

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

Modelagem de interações inseto simbiote: efeito do controle químico na  
distribuição de simbiotes

**Lucas Santos Canuto**

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

Piracicaba  
2024

Lucas Santos Canuto  
Biólogo e Gestor Ambiental

**Modelagem de interações inseto simbiote: efeito do controle químico na distribuição de simbioses**

versão revisada de acordo com a Resolução CoPGr 6018 de 2011

Orientador:  
Prof. Dr. **WESLEY AUGUSTO CONDE GODOY**

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

Piracicaba  
2024

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

Canuto, Lucas Santos

Modelagem de interações inseto simbiote: efeito do controle químico na distribuição de simbiontes / Lucas Santos Canuto. - - versão revisada de acordo com a Resolução CoPGr 6018 de 2011. - - Piracicaba, 2024.

66 p.

Dissertação (Mestrado) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", 2023.

1. Modelagem computacional 2. Simbiose 3. Microbiota 4. Pesticidas I.  
Título

## DEDICATÓRIA

Aos meus pais, Kelly e Marcio, e todos os amigos e familiares pelo amor, apoio, incentivo, paciência e compreensão durante meus estudos.

Dedico

## AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador, Prof. Dr. Wesley Augusto Conde Godoy, pelas oportunidades, orientação, amizade, conversas e por todo o conhecimento compartilhado, que contribuíram muito para meu crescimento profissional.

Ao Dr. Adriano Garcia, pela oportunidade e convite de iniciar o projeto na área de modelagem computacional, além dos ensinamentos e paciência durante os estágios iniciais da pesquisa.

Ao Prof. Dr. Fernando Luís Cònsoli, pela essencial ajuda no compartilhamento de conhecimento e pesquisas relacionadas a interação inseto-simbionte com *Spodoptera frugiperda*.

Ao Prof. Dr. Rafael de Andrade Moral, juntamente ao doutorando Gabriel Rodrigues Palma, do departamento de matemática e estatística da Universidade de Maynooth – Irlanda. Pela oportunidade de um estágio no exterior, apoio, conhecimento e auxílio nas análises estatísticas realizadas nesta pesquisa.

A todos os professores do Programa de Pós-Graduação em Entomologia da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”.

Aos amigos do Laboratório de Ecologia e Entomologia Florestal, Anna Mara Maciel, Isabela Bueno, João Ferraz de Toledo, Lucas Vieira, Maysa Araújo, Rayana Carvalho, pela companhia, motivação e apoio.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), vinculada ao Ministério da Educação, pela concessão da bolsa de estudos (PROEX- 88887.670697/2022-00)

## SUMÁRIO

RESUMO .....	7
ABSTRACT .....	8
LISTA DE FIGURAS .....	9
LISTA DE TABELAS .....	10
1. INTRODUÇÃO.....	11
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	15
2.1 Simbiose e holobiontes.....	15
2.2 Transmissão.....	16
2.3 Os custos.....	17
2.4 Os benefícios .....	18
2.5 Simbiontes e resistência .....	19
2.6 Estudo de caso: <i>Spodoptera frugiperda</i> .....	20
2.7 Modelos e interações inseto-simbionte .....	22
3. METODOLOGIA.....	25
3.1 Modelagem.....	25
3.2 Parâmetros: estudo de caso.....	28
3.3 Simulações.....	30
3.4 Análises estatísticas .....	32
3.4.1 Análise de proporções: simulações 1 e 2.....	33
3.4.2 Análise do indicador de inseticidas .....	35
3.4.3 Análise de intervalo de aplicação .....	37
4. RESULTADOS .....	39
4.1 Séries temporais.....	39
4.2 Análise de proporções .....	42
4.3 Análise de marcador de inseticidas .....	43
4.4 Análise do intervalo de aplicação .....	46
5. DISCUSSÃO.....	49
5.1 Dinâmica de <i>Leclercia adecarboxylata</i> .....	49
5.2 Dinâmica de <i>Pseudomonas psychrotolerans</i> .....	51
5.3 Controle químico .....	52
5.4 Funcionalidade do modelo.....	53

6. CONCLUSÕES .....	55
REFERÊNCIAS.....	57
APÊNDICES.....	65

## RESUMO

### **Modelagem de interações inseto simbiote: efeito do controle químico na distribuição de simbioses**

As relações inseto-simbiote têm ganhado cada vez mais atenção na literatura, uma vez que sua natureza interativa pode trazer resultados relevantes para a área agrícola, devido aos benefícios oriundos dessa relação. A presença de simbioses em organismos pode interferir em aspectos comportamentais, fisiológicos, biológicos e ecológicos. Em particular, a resistência ou proteção de insetos vivenciando pressões seletivas em cenários envolvendo o uso de inseticidas ou parasitoides. Em especial, a proteção conferida contra compostos químicos devido a processos de desintoxicação trás cenários com presença de custos e benefícios para estes insetos hospedeiros. Nesse estudo propõe-se um modelo computacional baseado em indivíduos com o uso de simulações de Monte Carlo, para testar a hipótese de que a pressão seletiva causada pelo uso de inseticidas ajuda a selecionar os simbioses que auxiliam na degradação de compostos químicos na população de insetos. O estudo foi desenvolvido com parâmetros de *Spodoptera frugiperda* sendo o inseto hospedeiro, e seus simbioses *Leclercia adecarboxylata* e *Pseudomonas psychrotolerans*, que auxiliam na degradação de Chlorpyrifos ethyl e Spinosad respectivamente. Através das simulações foi possível observar que o Simbiote *L. adecarboxylata* apresentou um comportamento esperado em um cenário de médio custo e alto benefício, apresentando altas proporções nas populações de hospedeiros em cenários que apresentavam Chlorpyrifos ethyl. Por outro lado, *P. psychrotolerans* não apresentou crescimento significativo em nenhuma simulação testada, devido ao seu alto custo constitutivo. Outro resultado interessante, é que a presença de mais simbioses não alterou o tempo de ação necessário para controle dos insetos com o inseticida Chlorpyrifos ethyl, de acordo com os testes estatísticos realizados. Com isso, foi possível concluir que o modelo, apesar de apresentar pontos que podem ser melhorados e explorados mais detalhadamente, permitiu responder as questões levantadas pela pesquisa, e a capacidade de apresentar as mudanças nas proporções de simbioses ao longo do tempo.

