a mosca-branca *B. tabaci*, ocasionando maior mortalidade dos insetos, reduzindo mais intensamente a alimentação e a taxa de transmissão de BGMV em plantas tratadas. Resultados semelhantes foram relatados no caso da transmissão de *Cucurbit yellow stunting disorder virus* (CYSDV) por *B. tabaci* MEAM1 em meloeiro, em que mesmo sob alta pressão de insetos virulíferos por planta, o inseticida acetamiprido em pulverização foliar, reduziu a incidência do vírus para apenas 4,3% de plantas infectadas (CASTLE *et al.*, 2017). Por outro lado, Silva (2018) mostrou que o inseticida acetamiprido, em pulverização foliar, não foi eficiente para controlar infecções primárias e secundárias de *Tomato chlorosis virus* (ToCV) em tomateiro, usando adultos de *B. tabaci* MEAM1 verificando taxas de infecção de 87% e 84%, respectivamente.

Kodandaram *et al.* (2017) relatam que os inseticidas neonicotinoides, por serem sistêmicos, têm sido amplamente utilizados para controlar insetos sugadores, incluindo *B. tabaci*, pois são facilmente absorvidos e translocados nas plantas, tendo um maior sucesso no controle da praga. Segundo Scarperllini *et al.* (2002), os

neonicotinoides tiametoxam e imidacloprido, assim como o diafenthiuron, inseticida do grupo químico feniltioureia, quando pulverizados em plantas de feijão 'IAC' Carioca, mostraram eficiência de controle sobre adultos de mosca-branca entre 49% a 71%. Tais resultados são semelhantes aos obtidos para tiametoxam no presente trabalho, que ocasionou uma média de mortalidade de mosca-branca de 43% (Tabela 3), após 48 h de confinamento em plantas de feijão pulverizadas com esse inseticida.

Smith e Giurcanu (2014) avaliaram o efeito de alguns inseticidas em pulverização foliar, dentre eles, o sulfoxaflor, na transmissão de *Tomato yellow leaf curl virus* (TYLCV) por *B. tabaci* MEAM1, em tomateiros inoculados aos 3, 7 e 14 dias após o tratamento (DAT), mostrando que logo ao terceiro DAT, entre 10% a 25% das plantas de tomate expostas aos insetos virulíferos apresentaram sintomas de infecção pelo vírus e aos 7 e 14 DAT resultaram em uma transmissão entre 13% a 35% e 23% a 77%, respectivamente. No presente trabalho, a porcentagem de transmissão de BGMV após o confinamento de indivíduos virulíferos por 48 h em plantas pulverizadas com sulfoxaflor em V3 foi de 30% e em V4 dobrou (Tabela 4). Isso ocorre provavelmente devido à baixa taxa de mortalidade por esse inseticida e pelo fato de o inseto ser capaz de se alimentar em plantas tratadas, e assim, transmitir o vírus.

Analisando a eficácia do imidacloprido no controle de mosca-branca, Alves et al. (2001) constataram uma taxa de mortalidade de 86,9% e, quando aplicado conjuntamente com tiacloprido, eficácia de 92,5%. Castelo Branco & Pontes (2001) observaram taxa de mortalidade de *B. tabaci* MEAM1 por imidacloprido de 99%, bastante superior à verificada no presente trabalho (27%), a qual foi inferior a dos inseticidas acetamiprido e tiametoxan, que pertencem ao mesmo grupo químico (neonicotinoides).

Outro grupo químico testado no presente trabalho, o éter piridiloxipropílico, atua sobre o inseto de forma análoga ao hormônio juvenil, que age suprimindo a embriogênese, metamorfose e emergência de adultos, sendo eficaz contra uma variedade de insetos pragas, incluindo moscas-brancas (QURESHI et al. 2009) e pulgões (LIU & CHEN 2001). O inseticida piriproxifem, pertencente a esse grupo químico, foi testado em adultos de mosca-branca virulíferas, mostrando baixa taxa de mortalidade e, portanto, menor eficácia no controle de adultos, comparando-se aos outros inseticidas testados. Isso se deve, provavelmente, ao fato de seu modo de ação estar relacionado à fase imatura do inseto, sendo mais eficaz quando utilizado para controle de ninfas e ovos.

A presente pesquisa também investigou a eficácia de aplicação de inseticidas via tratamento de sementes no controle de *B. tabaci* MEAM1 e da transmissão de BGMV. A utilização de sementes tratadas tem o princípio de diminuir riscos ambientais, principalmente com os inseticidas do grupo químico dos neonicotinoides, reduzindo a exposição de organismos não-alvo ao inseticida (NAULT et al., 2004). Imidacloprido foi o primeiro neonicotinoide a ser desenvolvido, sendo um dos mais usados (Elbert et al., 1991). Drinkwater (1994) relatou pela primeira vez que o imidacloprido poderia ser aplicado como tratamento do solo para controlar pragas foliares e do solo. É amplamente usado para proteger as culturas de milho (Altmann, 2003), algodão (El-Hamady et al., 2008) e soja (Ohnesorg et al., 2009).