Palavras-chave: Modelagem computacional, Simbiose, Ecologia, Controle químico



## ABSTRACT

**Modeling insect-symbiont interactions: the effect of chemical control in symbiont distribution**

Insect-symbiont interactions have been getting a lot of attention in literature because of their interactive nature, mostly, those interactions have a positive result for both parties. These interactions can lead to interesting case studies in agriculture, because of the benefits from the symbiosis. Harboring some symbionts can lead to different changes in the host, in their behavior, physiology, biology and ecology. In particular, the resistance or protection of the host insect under different scenarios of selective pressures from insecticides and parasitoids, can lead to a perspective where an individual is not just another member of the species. In that case, the organism is seen as a holobiont being, that integrate their own microbiome community as part of the individual. In this research, we propose a computational individual-based model, with Monte Carlo simulations, to test the hypothesis that the selective pressure caused by the presence of insecticides helps selecting and increasing the number of hosts for symbionts that have detoxification qualities related to that insecticide. The computational model developed allowed the use of parameters present in literature, testing out the hypothesis described using a case study on *Spodoptera frugiperda*, that has the symbionts *Leclercia adecarboxylata* and *Pseudomonas psychrotolerans*, each one capable of degrading the compounds Chlorpyrifos ethyl and Spinosad respectively. Using the simulations made with the model, it was found that the symbiont *L. adecarboxylata* had the expected dynamic according to the scenarios presented, where there was growth of this symbiont's host in the population when they bring some benefits, and a lower or stable presence in cases where there wasn't much benefit, on the other hand, *P. psychrotolerans* didn't have significative growth in any of the simulations made, probably because of its high constitutive cost on the host. Another interesting result was that the presence of more symbiont hosts in the insect populations didn't change the time for Chlorpyrifos ethyl to control the population, according to the statistics tests made. It's possible to say that the model developed, while with flaws, a lot of room to improvement and interesting questions yet to be explored, was able to help answering the main questions raised in this research.

Keywords: Computational modeling, Symbiosis, Ecology, Chemical control

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1. Representação visual das principais etapas do modelo computacional: Distribuição inicial das três subpopulações (hospedeiros dos simbios e apossimbiontes), processo de crescimento e desenvolvimento dos insetos imaturos, reprodução dos indivíduos adultos, assim como transmissão vertical dos simbios, teste de mortalidade natural diária a todos os indivíduos, aplicação dos inseticidas de acordo com a simulação realizada e o tempo atual do modelo. .... 26
- Figura 2. Variáveis resposta para análise de proporções,  $\pi_1$ ,  $\pi_2$  e  $\pi_3$  representam respectivamente, as proporções de indivíduos hospedeiros de *L. adecarboxylata*, *P. psychrotolerans* e apossimbiontes na população total de insetos (*S. frugiperda*). Pontos de observação determinados pelas setas vermelhas. Simb1 = Hospedeiros de *L. adecarboxylata*; Simb2 = Hospedeiros de *P. psychrotolerans*; *S. frugiperda* = População de insetos contendo hospedeiros e apossimbiontes..... 34
- Figura 3. Representação do fator de aplicação de inseticidas. Ausência de aplicação foi marcada como “0” e a presença como “1” ao longo da série temporal. Simb1 = Hospedeiros de *L. adecarboxylata*; Simb2 = Hospedeiros de *P. psychrotolerans*; *S. frugiperda* = População de insetos contendo hospedeiros e apossimbiontes ..... 36
- Figura 4. Representação das variáveis resposta (Y) e proporções dos simbios como uma das variáveis explanatórias (X) que serão fatores nas séries temporais para a análise de intervalo de aplicação. Simb1 = Hospedeiros de *L. adecarboxylata*; Simb2 = Hospedeiros de *P. psychrotolerans*; *S. frugiperda* = População de insetos contendo hospedeiros e apossimbiontes ..... 38
- Figura 5. Serie Temporal Simulação Controle, média de indivíduos com variação entre simulações representadas por envelope ao longo do tempo. Simb1 = Hospedeiros de *L. adecarboxylata*; Simb2 = Hospedeiros de *P. psychrotolerans*; *S. frugiperda* = População de insetos contendo hospedeiros e apossimbiontes..... 39
- Figura 6. Séries Temporais Simulações tipo 2. Média de indivíduos com variação entre simulações representadas por envelope ao longo do tempo, aplicação com base no nível de controle, com diferentes concentrações. CE = chlorpyrifos ethyl; Spin = Spinosad; Simb1 = Hospedeiros de *L. adecarboxylata*; Simb2 = Hospedeiros de *P. psychrotolerans*; *S. frugiperda* = População de insetos contendo hospedeiros e apossimbiontes..... 40
- Figura 7. Séries Temporais Simulações Tipo 1. Média de indivíduos com variação entre simulações representadas por envelope ao longo do tempo, aplicações com intervalos definidos. CE = chlorpyrifos ethyl; Spin = Spinosad; Simb1 = Hospedeiros de *L. adecarboxylata*; Simb2 = Hospedeiros de *P. psychrotolerans*; *S. frugiperda* = População de insetos contendo hospedeiros e apossimbiontes. .... 41
- Figura 8. Série Temporal Simulações tipo 3. Média de indivíduos com variação entre simulações representadas por envelope ao longo do tempo, com presença constante de chlorpyrifos ethyl em baixa concentração. Simb1 = Hospedeiros de *L. adecarboxylata*; Simb2 = Hospedeiros de *P. psychrotolerans*; *S. frugiperda* = População de insetos contendo hospedeiros e apossimbiontes. .... 42
- Figura 9. Representação gráfica do modelo estatístico contendo o indicador de presença de inseticida como fator. Predito = proporções de *L. adecarboxylata* preditas pelo modelo. Simbionte 1= proporções de *L. adecarboxylata* coletadas através das simulações. CE = chlorpyrifos ethyl; Spin = Spinosad ..... 44
- Figura 10. Representação gráfica do modelo estatístico contendo o indicador de presença de inseticida como fator. Predito = proporções de *P. psychrotolerans* preditas pelo modelo. Simbionte 2= proporções de *P. psychrotolerans* coletadas através das simulações. CE = chlorpyrifos ethyl; Spin = Spinosad ..... 45
- Figura 11. Representação gráfica do modelo estatístico contendo o indicador de presença de inseticida como fator. Predito = proporções de Apossimbiontes preditas pelo modelo. Apossimbionte= proporções de apossimbiontes coletadas através das simulações. CE = chlorpyrifos ethyl; Spin = Spinosad..... 46

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Descrição dos principais parâmetros e utilizados no modelo computacional .....	28
Tabela 2: Descrição dos parâmetros (primeira coluna) e valores influenciados pela presença de diferentes simbiontes, utilizados nas simulações do modelo computacional .....	30
Tabela 3: Mortalidade de <i>S. frugiperda</i> com diferentes simbionte e em diferentes concentrações de chlorpyrifos ethyl .....	30
Tabela 4: Relação de mortalidade de <i>S. frugiperda</i> com diferentes simbionte e em diferentes concentrações de Spinosad .....	30
Tabela 5: Descrição dos parâmetros (primeira coluna) e valores influenciados pela presença de diferentes simbiontes, utilizados nas simulações tipo 3 .....	32
Tabela 6: Comparação par a par dos diferentes intervalos de aplicação de acordo com o inseticida utilizado, todos os pares apresentaram diferença significativa de acordo com teste-chi, com valor de $p < 0.05$ . .....	65
Tabela 7: Comparação par a par dos diferentes inseticidas para cada tipo de aplicação, todos os pares apresentaram diferença significativa de acordo com teste-chi, com valor de $p < 0.05$ .....	65
Tabela 8: Comparação par a par das diferentes concentrações de acordo com o inseticida utilizado, todos os pares apresentaram diferença significativa de acordo com teste-chi, com valor de $p < 0.05$ .....	65
Tabela 9: Comparação par a par dos diferentes inseticidas para concentração utilizada, todos os pares apresentaram diferença significativa de acordo com teste-chi, com valor de $p < 0.05$ .....	65
Tabela 10: Comparação par a par das concentrações para análise do intervalo de aplicação. ....	66
Tabela 11: Comparação par a par dos inseticidas para análise do intervalo de aplicação. ....	66

## 1. INTRODUÇÃO

O trato digestivo é um ambiente de importância para o contexto fisiológico e ecológico em insetos, uma vez que é onde se encontram diversas bactérias endossimbiontes, muitas relacionadas a produção de enzimas de digestão, fornecimento e fixação de nutrientes e aminoácidos essenciais, ações que trazem benefícios a seus hospedeiros (DILLON E DILLON, 2004; WARNECKE et al., 2007).

Porém, as funções destes simbiossiontes não estão limitadas aos aspectos de alimentação dos insetos. Diversas outras formas de atuação simbiótica, incluindo interação e benefícios foram descritas. Dentre elas destacam-se o aumento da resposta imunológica dos hospedeiros a certos tipos de infecções causadas por fungos entomopatogênicos (SCARBOROUGH et al. 2005; BROWNLIE & JOHNSON, 2009), ações advindas de parasitoides (OLIVER et al., 2003; VORBURGER et al. 2009) e até mesmo mudanças de comportamentos na relação inseto-planta (SOCHARD *et al.*, 2021; FRAGO *et al.*, 2012).

Outra função dessas bactérias é a capacidade de auxiliar na degradação de inseticidas e outros compostos químicos utilizados para o controle de pragas (ALMEIDA, 2013). Em alguns casos, a evolução da resistência aos compostos químicos, pode estar associada à ação conjunta de simbiossiontes e hospedeiros, levando a um processo co-evolutivo, que pode comprometer substancialmente estratégias de controle de pragas. (DALE E MORAN, 2006; GOMES, OMOTO E CÔNSOLI, 2020; SIDDIQUI et al. 2022). Essas interações trazem implicações importantes para a agricultura e controle de pragas, uma vez que podem influenciar negativamente o sucesso no controle de pragas, como é o caso do observado em afídeos protegidos pela bactéria *Hamiltonella defensa* (PREEDY *et al.*, 2020).

Bactérias do gênero *Burkholderia* são exemplos de interação relevantes para o contexto agrícola, pela ação simbiótica em diversos grupos de insetos, tais como os percevejos *Riptortus pedestris* e *Cavelerius saccharivorus*. Essas espécies de insetos são ilustrações importantes no tocante ao desenvolvimento de resistência, por ajudar nos processos de degradação de compostos tóxicos presentes em inseticidas como Fenitrotina, Diazinon EPN e Isoxatina (KIKUCHI et al., 2012; BLANTON & PETERSON, 2020; KALTENPOTH & FLÓREZ, 2020).

Dentre as espécies de insetos de importância agrícola, *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) apresenta relação importante com a sua microbiota. A

espécie possui uma grande diversidade de bactérias intestinais capazes de degradar certos compostos, como apresentado por Almeida *et al.* (2017), e posteriormente explorado por pesquisas como as de Chang *et al.* (2023) e Castañeda-Molina *et al.* (2023).

Além da presença de simbioses que auxiliam na proteção contra certos compostos químicos, a espécie *S. frugiperda* é uma das pragas mais relevantes em plantações de milho e arroz, não se limitando a essas culturas, por tratar-se de uma espécie cosmopolita (MONTEZANO *et al.*, 2018). *Spodoptera frugiperda* destaca-se por exibir características biológicas capazes de favorecer altas taxas reprodutivas e de migração, características que a tornam uma espécie de difícil controle (RIOS *et al.*, 2014; TENDENG *et al.*, 2019). Além de sua importância devido as características acima indicadas, *S. frugiperda* não é uma exceção para exposições a diferentes fontes de seleção, com implicações relevantes para o desenvolvimento de resistência ou tolerância a compostos químicos (YU & ING, 1984; OKUMA *et al.*, 2018).

Os simbioses têm sido investigados sob a perspectiva de mediação de interações (Lv *et al.* 2023), com estudos demonstrando estratégias de resistência baseadas na presença de microrganismos auxiliares. Por outro lado, *S. frugiperda* apresenta uma grande diversidade de microrganismos intestinais que podem auxiliar na degradação de compostos químicos, diversidade que varia de acordo com as pressões seletivas causadas pelos diferentes compostos utilizados no ambiente (GOMES; OMOTO; CÔNSOLI, 2020).

A natureza desses sistemas envolve interações complexas, trazendo desafios importantes para a análise de questões sob uma perspectiva ecológica. Contudo, apesar dos avanços nos estudos nessas relações, principalmente nos aspectos fisiológicos e funcionalidade das bactérias como apresentado acima, ainda há uma carência de dados específicos devido à dificuldade de coletas e experimentações em diferentes escalas ecológicas, o que aumenta a demanda para utilização de ferramentas analíticas disponíveis em modelagem ecológica (FERREIRA & GODOY, 2014).

Estudos como o de Kwiatkowski e Vorburger (2012) apresentam modelos matemáticos para melhor entender as relações entre hospedeiro e simbioses, considerando seus custos e benefícios, e como estas interações afetam a dinâmica populacional. Pesquisas como as realizadas por Enders e Hefley (2023) expandem a abordagem nessas interações, com modelos mais complexos, tentando entender interações não só inseto-simbionte, mas também inseto-planta.

A hipótese central desse estudo é que a aplicação de inseticidas funciona como forma de seleção para insetos hospedeiros de simbioses, que auxiliam no processo de degradação e aumentam a chance de sobrevivência do inseto. A partir desta hipótese central, é possível derivar outra hipótese, a de que o aumento da presença de simbioses na população interfere na funcionalidade do inseticida. Estas hipóteses foram testadas através do uso de um modelo computacional, proposto para analisar a dinâmica populacional em insetos hospedeiros.