Avaliando o controle de *B. tabaci* MEAM1 em feijoeiro utilizando tratamento de sementes com inseticidas neonicotinoides seguido de quatro ou seis pulverizações foliares com dois inseticidas neonicotinoides, Barbosa et al. (2002) observaram taxas de eficiência superiores a 80 e 90% com pulverizações de thiametoxam e imidacloprido, respectivamente, não havendo diferença, no entanto, no número de vagens/planta, peso de sementes e redução dos sintomas de BGMV. No presente trabalho, o tratamento de sementes com a mistura imidacloprido+tiodicarbe mostrou uma eficiência de controle de adultos de *B. tabaci* MEAM1 de aproximadamente 50% em V2 da cultura, que se mostrou rapidamente decrescente com o desenvolvimento vegetativo, sendo inferior a 10% em V3 e V4. A taxa de alimentação de mosca-brancas avirulíferas e virulíferas em plantas de feijão tratadas via semente com essa mistura de inseticidas não diferiu daquela observada pelos insetos em plantas não tratadas com inseticidas, em V3

Bueno et al. (2010) mostraram que o inseticida imidacloprido ou a mistura de imidacloprido+tiodicarbe em tratamento de semente não foi eficaz no controle de *B. tabaci* na cultura de girassol. Tais autores observaram que a ineficácia desses produtos pode ser decorrente de problemas de resistência a alguns ingredientes ativos, devido ao uso abusivo de inseticidas na agricultura para o controle de mosca-branca.

Para a clotianidina, outro inseticida neonicotinoide avaliado via sementes, a taxa de mortalidade também foi decrescente com o desenvolvimento das plantas de feijão, apresentando eficiência de controle de aproximadamente 55% em V2, e inferior a 20% em V3 e V4. Em trabalhos realizados com outros hemípteros, verificou-se uma maior eficiência de controle desse inseticida em tratamento de sementes, resultando

em maior proteção na cultura de milho contra tripes e cigarrinha-do-milho (DING et al., 2018; SILVEIRA, 2019) e contra pulgões em soja (MAGALHAES; HUNT; SIEGFRIED, 2009).

O inseticida ciantraniliprole, que foi testado em pulverização e tratamento de sementes, mostrou maior eficiência de controle como tratamento de sementes, resultando em uma taxa de mortalidade 93% em V2. Entretanto, de modo semelhante aos demais inseticidas avaliados em tratamento de sementes, mostrou rápido decréscimo na taxa de mortalidade em V3 e V4. Esse inseticida pertence ao grupo químico das diamidas antranílicas, que tem como modo de ação ativar os receptores de rianodina, alterando e paralisando a função muscular de insetos pela liberação descontrolada de cálcio, o que resulta em rápido bloqueio de alimentação (HANNING et al., 2009). Avaliando-se a taxa de alimentação de mosca-branca em plantas tratadas com o inseticida ciantraniliprole, verificou-se redução significativa em relação à testemunha em V3; mesmo assim, os insetos transmitiram BGMV para 90% das plantas de feijão.

Portanto, os inseticidas avaliados em tratamento de sementes de feijão, ciantraniliprole, clotianidina e imidacloprido + tiodicarbe, controlam adultos da mosca-branca *B. tabaci* MEAM1 e a transmissão de BGMV em plantas de feijão em V2. O inseticida acetamiprido, em pulverização foliar, é moderadamente eficiente no controle de adultos virulíferos de *B. tabaci* MEAM1 e na redução da alimentação desse inseto vetor e da transmissão de BGMV, em V3 e V4. Ambas as modalidades de aplicação (foliar e tratamento de sementes) mostraram efeito na taxa de alimentação, mas isso não se relaciona com a transmissão do vírus, sendo a mortalidade o fator mais determinante. Estudos futuros devem investigar outros ingredientes ativos e formulações, para identificar opções químicas que permitam reduzir ainda mais a população de *B. tabaci* MEAM1 e/ou sua alimentação, e que apresentem maior efeito residual, de modo a prevenir ou diminuir drasticamente a transmissão de vírus por esse inseto vetor.

5. CONCLUSÃO

Os resultados desta pesquisa mostram que é difícil controlar eficientemente a mosca-branca *B. tabaci* MEAM1 e a transmissão do BGMV via pulverização ou tratamento de sementes com inseticidas. Entretanto, é possível reduzir as taxas de transmissão do vírus com certos ingredientes ativos, tais como acetamiprido, em pulverização foliar e ciantraniliprole, no tratamento de sementes. A aplicação de inseticidas via semente mostrou ser eficaz no controle da mosca-branca e na redução da transmissão nos primeiros dias após a emergência das plantas, mas necessita ser complementada com aplicações foliares em V3.