Desta forma, o objetivo geral desta pesquisa foi investigar o custo-benefício gerado por simbioses na população de *S. frugiperda*, sob diferentes condições de controle químico, utilizando os parâmetros levantados por Almeida (2018) para as simulações, através de um modelo computacional que descreve as principais dinâmicas da interação inseto-simbionte.

Para isso as principais etapas foram: (1) propor um modelo teórico capaz de comportar as principais características da interação inseto-simbionte; (2) ampliar o modelo para comportar características mais detalhadas como reprodução, transmissão do simbiote, relação de custos e benefícios aos indivíduos hospedeiros; e, (3) utilizar o modelo com parâmetros retirados de um estudo de caso, mais especificamente um modelo observando a dinâmica populacional de *S. frugiperda*, utilizando parâmetros retirados do estudo desenvolvido por Almeida (2018).



## 2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 Simbiose e holobiontes

Simbiose é relação interespecífica importante para a estrutura e funcionamento de um ecossistema. Tem sido de ser utilizada como sinônimo de mutualismo em alguns casos, pois pode apresentar cenários em que há benefícios para ambas as espécies em questão. Existem outros casos em que o benefício é exclusivo de uma das partes, sendo mais próximo do parasitismo. Desta forma, a melhor definição seria que simbiose trata-se de sistemas em que os organismos convivem e apresentam por vezes fortes interações. Essa relação pode posicionar diferentemente os simbioses em seus hospedeiros, caracterizando simbioses externos como ectossimbionte, e simbioses internos como endossimbiontes, que vivem dentro do hospedeiro, em suas células, tecidos etc. (BOUCHER et al., 1982; CLARK; KARLEY & HUBBARD, 2010).

Em insetos esta relação é muito comum e de extrema importância para várias espécies. O cultivo de fungo simbiote por formigas cortadeiras, que servem como alimento para a colônia é um deles (KANNOWSKI, 1972). Outro clássico exemplo de simbiose em insetos, são os cupins e bactérias, com a relação resultando na fixação e reciclagem de nutrientes (WARNECKE et al., 2007). Em especial, os endossimbiontes apresentam diferentes formas de se instalar em seus hospedeiros, com grande diversidade de espécies alojando-se no trato digestivo dos insetos, enquanto outros apresentam capacidade de se alojarem nas células especializadas dos hospedeiros como é caso dos bacteriócitos. Alguns destes simbioses também são capazes de se movimentarem na hemolinfa e ocuparem diferentes sistemas (OLIVER et al., 2010; DOUGLAS, 2011).

Entretanto, essa não é a única forma de classificar estes simbioses, uma vez que outra condição muito importante é se são obrigatórios ou secundários, ou seja, se são necessários para que o inseto complete seu ciclo de vida, ou se ocorrem de forma mais esporádica, sem que o hospedeiro tenha a necessidade deles (DOUGLAS, 2011). A dinâmica de simbioses obrigatórios e secundários por si só já traz diversas perguntas evolutivas importantes, como os requisitos, tempo e grau de dependência para que a obrigatoriedade seja benéfica o suficiente para que um simbiote deixe de ser secundário (NGUYEN & VAN BAALEN, 2020).



A transmissão de simbioses pode ocorrer verticalmente através da passagem entre gerações, normalmente das fêmeas para os ovos, ou de forma horizontal, condição em que o hospedeiro adquire o simbiote através do ambiente, pela alimentação, movimentação, ou até mesmo interação com indivíduos da mesma espécie (DOUGLAS, 2011). O conjunto destas características evidencia a complexidade das interações, além da influência de fatores como mudanças de comportamento e competição entre simbioses (ITOH *et al.*, 2019).

As informações acima permitem definir o sistema como um complexo de interações que deu origem ao termo “Holobiose” (ZILBER-ROSENBERG & ROSENBERG, 2008). Dependendo dos estudos realizados, certos organismos não podem mais ser observados isoladamente, mas sim junto a sua microbiota. Insetos que apresentam bactérias desintoxicantes são um exemplo disso, apresentando características fisiológicas e genéticas combinadas dos dois organismos para a realização do processo de desintoxicação de compostos químicos (BOSCH & WELTE, 2016).

## 2.2 Transmissão

Dentre os aspectos importantes da relação hospedeiro-simbiote, destaca-se a forma de transmissão do microrganismo, que pode ser facultativa ou obrigatória. Esse mecanismo pode ter implicações capazes de explicar a relação obrigatória entre simbiote e hospedeiro e como isso afeta a forma de transmissão ao longo do tempo evolutivo (HARTMANN *et al.*, 2017).

Tanto transmissões verticais quanto horizontais são possíveis de ocorrer, uma vez que os simbioses ainda não apresentam obrigatoriedade para que sejam transmitidos exclusivamente verticalmente (RUSSELL *et al.*, 2003). Apesar de diversos casos não apresentarem 100% de transmissão vertical em simbioses secundários, diversas bactérias apresentam algo bem próximo, devido as suas posições no hospedeiro, uma vez que a transmissão pode ocorrer através dos bacteriócitos, células que carregam uma grande quantidade e diversidade de bactérias simbioses em insetos, ou em alguns casos como a *Wolbachia*, através dos próprios tecidos reprodutivos (BRIGHT & BULGHERESI, 2010; RAMALHO *et al.*, 2018).

Já a transmissão horizontal ocorre através do contato do indivíduo com o ambiente, seja através da alimentação, respiração ou contato físico, uma vez que as bactérias facultativas apresentam vida livre, podendo estar no solo, ar, nas plantas que os insetos se

alimentam, ou até mesmo em predadores e parasitoides. É possível também a transmissão horizontal através de contato com indivíduos portadores do simbiote, assemelhando-se a processos infecciosos.

Apesar da importância da transmissão horizontal, que pode modificar significativamente a dinâmica populacional dos simbioses, dada a complexidade do sistema a obtenção de dados e parametrização podem não ser triviais, uma vez que dependem de outros fatores como comportamento, densidade e distribuição populacional (RUSSELL *et al.*, 2003).

### 2.3 Os custos

Na análise de holobiontes, é possível observar também a presença de características que se desenvolvem nestes hospedeiros, capazes de trazer benefícios ou custos. Observando essa relação entre ganhos e perdas, nota-se custo fisiológico da manutenção, que ocorre através de respostas metabólicas, compartilhamento de nutrientes, energia e/ou outras substâncias essenciais para os organismos (CLAVÉ *et al.*, 2022). Respostas imunológicas do inseto também podem ser percebidas durante o crescimento da população de simbioses, ou até mesmo da presença de outros microrganismos associados, como vírus, que afetam negativamente o hospedeiro (BLOW *et al.*, 2020).

As diferentes formas de manutenção dessa relação resultam em um custo geral, expresso pela bionomia do inseto. Apesar do termo possuir diferentes interpretações, para este estudo, são consideradas considerados como caracteres bionômicos a reprodução, fecundidade, viabilidade e razão sexual (STEARNS; SCHMID-HEMPEL, 1987). O custo, principalmente na capacidade reprodutiva do hospedeiro, pode resultar em desvantagens quando submetidos à competição intraespecífica. Hospedeiros portadores de certos simbioses podem ser numerosos na população, dependendo de quão intenso é o custo individual (VORBURGER & GOUSKOV, 2011).

A bactéria *Hamiltonella defensa*, presente em diversas espécies de afídeos, apresenta um custo bionômico claro em seus hospederios. Por outro lado, a presença de um vírus bacteriófago pode ajudar o inseto na proteção contra certos parasitoides (RUSSELL; MORAN, 2005).

Há também estudos demonstrando que a presença de *H. defensa* pode gerar efeitos negativos para os afídeos quando na ausência de parasitóides (OLIVER *et al.*, 2003). Em espécies de afídeos em que custos deixam de existir ao longo do tempo, a percepção aparente entre portadores e não portadores do simbiote pode não ser evidente, como ocorre com *Aphis craccivora* (DYKSTRA *et al.*, 2014).

Para custos relacionados a alguma forma de resistência ou mecanismo de defesa, é importante classificá-los sob dois aspectos. O primeiro, é o custo constitutivo, definido como sempre presente. Neste caso, tanto os benefícios da defesa quanto os custos são trazidos pela relação simbiótica a partir do momento em que o inseto se torna hospedeiro, com influências sobre parâmetros da tabela de vida do hospedeiro (KRAAIJEVELD *et al.* 2002).

Já o segundo tipo de custo, chamado de custo induzido, envolve características negativas que ocorrem no momento de uma ação de defesa, normalmente relacionadas ao uso de recursos para a ativação da defesa, sendo assim mais pontual e dependente de circunstâncias específicas (SCHMID-HEMPEL, 2005).

Ambas as classificações apresentam origem em estudos imunológicos, mas, em trabalhos como o de Vorburger, Ganesanandamoorthy e Kwiatkowski (2013), as complexidades das relações de simbiose são exploradas no aspecto de seu custo, demonstrando que estas duas categorias não são mutuamente exclusivas, e que dependendo do cenário, a existência destes custos, principalmente o custo constitutivo, pode ser diminuída ou até mesmo eliminada do hospedeiro.

## 2.4 Os benefícios

Benefícios, assim como custos, podem ser constantes, ou emergirem de forma mais pontual e condicional, como discutido na pesquisa de Nguyen e Van Baalen (2020). As interações positivas entre as espécies envolvidas podem definir o grau de interrelação entre elas tornando o que seria facultativo e ocasional em uma relação simbiótica obrigatória, com clara dependência entre as espécies para sobrevivência e persistência no tempo. Dentre os benefícios fornecidos por simbioses no contexto do presente estudo, destacam-se a ação de simbioses intestinais na degradação de certos compostos químicos, sejam estes compostos naturais ou até mesmo inseticidas sintéticos, utilizados para o controle de pragas (BOSCH & WELTE, 2016).

Existem diversos exemplos de bactérias que auxiliam na degradação de inseticidas, como a bactéria *Candida oregonensis*, presente no intestino do besouro *Dendroctonus rhizophagus* (HERNÁNDEZ-MARTÍNEZ et al. 2016); bactérias dos grupos *Achromobacter* e *Rhizobium* em *Aedes aegypti* (SCATES, O'NEAL & ANDERSON, 2019); e diversas bactérias intestinais relevantes para estudos desenvolvidos com *S. frugiperda* (ALMEIDA et al. 2017).

## 2.5 Simbiontes e resistência

Tratando-se de resistência relacionada a inseticidas, o fundamento para a abordagem é a resistência com base genética, que parte do princípio que a proteção ocorre devido a alterações genéticas em populações de indivíduos expostos aos produtos. Há também outros tipos de resistência, como comportamental e baseada em simbiontes. Os fatores mencionados acima dependem essencialmente da proporção dos genes de resistência na população também influenciada pela dispersão ou migração populacional de simbiontes e respectivos hospedeiros (ROUSH; A MCKENZIE, 1987).

A habilidade dos insetos de apresentarem fenótipos relacionados a resistência ou proteção contra inseticidas, não é dependente apenas deles, mas também de seus simbiontes, que pela transmissão vertical, podem levar a uma seleção ao longo do tempo semelhante ao que é observado em genes de resistência (BOSCH & MILLER, 2016). Entretanto, para que se entenda qual a função destes simbiontes na aquisição de resistência e degradação de inseticidas, é importante primeiro definir como a resistência pode ocorrer sob a perspectiva da fisiologia do hospedeiro.

Neste contexto, a desintoxicação resulta na transformação dos compostos em formas menos tóxicas para o organismo, caracterizada por modificações em suas propriedades e na polaridade de seus componentes (LI et al., 2007; YU, 2008). Essas ações podem ser categorizadas em duas principais etapas, sendo as reações de fase 1, que são os processos mais gerais que reduzem as moléculas em substâncias menores e mais simples, e as reações de fase 2, dadas pela conjugação de moléculas mais específicas (YU, 2008). A maioria das bactérias simbiontes que auxiliam na aquisição de resistência atuam nas reações de fase 1 em seus hospedeiros, fazendo o papel de facilitadoras do processo de desintoxicação, através da quebra e redução das moléculas tóxicas, o que resulta em

moléculas mais simples, e, portanto, mais fáceis de serem eliminadas pelos hospedeiros, normalmente através de processos como hidrólise e oxidação (CHAHINE; O'DONNELL, 2011).

Alguns gêneros de bactérias, devido a característica de se apresentarem como simbioses facultativos em diversos insetos, são conhecidos por auxiliarem na degradação de compostos através de reações de fase, como por exemplo *Arthrobacter*, que já foi encontrada em vespas da espécie *Eretmocerus* auxiliando na produção de esterases, enzimas com capacidade de hidrólise (FERNÁNDEZ et al. 2018). Outras espécies que atuam como auxiliaadoras nesse processo são as do gênero *Burkholderia*, bactérias que capazes de infectarem o hospedeiro por transmissão horizontal no solo. Essas bactérias são encontradas em diferentes espécies de percevejos, como *Riptortus pedestris* e *Cavelerius saccharivorus*, auxiliando na degradação de inseticidas com compostos como Fenitrotina, Diazinon EPN e Isoxatina (KIKUCHI et al., 2012; BLANTON & PETERSON, 2020; KALTENPOTH & FLÓREZ, 2020). Assim como as mencionadas acima *Pseudomonas* são encontradas com frequência em espécies de insetos envolvidas em processos de degradação de inseticidas, e juntamente com *Arthrobacter* e *Leclercia* foram encontrados em *S. frugiperda* (ALMEIDA et al., 2017).