-

REFERÊNCIAS

- AGROFIT. **Sistema de Agrotóxicos Fitossanitários**. Brasília: DF: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), 2019. Disponível em: http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons. Acesso em 30 de mar. 2020.
- AGROLINK. **Feijão transgênico chegará aos pratos brasileiros em 2020** Por: LEONARDO GOTTEMS Publicado em 04/09/2019. Disponível em: https://www.agrolink.com.br/noticias/feijao-transgenico-chegara-aospratos-brasileiros-em-2020_423800.html. Acesso em: 20 de jan. 2020.
- AIDAR, H.; KLUTHCOUSKI, J.; STONE, L. F. **Produção do feijoeiro comum em várzeas tropicais**. (Ed.). Santo Antônio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão. p. 305, 2002.
- ALENCAR, J. A. de; ARAUJO, L. H. A.; BLEICHER, E.; HAJI, F. N. P.; BARBOSA, F. R.; SILVA, P. H. S. da; CARNEIRO, J. da S. Manejo de agroquímicos para o controle de mosca branca, *Bemisia argentifolli* Bellows & Perring. In: Manejo Integrado da Mosca-branca – Plano Emergencial para o Controle da Mosca-Branca. **EMBRAPA**, 1998.
- ALTMANN, R. Poncho: a new insecticidal seed treatment for the control of major maize pests in Europe. **Pflanzenschutz Nachr. Bayer** (Engl. Ed.) v. 56, p. 102–110, 2003.
- ALVES, S. B.; LOPES, J. R. S.; ALVES, L. F. A.; MOINO JÚNIOR, A. Controle microbiano de artrópodos associados a doenças de plantas. In Melo, IS. Ed. **Controle Biológico**, Jaguariúna. CNPMA-Embrapa. v.1 p. 143-170. 1997.
- ALVES, S. B.; PEREIRA, R. M. Produção de fungos entomopatogênicos. In: ALVES, SB. Ed. **Controle Microbiano de Insetos**, Piracicaba, FEALQ, p. 845-869. 1998.
- ALVES, S. B.; SILVEIRA, C. A.; LOPES, R. B.; TAMAI, M. A.; RAMOS, E. Q.; SALVO, S. Eficácia de *Beauveria bassiana*, imidacloprid e thiacloprid no controle de

Bemisia tabaci e na incidência do BGMV. **Manejo Integrado de Plagas y Agroecologia**, v. 61, p.31-36, 2001.

BALDIN, E. L. L.; SCHILICK-SOUZA, E. C.; FUJIHARA, R. T.; LOURENÇÃO, A. L.; GONZÁLEZ, G. Ocorrência de *Delphastus davidsoni* (Coleoptera: Coccinellidae) predando *Bemisia tabaci* biótipo B (Hemiptera: Aleyrodidae) em cultivo protegido no Brasil. **Bol. San. Veg. Plagas**, v. 37, p. 27-30, 2011.

BARBOSA FILHO, M. P.; SILVA, O.F. da. Adubação e calagem para o feijoeiro em solo de cerrado. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 35, n. 7, p. 1317-1324, 2000.

BARBOSA, F. R.; SIQUEIRA, K. M. M.; SOUZA, E. A.; MOREIRA, W. A.; HAJI, F. N. P.; ALENCAR, J. A. Efeito do controle químico da mosca-branca na incidência do vírus-do-mosaico-dourado e na produtividade do feijoeiro. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 37, p. 879-883, 2002. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/s0100-204x2002000600018>. Acesso em: 1 de mar. 2020.

BARBOSA, L. F. et al. First report of *Bemisia tabaci* Mediterranean (Q biotype) species in Brazil. **Pest Management Science**, v. 71, p. 501-504, 2015.

BASU, A. N. *Bemisia tabaci* (Gennadius) crop pest and principal whitefly vector of plant viruses. **Westview Press**, San Francisco, p. 117-142, 1995.

BEDENDO, I. P. Viroses. In: BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIM, L. (Eds). **Manual de Fitopatologia. Princípios e Conceitos**. 3ª ed. São Paulo: Editora Agronômica Ceres, v.1, p. 899- 906, 1995.

BOINA, D. R.; ONAGBOLA, E. O.; SALYANI, M.; STELINSKI, L. L. Antifeedant and sublethal effects of imidacloprid on Asian citrus psyllid, *Diaphorina citri*. **Pest Management Science**, v. 65, n. 8, p. 870–877, 2009.

BROWN, J. K.; BIRD, J. Whitefly-transmitted geminiviruses and associated disorders in Americas and the Caribbean Basin. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 76, p. 220-225, 1992.