## 2.6 Estudo de caso: *Spodoptera frugiperda*

*Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae), comumente conhecida como lagarta do cartucho do milho, é uma praga de importância econômica bem conhecida, uma vez que possui uma alimentação altamente diversa, podendo chegar a mais de 350 espécies de plantas com capacidade de causar dano significativo em até 80 destas espécies (MONTEZANO et al., 2018). Esta espécie é diferenciada entre duas linhagens, conhecidas como linhagem Milho e linhagem Arroz, classificação feita devido as diferentes características genéticas e geográficas. Ambas ocorrem no Brasil, e apesar dos nomes, não estão necessariamente limitadas as plantações que as nomeiam (PROWELL, MCMICHAEL & SILVAIN, 2004).

O controle de *S. frugiperda* não é uma tarefa fácil. Além das diferenças genéticas entre as linhagens e alta polifagia, a espécie possui certas características biológicas e ecológicas que dificultam o manejo. Crescimento populacional explosivo, com cada fêmea sendo capaz de ovipositar aproximadamente 300 ovos por folha, alta taxa de dispersão, e curto ciclo de vida são características que fazem do grupo taxonômico, populações bem-sucedidas (RIOS et al., 2014; TENDENG et al., 2019).

A resistência adquirida por *S. frugiperda* através de seus simbioses não se limita somente a inseticidas, mas também a outras formas de controle como toxinas de *Bacillus thuringiensis* (Bt), através de bactérias do gênero *Enterococcus* (SHAO et al., 2017). Existem populações que apresentam resistência a certos tipos de compostos comumente aplicados em campo, como Chlorpyrifos ethyl e Spinosad. Estudos como o de Almeida et al. (2017) ajudam a explicar o processo de resistência em insetos, indicando a presença de bactérias simbioses capazes de auxiliar na degradação destes compostos, ou seja, *Leclercia adecarboxylata* para o Chlorpyrifos ethyl e *Pseudomonas psychrotolerans* para o Spinosad.

*Leclercia adecarboxylata* é uma enterobactéria gram-negativa de relevância médica. Caracterizada como oportunista, ocorre no trato digestivos de diversos animais, e pode causar infecções em humanos, mais comumente em indivíduos com imunodeficiências (ZAYET et al., 2021). É uma bactéria encontrada também em insetos, como em *S. frugiperda*, e não somente no Brasil, mas também na Índia (SAHANI et al., 2023). Em outros insetos predomina em besouros da família Chrysomelidae (MURATOGLU; DEMIRBAG; SEZEN, 2011). Esta bactéria também apresenta certas linhagens capazes de realizar a degradação de hidrocarbonetos, através de processos de hidrólise para a geração de oxigênio, o que faz com que as moléculas sejam quebradas em formas mais simples, auxiliando o hospedeiro (SARMA et al., 2004). Demonstra também capacidade de degradação do composto Chlorpyrifos ethyl (ALMEIDA et al., 2017).

Chlorpyrifos ethyl é um composto químico utilizado desde 1965, normalmente aplicado de forma mensal. Trata-se de um organofosforado que vem caindo em desuso em alguns países, sendo utilizado em partes foliares e no solo, atacando assim as lagartas do inseto de interesse. Tem característica neuroticológica, servindo como inibidor de acetilcolinesterase, impedindo a degradação de acetilcolina, causando morte devido ao seu acúmulo nas fendas sinápticas, dificultando as sinalizações entre neurônios (EPA, 2022; GULER; TURKOGLU; BASI, 2017).

Devido ao seu longo histórico de uso, a resistência contra este composto é encontrada em diversas espécies de insetos que são consideradas pragas agrícolas. Para isso, novas técnicas de uso estão sendo desenvolvidas, tentando mesclar o uso de composto, com compostos naturais de plantas, ou diferentes tecnologias como o uso de fungos entomopatogênicos (AHMED et al., 2022; RIVERO-BORJA et al., 2018).

Apesar da rara existência de informação voltada sobre sua relação com *S. frugiperda*, a bactéria Gram-negativa *Pseudomonas psychrotolerans* apresenta características que ajudam a fazer a conexão como seu ambiente de vida. Há estudos demonstrando sua capacidade de ser encontrada em certas plantas, como o arroz (WANG *et al.*, 2020). Essa bactéria também apresenta a capacidade de degradar certos tipos de compostos benzo(a)pireno e outros hidrocarbonetos, assim contribuindo como um dos simbioses que podem auxiliar no processo de desintoxicação dentro do inseto hospedeiro (DONG *et al.*, 2023).

No Brasil, a relação entre *Spodoptera* e Spinosad já foi observada, e a resistência sobre o produto já foi evidenciada, com alto custo em seu *fitness*, custo parecido com os encontrados devido a presença do simbiote *P. psychrotolerans*, como a baixa oviposição e aumento no tempo de desenvolvimento (OKUMA *et al.*, 2018).

Esse desenvolvimento de resistência trouxe a necessidade de 3 aplicações por época de produção (BURTET *et al.*, 2017), o que seria aproximadamente uma aplicação a cada 2 meses. Com o produto funcionando como um modulador nos receptores nicotínicos de acetilcolina (SPARKS *et al.*, 2012), o inseticida também apresenta um mecanismo de ação muito mais eficiente nos estados iniciais do inseto, detalhe que será considerado no modelo (BIRD; DRYNAN, 2023).

Assim como o que ocorre com Chlorpyrifos ethyl, a resistência faz com que os interessados continuem tentando encontrar novas formas de utilizar Spinosad como uma forma de controle, testando novas misturas com vírus e fungos patogênicos, demonstrando a importância dessa relação de resistência que os simbioses auxiliam (A MÉNDEZ *et al.*, 2002; RIVERO-BORJA *et al.*, 2018).

## 2.7 Modelos e interações inseto-simbiote

O termo holobiose, apesar de recente, já teve seu conceito aplicado em pesquisas voltadas a modelagem, como por exemplo os modelos SIR. Nestes modelos, utiliza-se o conceito para o entendimento de dinâmicas epidemiológicas, com diversas abordagens considerando a presença de um patógeno como uma característica de um indivíduo, trazendo o papel de um possível transmissor ou infectado (HETHCOTE, 2000). Em entomologia agrícola, o uso de modelos matemáticos e computacionais vem se tornando cada vez mais comum, permitindo o entendimento dos sistemas por meio de simulações de cenários que não seriam viáveis de se construir em campo. A abordagem também permite testar e observar sistemas

complexos em detalhes, tanto em nível de indivíduo, quanto populações como um todo (FERREIRA E GODOY, 2014).

A própria espécie *S. frugiperda* aparece como objeto de estudos para certos modelos, como a pesquisa desenvolvida por Tomé et. al (2022), em que foi desenvolvido um modelo de distribuição espacial baseado em simulações de Monte Carlo, uma metodologia utilizada para a representação de probabilidades aleatórias, tais como as que serão estudadas neste trabalho. Outro exemplo é a pesquisa de Garcia et. al (2020), também com um foco na distribuição espacial, que utilizou modelos baseados em indivíduo como caminho para observar como pequenas mudanças e preferências em nível de indivíduo podem interferir em aspectos da população, abordagem que também pode ser utilizada para observar a interação entre os simbioses e insetos.

A relação inseto-simbionte também vem sendo explorada, principalmente na relação de afídeos com seu simbiote *H. defensa*. Isso se dá devido à grande relevância no controle de pragas e importância para os estudos de relações inseto-simbionte de forma geral, apresentando na sua maioria, estudos com um foco maior na fisiologia e biologia dessa relação (KAECH & VORBURGER, 2021; OLIVER et al., 2010). Há ainda alguns exemplos do uso de ferramentas matemáticas para entender a dinâmica populacional dessa relação (KWIATKOWSKI & VORBURGER, 2012; ZYTYNSKA & VENTURINO, 2019).

Apesar da quantidade de estudos na temática simbiose e mutualismo, a maioria deles apresenta uma abordagem mais teórica, utilizando poucas ferramentas de modelagem matemática para entender relações complexas, como espacialidade, ambiente, e transmissão dos simbioses (HARRISON *et al.*, 2013; BROWN & AKÇAY, 2018). Porém, poucos trabalhos têm explorado a relação de insetos com seus simbioses em ambientes agrícolas, e por hora, nenhum utilizando ferramentas computacionais, como apresentado nos exemplos de Tomé et. al (2022) e Garcia et. al (2020).

Esse cenário favorece novas abordagens, com a possibilidade de melhor entender essas relações utilizando ferramentas computacionais, como por exemplo os modelos baseados em indivíduos, voltados para a solução de problemas associados a respostas específicas ao ambiente que podem ocorrer dentro de uma população (RAILSBACK & GRIMM, 2012).





### 3. METODOLOGIA

#### 3.1 Modelagem

Um modelo é uma representação abstrata da realidade, que considera os principais pontos de interesse das interações e dinâmicas de interesse (HENNIG, 2009). Em princípio, na composição de modelos computacionais não se requer a inclusão de todas as variáveis e fatores que ocorrem na natureza, sobretudo quando o foco do modelo é direcionado para investigar aspectos biológicos mais específicos (MOON & HONG, 2013).

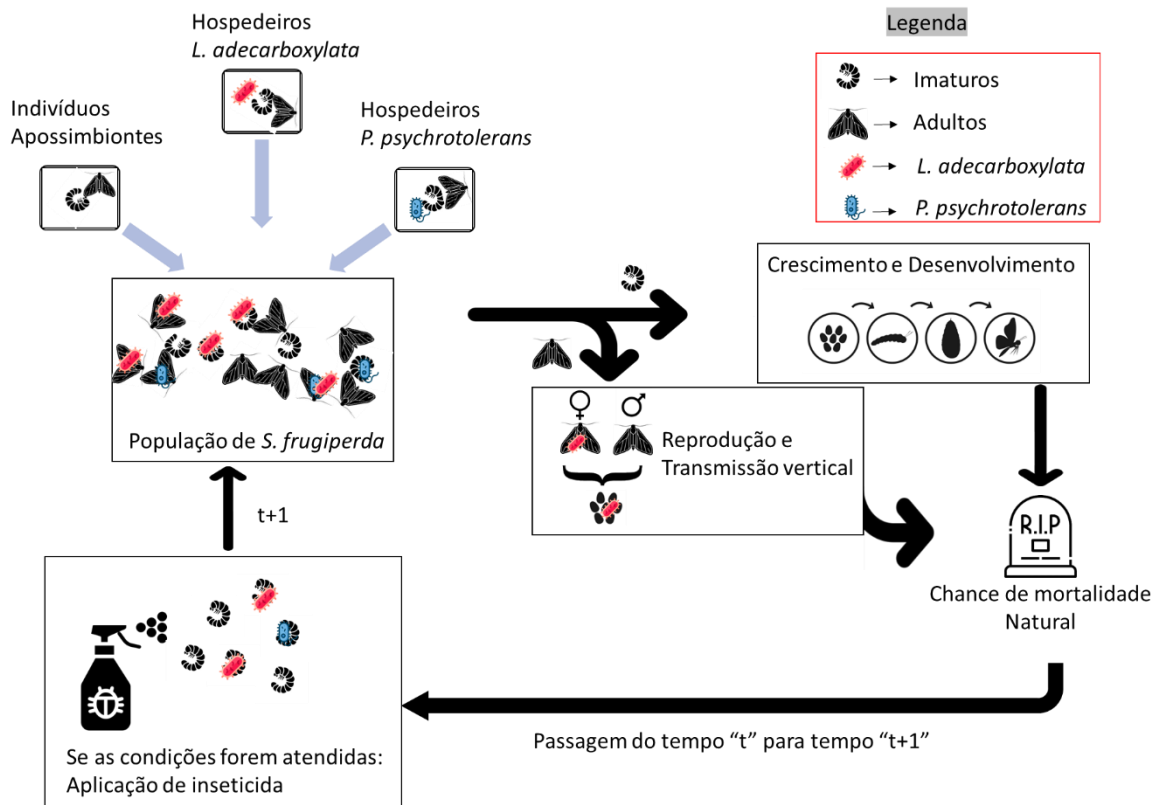
A abordagem elaborada para esta pesquisa combina modelos baseados em indivíduo, como modelos de Monte Carlo, permitindo investigar as probabilidades de ocorrência de simbioses, e como podem ser transmitidos ao longo das gerações, com as primeiras versões sendo baseadas nas equações desenvolvidas por Kwiatkowski e Vorburger (2012). O modelo considera a dinâmica populacional do inseto hospedeiro e a distribuição de seus simbioses ao longo do tempo. Além disso, o modelo leva em conta o uso do controle químico, bem como sua influência sobre a relação hospedeiro-simbionte. Os algoritmos computacionais foram escritos em linguagem R, versão 4.2.0, através do ambiente Rstudio.