- BUCKNER, J. S.; FREEMAN, T. P.; RUUD, R. L.; CHU, C. C.; HENNEBERRY, T.J. Characterization and functions of the whitefly egg pedicel. **Archives of Insect Biochemistry and Physiology**, New York, v. 49, p. 22-33, 2002.
- BUENO, A. F.; SALES, J. F.; BUENO, R. C. O. F.; COSTA, R. G. DA; VIEIRA, S.S. Efeito do tratamento de sementes com inseticidas no controle de pragas iniciais e na qualidade fisiológica das sementes em girassol. **Arq. Inst. Biol.**, São Paulo, v. 77, n. 1, p. 49-56, jan./mar., 2010.
- CASTELO BRANCO, M.; PONTES, L. A. Eficiência de tiacloprid para o controle de mosca-branca. **Horticultura Brasileira**, v. 19, p. 97-101, 2001.
- CASTLE, S.; PALUMBO, J.; MERTEN, P.; COWDEN, C.; PRABHABER, N. Effects of foliar and systemic insecticides on whitefly transmission and incidence of *Curcubit yellow stunting disorder virus*. **Pest Management Sciences**, v. 73, n. 7, p. 1462-1472, 2017.
- CAVALCANTE, A. C. C.; BORGES, L. R.; LOURENÇÃO, A. L.; MORAES, G. J. Potencial of two populations of *Amblyseius swirskii* (Acari: Phytoseiidae) for the control of *Bemisia tabaci* biotype (Hemiptera: Aleyrodidae) in Brazil. **Exp. Appl. Acarol.**, v. 67, p. 523-533, 2015.
- CHEN, X. D.; SEO, M.; STELINSKI, L. L. Behavioral and hormetic effects of the butenolide insecticide, flupyradifurone, on Asian citrus psyllid, *Diaphorina citri*. **Crop Protection**, v. 98, p. 102–107, 2017. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.cropro.2017.03.017>. Acesso em: 24 de jan. de 2020.
- CONAB. Acompanhamento Da Safra Brasileira De Grãos. **Companhia Nacional de Abastecimento**, v. 7, n. 3, p. 44, 2019.
- COSTA, A. S. Three whitefly-transmitted virus diseases of beans in São Paulo, Brazil. **Plant Protection Bulletin**, v. 13, p. 121-130, 1965.
- COSTA, J. M. da; BARBOSA, E. H. O.; KLUTCHOWSKI, M. L. Pragas do feijoeira na Bahia e meios de combate. Salvador: Empresa de Pesquisa Agropecuária da Bahia, EPABA. **Circular Técnica 13**, p. 80, 1986.

CZEPAK C. Reação em cadeia. **Revista Cultivar**. Cultivar HF, p. 22-25, Abr./Mai., 2010.

DE BARRO, P. J. *Bemisia tabaci* biotype B: a review of its biology, distribution and control. **CSIRO**, Canberra, Austrália, p. 36-58, 1995.

De BARRO, P. J.; LIU, S. S.; BOYKIN, L. M.; DINSDALE, A. B. *Bemisia tabaci*: a statement of species status. **Ann Rev Entomol**, v. 56, p.1–19, 2011.

DING, J.; LI, H.; ZHANG, Z.; LIN, J.; LIU, F.; MU, W. Thiametoxan, Clothianidin, and Imidacloprid Seed Treatments Effectively Control Thrips on Corn Under Field Conditions. **Journal of insect science (Online)**, v. 18, n.6, p. 0-7, 2018.

DOMINGUEZ PEÑATE, J. E.; IRAHETA VILLATORO, R.; SERMEÑO CHICAS, J. M. 1991. **Reconocimiento y multiplicación de parasitoides de *Bemisia tabaci* em *Phaseolus vulgaris* y *Lycopersicon esculentum* en el Salvador**. Tese (Ing. Agr. Universidade de El Salvador, Faculdade de Ciências Agronômicas, Departamento de Proteção Vegetal). San Salvador, p. 6- 8, 1991.

DRINKWATER, T. W. Comparison of imidacloprid with carbamate insecticides, and the role of planting depth in the control of false wireworms *Somaticus* species in maize. **Crop Prot**, v. 13, p. 341–345, 1994.

EICHELKRAUT, K.; CARDONA, C. Biología, cría masal y aspectos ecológicos de la mosca blanca *Bemisia tabaci* (Gennadius) (Homoptera: Aleyrodidae), como plaga del frijol comum. **Turrialba**, San Jose, v. 39, p. 51-55, 1989.

ELBERT, A.; OVERBECK, H.; IWAYA, K.; TSUBOI, S. Imidacloprid: a novel systemic nitromethylene analogue insecticide for crop protection. In: BRIGHTON CROP PROTECTION CONFERENCE, 1990, Thornton Heath. **Proceedings...** Thornton Heath: British Crop Protection Council, p. 21-28, 1990.

ELBERT, A.; BECKER, B.; HARWTIG, J.; ERDELEN, C. Imidacloprid – a new systemic insecticide. **Pflanzenschutz Nachr. Bayer** (Ger. Ed.) v. 44, p. 113-136, 1991.

EL-HAMADY, S. E.; KUBIAK, R.; DERBALAH, A. S. Fate of imidacloprid in soil and plant after application to cotton seeds. **Chemosphere**, v. 71, p. 2173-2179, 2008.

- FARIA, J.C.; ZIMMERMANN, M.J.O. Controle do mosaico dourado do feijoeiro pela resistência varietal e inseticidas. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 13, n. 1, p. 32-35, 1988.
- FARIA, J. C.; ANJOS, J. R. N.; COSTA, A. F.; SPERÂNCIO, C. A.; COSTA, E C. L. Doenças causadas por vírus e seu controle. In: Araujo, R. S., C. A., Rava, L. F. Stone e M. J. O. Zimmermann. (Eds.). **Cultura do Feijoeiro Comum no Brasil**. Piracicaba: Potafos, p. 731, 1996.
- FARIA, J.C.; YOKOYAMA, M. Integração da avaliação de danos causados pelo mosaico dourado do feijoeiro: o papel de culturas hospedeiras do vetor do vírus e manejo da praga e doença. Santo Antônio de Goiás: Embrapa, **Documentos**, 230, p. 20-21, 2008.
- FARIA, J. C.; CARNEIRO, G. E. S; ARAGÃO, F. J. L. Gene flow from transgenic common beans expressing the bar gene. **GM Crops**, v. 1, n. 2, p. 94-98, 2010.
- FERERES, A.; MORENO, A. Behavioural aspects influencing plant virus transmission by homopteran insects. **Virus Research**, v. 141, p. 158–168, 2009.
- FERERES, A.; PEÑAFLO, M. F. G.; FAVARO C. F.; AZEVEDO, K. E. X.; LANDI, C. H.; MALUTA, N. K. P; BENTO, J. M. S.; LOPES, J. R. S. Tomato infection by whitefly-transmitted circulative and non-circulative viruses induce contrasting changes in plant volatiles and vector behaviour. **Viruses**, v. 8, n. 8, p. 225, 2016.
- FIALLOS, F. R.G. DOENÇAS CAUSADAS POR VÍRUS NA CULTURA DE FEIJOEIRO (*Phaseolus vulgaris* L.). **Ciencia y Tecnología**, v. 3, n. 2, p. 1-6, 2010.
- FURLAN, S. H. Doenças Bióticas e Abióticas do Feijoeiro. Guia de Identificação e Controle de Doenças do Feijoeiro. **APTO-Instituto Biológico**, 2004.
- GALLO, D.; NAKANO, O.; SILVEIRA NETO, S.; CARVALHO, R. P. L.; BATISTA, G. C. de; BERTI FILHO, E.; PARRA, J. R. P.; ZUCCHI, R. A.; ALVES, S. B.; VENDRAMIN, J. D.; MARCHINI, L. C.; LOPES, J. R. S.; OMOTO, C. **Entomologia agrícola**. Piracicaba: FEALQ, p. 920, 2002.

- GALVEZ, G. E.; F. J. MORALES. Virus transmitidos por la mosca blanca, p. 435-464, 1994. Citado por OSORNO, J. M.; MUÑOZ, C. G.; BEAVER, J. S.; FERWERDA, F.; BASSET, M. J.; MIKLAS, P. N.; OLCZYK, T.; BUSSEY, B. Two genes from *Phaseolus coccineus* L. confer resistance to bean golden yellow mosaic virus. **American Society for Horticultural Science**, v. 132, n. 4, p. 530-533, 2007.
- GAMEZ, R. Las enfermedades virales como factores limitantes em la produccion de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) en America Latina. **Fitopatologia**, v. 12, p. 24-26, 1977.
- GASPARIN, M. D. G., A. BIANCHINI, E. R. SOUTO, J. O. GASPAR, A. M. R. ALMEIDA E E. W. KITAJIMA. Detecção do southern bean mosaic virus no Paraná e separação do *Bean rugose mosaic vírus* em feijoeiro. **Fitopatologia Brasileira**, 30:75-78, 2005.
- HANNING, G. T.; ZEIGLER, M.; MARÇON, P. G. Feeding cessation effects of chlorantraniliprole, a new anthranilic diamide insecticide, in comparison with several inseticides in distinct chemical classes and mode-of-action groups. **Pest management**, v. 65, n. 9, p. 969-967, 2009.
- HILJE, L. Metodologias para el estudio y manejo de moscas blancas y geminivirus. Turrialba:CATIE. Unidad de Fitoprotección, **Serie Materiales de Enseñanza**, 37, p. 150, 1996.
- HOROWITZ, A.R.; ISHAAYA, I. Chemical control of *Bemisia* - management and application, p. 537-556. In: GERLING, D.; RICHARD, T. M. (Eds.) *Bemisia*: Taxonomy, biology, damage, control and management. **Intercept**, p. 348, 1995.
- HULL R. Plant Virology. **Academic Press**, London, UK, 5th edn, 2014.
- ICTV (Int. Comm. Taxon. Viruses) (2018). Virus Taxonomy: 2018b Release. Master Species List 34 (MSL#34), Exec. Comm. 50 (EC 50), Washington, DC, July 2018, email ratif. 2019 (MSL#34). Disponível em: https://talk.ictvonline.org/ictv-reports/ictv_online_report/ssdna-viruses/w/geminiviridae/392/genus-begomovirus. Acesso em: 30 de jan. 2020.

- INBAR, M.; GERLING, D. Plant-mediated interactions between whiteflies, herbivores, and natural enemies. **Annual Review of Entomology**, v. 53, p. 431-448, 2008.
- INOUE-NAGATA, A. K.; LIMA, M. F.; GILBERTSON, R. L. A review of geminivirus (*begomovirus*) diseases in vegetables and other crops in Brazil: current status and approaches for management. **Horticultura Brasileira**, v. 34, p. 008-018, 2016.
- ISHAAYA, I.; HOROWITZ, A.R. Novel phenoxy juvenile hormone analog (pyriproxyfen) suppresses embryogenesis and adult emergence of sweetpotato whitefly. **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v. 85, n. 6, p. 2113-2117, 1992.
- KANAKALA, S.; GHANIN, M. Advances in the Genomics of the Whitefly *Bemisia tabaci*: An Insect Pest and Virus Vector. **Short Views on Insect Genomics and Proteomics**, v. 3, p. 19-40, 2015.
- KANAKALA, S.; GHANIM, M. Global genetic diversity and geographical distribution of *Bemisia tabaci* and its bacterial endosymbionts. **Plos One**, n.14, v.3, p.1-21, 2019.
- KODANDARAM, M. H.; KUMAR, Y. B.; BANERJEE, K.; HINGMIRE, S.; RAI, A. B.; SINGH, B. Field bioefficacy, phytotoxicity and residue dynamics of the insecticide flonicamid (50 WG) in okra [*Abelmoschus esculenta* (L) Moench]. **Crop Prot.**, v. 94, p. 13-9, 2017.
- LACERDA, J. T.; CARVALHO, R. A. Descrição e manejo integrado da mosca-branca (*Bemisia* spp.) transmissora de geminivirus em culturas econômicas. **Tecnologia & Ciência Agropecuária**, v. 2 p. 15-22, 2008.
- LASTRA, R. Las geminivirus: um grupo de fitovirus com características especiales. In: HILJE, L. ARBOLEDA, O. Las moscas blancas (Homoptera: Aleyrodidae) em America Central y Caribe. Turriabla: CATIE, **Informe técnico**, 205, p. 26-29, 1993.
- LEE, W.; PARK J.; LEE, G-S.; LEE, S.; AKIMOTO, S-i. Taxonomic Status of the *Bemisia tabaci* Complex (Hemiptera: Aleyrodidae) and Reassessment of the Number of Its Constituent Species. **PLoS One**, v. 8, n. 8:e63817, 2013.

- LIMA, A.C.S.; LARA, F.M.; DOS SANTOS, E.J.M. Morfologia da mosca-branca, *Bemisia tabaci* biótipo "B" (Hemiptera: Aleyrodidae), encontrada em Jaboticabal, SP, com base em elétron-micrografias de varredura. **Boletim de Sanidad Vegetal. Plagas**, Madri, v. 27, p. 315-322, 2001.
- LIU, T. X.; CHEN, T. Y. Effects of a juvenile hormone analog pyriproxyfen on apterous form of *Lipaphis erysimi* (Homoptera: Aphididae). **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v. 98, p. 295-301, 2001.
- LOURENÇÃO, A. L.; NAGAI, H. Surtos populacionais de *Bemisia tabaci* no Estado de São Paulo. **Bragantia**, v. 53, n. 1, p. 53-59, 1994.
- LOURENÇÃO, A. L.; YUKI, V. A.; ALVES, S. B. Epizootia de *Aschersonia* cf. *goldiana* em *Bemisia tabaci* (Homoptera: Aleyrodidae) Biótipo B no Estado de São Paulo. **An. Soc. Entomol.**, v. 28, n. 2, p. 343-345, 1999.
- LOURENÇÃO, A. L.; MIRANDA, M. A. C.; ALVES, S. B. Ocorrência Epizoótica de *Verticillium lecanii* em *Bemisia tabaci* Biótipo B (Hemiptera: Aleyrodidae) no Estado do Maranhão. **Neotropical Entomology**, v. 30, n. 2, p. 183-185, 2001.
- LOURENÇÃO, A. L.; COSTA, V. A.; PEREIRA, L. S.; PRADO, J.C. Occurrence of *Eretmocerus mundus* Mercet (Hymenoptera: Aphelinidae) parasitizing *Bemisia tabaci* (Genn.) biotype B (Hemiptera: Aleyrodidae) in Brazil. **Bragantia**, v.73, n.2, p. 160-162, 2014.
- LOURENÇÃO, L. A.; KRAUSE-SAKATE, R.; VALLE, G. E. Mosca-branca *Bemisia tabaci* (Gennadius) biótipo B. In: VILELA, E. F.; ZUCCHI, R. A. (Eds.). **Pragas introduzidas no Brasil: Insetos e Ácaros**, p. 682-707, 2015.
- MAGALHAES, L. C.; HUNT, T. E.; SIEGFRIED, B. D. Efficacy of Neonicotinoid Seed Treatments to reduce Soybean Aphid Populations Under Field and Controlled Conditions in Nebraska. **Journal of Economic Entomology**, v.102, n.1, p. 187-195, 2009.
- MARUBAYASHI, J. M.; YUKI, V. A.; ROCHA, K. C. G.; MITUTI, T.; PELEGRINOTTI, F. M.; FERREIRA, F. Z.; MOURA, M. F.; NAVAS-CASTILLO, J.; MORIONES, E.; PAVAN, M. A.; KRAUSE-SAKATE, R. At least two indigenous species of the

- Bemisia tabaci* complex are present in Brazil. **Journal of Applied Entomology**, v. 137, p. 113-121, 2013.
- MENTEN, J.O.M. Tratamento de sementes com inseticidas. In: SEMANA DE ATUALIZAÇÃO EM PATOLOGIA DE SEMENTES, 2. 1991. Piracicaba. **Anais...**Piracicaba: ESALQ/USP, p. 278-279, 1991.
- MODA-CIRINO, V. **Desafios ao controle de pragas na cultura do feijoeiro: desafios na região sul**. 2006. Artigo em Hypertexto. Disponível em: <http://www.infobibos.com/Artigos/2006_2/DesafiosSul/Index.htm>. Acesso em: 29 de mar. 2020.
- MORAES, L. A. et al. Populational dynamics of *Bemisia tabaci* mediterranean species (biotype Q) in Brazil and virus transmission. in: XXVII Congresso Brasileiro de Virologia, 2016, Pirenópolis (GO), **Resumo**. Pirenópolis, 2016.
- MORAL, R. A.; HINDE, J.; DEMÉTRIO, C. G. B. Half-Normal Plots and Overdispersed Models in R: The hnp Package. **Journal of Statistical Software**, v. 81, n. 10, p. 1-23, 2017. Disponível em: <http://doi.org/10.18637/jss.v081.i10>. Acesso em: 20 de jan. 2020.
- MORALES, F.J. Current situation of *Bean golden mosaic virus* in Latin America. P. 100-102, 1994. In: F. J. MORALES. **Bean Golden Mosaic Research Advances**. ed. CIAT, Cali, Colombia, 1994.
- MUNIYAPPA, V. VENTKATESH, H.M.; RAMAPPA, H.K.; KULKARNI, R.S.; ZEIDAN, M.; TARBA, C.Y; GHANIM, M. CZOSNEK, H. *Tomato leaf curl virus* from bangalore (ToLCV-Band4); sequence comparison with Indian isolates, detection in plants and insects, and vector relationships. **Archives of Virology**, v. 145, p. 1583-1598, 2000.
- NAUEN R.; RECKMANN, U.; THOMZIK, J.; THIELERTAND, W.; BAUR, P. Biological profile of spirotetramat (Movento®) - a new two-way systemic (ambimobile) insecticide against sucking pest species. **Bayer Crop Sci J**, v. 61, p. 245-278, 2008.
- NAULT, L.R. Arthropod transmission PF plant viruses: a new synthesis. **Annals of the Entomological Society of America**, v. 90, p. 521-541, 1997.

- NAULT, B. A.; TAYLOR, A. G.; URWIKLER, M.; RABAEY, T.; HUTCHISON, W. D. Neonicotinoid seed treatments for managing potato leafhopper infestations in snap bean. **Crop Prot.**, v. 23, p. 147-154, 2004.
- NAVAS-CASTILHO, J.; FIALLO-OLIVÉ E, AND SÁNCHEZ-CAMPOS S. Emerging virus diseases transmitted by whiteflies. **Annal Review of Phytopathology**, v. 49, p. 219-248, 2011.
- OETTING, R. D.; ANDERSON, A. L. Imidacloprid for control of whiteflies, *Trialeurodes vaporariorum* and *Bemisia tabaci*, on greenhousegrown poinsettias. **Brighton Crop Protection Conference, Pests and Diseases**, v. 1, p. 367-372, 1990.
- OHNESORG, W. J.; JOHNSON, K. D.; ÓNEAL, M. E. Impact of reduced-risk insecticides on soybean aphid and associated natural enemies. **J. Econ. Entomol.**, v. 102, p. 1816-1826, 2009.
- OLIVEIRA, M. R. V. de; AMANCIO, E.; LAUMANN, R. A.; GOMES, L. DE O. Natural Enemies of *Bemisia tabaci* (Gennadius) B Biotype and *Trialeuroles vaporariorum* (Westwood) (Hemiptera: Aleyrodidae) in Brasília, Brazil. **Neotropical Entomology**, v. 32, n. 1, p. 151-154, 2003.
- POLSTON, J.E.; AL-MUSA, A.; PERRING, T.M.; DODDS, J.A. Association of the nucleic acid of Squash leaf curl geminivirus with the whitefly *Bemisia tabaci*. **Phytopathology**, v.80, p. 850-856, 1990.
- POLSTON, J.E.; BARRO, P. de; BOYKIN, L.M. Transmission specificies of plants viruses with the newly identified species of the *Bemisia tabaci* species complex. **Pest Manag Sci.** v. 70, p. 1547-1552, 2014.
- QUINTELA, E. D. Manejo Integrado de Pragas do Feijoeiro. Goiânia, Dezembro, **Comunicado Técnico, 46**, p. 9, 2001.
- QUINTELA, E.D. Manual de indetificação de insetos e outros invertebrados pragas do feijoeiro. Santo Antônio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão, **Documentos**, 246, Novembro, p.20-31, 2009.

- QURESHI, M. S.; MIDMORE, D. J.; SYEDA, S. S.; REID, D. J. Pyriproxyfen controls silver leaf whitefly, *Bemisia tabaci* (Gennadius), biotype B (Homoptera: Aleyrodidae) (SLW) better than buprofezin in bitter melons *Momordica charantia* L. (Cucurbitaceae). **Australian Journal of Entomology**, v. 48, p. 60-4, 2009.
- R Core Team. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing. Vienna, Austria, 2019. URL: <https://www.R-project.org/>.
- ROCHA, J.A.M.; SARTORATO, A. Efeito da época de plantio na incidência do mosaico dourado do feijoeiro. Goiânia: Emgopa, **Comunicado Técnico**, 11, p. 21, 1980.
- RODRIGUES, F. de Á.; BORGES, A. C. F.; SANTOS, M. R. dos; FERNANDES, J. J.; FREITAS JÚNIOR, A. de. Flutuação populacional da mosca-branca e a incidência de mosaico dourado em feijoeiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira** v. 32, n. 10, p. 1023-1027, 1997.
- ROSELL, R.C.; TORREZ-JEREZ, I.; NROWN, J.K. Tracing the geminiviruses-whitefly transmission pathway by polymerase chain reaction in whitefly extracts, saliva, hemolymph and honeydew. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 89, p. 239-246, 1999.
- SALAS, J.; MENDONÇA, O. Biology of the sweetpotato whitefly (Homoptera: Aleyrodidae) on tomato. **Florida Entomologist**, Gainesville, v. 78, p. 154-160, 1995.
- SALGUERO, V. Perspectivas para el manejo del complejo mosca blanca-virosis. In: Taller del centroamericano y del caribe sobre moscas blancas, Turrialba, Costa Rica. 1992. Las moscas blancas (Homoptera: Aleyrodidae) en America Central y Caribe: Memória. Turrialba: CATIE, **Informe Técnico**, 205, p. 20-26, 1993.
- SANTOS, C. D. G.; ÁVILA, A. C. de; RESENDE, R. O. Estudo da interação de um begomovírus isolado de tomateiro com a mosca branca. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 28, n.6, 2003.
- SCARPELLINI, J. R.; RAMIRO, Z. A.; LARA, R. I. R.; SANTOS, J. C. C. Controle químico da mosca-branca *Bemisia tabaci* (Gennadius, 1889) biótipo B (Homoptera:

Aleyrodidae) na cultura do feijoeiro. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 69, p. 23-27, 2002.

SHARAF, N. Chemical control of *Bemisia tabaci*. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, Amsterdam. v. 17, p. 111-117. 1986.

SILVA, A. G. A.; GONÇALVES, C. R.; GALVÃO, D. M.; GONÇALVES, A. J. L.; GOMES, J.; SILVA, M. do N.; SIMONI, L. de. Quarto catálogo dos insetos que vivem nas plantas do Brasil - Seus parasitos e predadores. **Ministério da Agricultura**, Rio de Janeiro, 622 p. v. 1, p. 2. 1968.

SILVA, M.T.B. Inseticidas na proteção de sementes e plantas. **Seed News**, Pelotas, n. 5, p. 26-27, mai./jun. 1998.

SILVA, T. N. Z. **Efeito de inseticidas no controle das transmissões primárias e secundárias do *Tomato chlorosis virus* (ToCV) para tomateiro por *Bemisia tabaci* MEAM1**. Tese (Mestrado em Ciências.Área de concentração: Fitopatologia) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”. p. 33, Piracicaba, 2018.

SILVEIRA, C. H. **Eficácia de inseticidas no controle de *Dalbulus maidis* (DeLong & Wolcott) (Hemiptera: Cicadellidae) e da transmissão de espiroplasma do milho**. Tese (Mestrado em Ciências. Área de Concentração: Entomologia) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”. p. 51, Piracicaba, 2019.

SMITH, H. A.; GIURCANU, M. C. New insecticides for management to *Tomato yellow leaf curl*, a virus vectored by Silverleaf Whitefly, *Bemisia tabaci*. **Journal of Insect Science**, Oxford, v. 14, n.183, p. 1-4, 2014.

STANLEY, J. Geminiviridae. In: FAUQUET, C.M. et al. Virus Taxonomy. Eighth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses, London, **Elsevier/Academic Press**; p. 301-326, 2005.

TAY, W. T.; EVANS, G. A.; BOYKIN, L. M.; DE BARRO, P. J. Will the real *Bemisia tabaci* please stand up? **PLoS One**, v. 7, n. 11, e50550, 2012.

HOTHORN, T.; BRETZ, F.; WESTFALL, P. Simultaneous Inference in General Parametric Models. **Biometrical Journal**, v. 50, n. 3, p. 346-363, 2008.

- VALE, F. X. R.; FERNANDES FILHO, E. I.; LIBERATO, J. R. QUANT. A software plant disease severity assessment. **8th International Congress of Plant Pathology**, p. 105, 2003.
- Van LENTEREN, J. C.; NOLDUS, L. P. J. J. Whitefly plant relationships: behavioural and ecological aspects. In: GERLING, D. (Ed.). **Whiteflies**: their bionomics, pest status and management. Wimbone: Intercept, p. 47-89, 1990.
- VILLAS BÔAS, G. L.; FRANÇA, F. H.; DE ÁVILA, A. C.; BEZERRA, I.C. Manejo integrado da mosca-branca *Bemisia argentifolli* em diferentes plantas hospedeiras. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 20, p. 71-79, 1997.
- VILLAS BÔAS, G. L. Manejo Integrado de Mosca-Branca. **Comunicado Técnico, 30**. Brasília, Dezembro, 2005.
- ZUPPI, M.; MENTEN, J. O. M.; FERREIRA-LIMA, L. C. S.; RABALHO, A. A.; FRARE, V. C. Produtos fitossanitários utilizados no feijoeiro no Brasil: Evolução e situação atual. **Anais do VIII Congresso Nacional de Pesquisa de Feijão**, Goiânia, p. 1260 – 1268, 2005.