Essa abordagem permitiu a individualização de cada inseto na população. A aleatorização gerada pela implementação da metodologia de Monte Carlo, propiciou a inserção de dimensão estocástica para o modelo. Assim, certas etapas que normalmente seriam determinadas por proporções, como a definição de machos e fêmeas, e a sobrevivência do indivíduo, puderam ser investigadas por meio de gerador de números aleatórios, em conformidade com probabilidades determinadas (DEANGELIS; GRIMM, 2014, HARRISON, 2010).

A estrutura básica do modelo considerou a população de insetos, contendo diferentes espécies de simbioses; a reprodução dos insetos e a transmissão vertical dos microorganismos, assim como o crescimento e desenvolvimento entre estágios de vida. E, em condições específicas determinadas pelo tipo de simulação testada e a aplicação do inseticida, com cada indivíduo submetendo-se à probabilidade de sobrevivência.

Após a expansão do modelo para acomodar características do sistema testado no estudo de caso, parâmetros de desenvolvimento e reprodução de *Spodoptera frugiperda* foram inseridos. Dessa forma, as seguintes variáveis foram incorporadas ao modelo: (1) estágios de desenvolvimento do inseto, (2) viabilidade e tempo de desenvolvimento de cada

estágio de vida, (3) fecundidade das fêmeas quando hospedeiras dos simbiosites ou não. As adaptações no teste de sobrevivência acomodaram diferentes formas de aplicação de inseticidas, assim como diferentes concentrações e seus efeitos nos insetos. No formato final, o modelo computacional teve a estrutura esquematizada na Figura 1, com os principais parâmetros e componentes descritos na Tabela 1.



**Figura 1.** Representação visual das principais etapas do modelo computacional: Distribuição inicial das três subpopulações (hospedeiros dos simbiosites e apossimbiontes), processo de crescimento e desenvolvimento dos insetos imaturos, reprodução dos indivíduos adultos, assim como transmissão vertical dos simbiosites, teste de mortalidade natural diária a todos os indivíduos, aplicação dos inseticidas de acordo com a simulação realizada e o tempo atual do modelo.

O modelo utiliza um *dataframe* como base, uma tabela contendo informações de cada indivíduo em uma linha. Cada uma das linhas apresenta informações sobre o indivíduo, como o estado do indivíduo no último tempo observado, que inclui os estágios de vida. A informação também considera se o indivíduo morreu por meios naturais ou através da aplicação de um método de controle. Também levando em conta a idade do inseto e a presença dos dois simbiosites de interesse, que define as “subpopulações” de indivíduos hospedeiros de cada simbiote, e indivíduos apossimbiontes que não apresentam as bactérias definidas.

Após a aleatorização das condições iniciais, a população entrou no ciclo principal do modelo, que ocorre de acordo com a quantidade de tempo a ser observado na simulação. O ciclo consistiu em três processos principais: reprodução dos insetos, crescimento e desenvolvimento dos indivíduos e sobrevivência às aplicações de inseticida. Os dois primeiros ocorrem em todo o ciclo, enquanto o último ocorre apenas quando as condições forem atingidas, condições estas que dependem das simulações testadas. O teste de sobrevivência será apresentado com mais detalhes na sessão de “Simulações”.

A reprodução foi dependente da fecundidade das fêmeas, que muda de acordo com a presença ou ausência dos microorganismos. Cada fêmea adulta pode gerar uma quantidade de novos indivíduos de acordo com a fecundidade. A ordem de reprodução dos adultos foi aleatorizada, e no caso do número de indivíduos novos, somados com os previamente parte do *dataframe*. Quando o número de indivíduos era maior do que a capacidade de suporte determinada, o processo de reprodução era interrompido.

O processo de crescimento ocorreu de forma linear e a cada espaço de tempo a longevidade dos indivíduos aumentou em 1. Conforme os limites de longevidade eram atingidos, os indivíduos passavam para o próximo estágio de vida, seguindo a seguinte ordem: ovo, larva, pupa e adultos. A cada espaço de tempo, os indivíduos também podiam sofrer morte natural. Essa probabilidade foi dependente da viabilidade do estágio de vida, que também foi alterada de acordo com a presença dos simbioses.

Tabela 1: Descrição dos principais parâmetros e utilizados no modelo computacional

Parâmetro	Descrição
População inicial	Número de indivíduos na primeira instância de tempo
Capacidade de suporte	Limite tolerável do número de indivíduos da população
Fecundidade	Número de oviposições das fêmeas adultas
Proporção inicial de simbioses	Probabilidade de hospedeiros da população inicial terem simbioses
Tempo máximo observado	Limite de tempo que termina o loop principal do modelo
Estado (Estágio de vida do inseto)	Condição do inseto, considerando estágio de vida, e tipo de mortalidade
Tempo de desenvolvimento do indivíduo	Tempo de vida necessário para mudança de estágio de vida, e tempo limite de vida.
Viabilidade	Sobrevivência por estágio de vida
Intervalo de aplicação	Intervalo em dias entre aplicação do teste de sobrevivência (inseticida)
Nível de controle	Tamanho mínimo para a aplicação do teste de sobrevivência (inseticida)
Tratamentos	Relação de concentrações dos inseticidas, e suas respectivas mortalidades em indivíduos aposimbioses e hospedeiros.

Foi considerada também a possível coinfeção com ambos os simbioses de interesse, apesar da inexistência de dados. Contudo, as informações encontradas na literatura, em estudos de múltiplas infecções, configuram boa estimativa para o custo acumulativo na análise binômica para considerar presença de ambos os simbioses em um único indivíduo, permitindo assim a coinfeção (OLIVER; A MORAN & HUNTER, 2006).

Como *output* final, o modelo gerou séries temporais, com dados coletados das simulações a cada espaço de tempo observado contendo a população total de insetos, assim como as subpopulações de hospedeiros portadores dos observados.

### 3.2 Parâmetros: estudo de caso

Os parâmetros escolhidos e a base para simulações foram fundamentados em estudos prévios realizados com *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae). Além de grande relevância devido ao dano econômico causado, a espécie apresenta-se como bom modelo para estudo de caso, em virtude de sua resposta populacional adaptativa já bem conhecida, dada por sua resistência a certos tipos de compostos comumente aplicados em campo para controle da espécie, como Chlorpyrifos ethyl e Spinosad (ALMEIDA, 2018). Trabalhos como o de Almeida et al. (2017) descrevem como o processo de resistência pode emergir em insetos, incluindo também a presença de bactérias simbioses capazes de auxiliar

na degradação destes compostos, como por exemplo *Leclercia adecarboxylata* para o Chlorpyrifos ethyl e *Pseudomonas psychrotolerans* para o Spinosad.

A tese de Almeida (2018) foi utilizada para a obtenção dos dados necessários à parametrização do modelo. A tese contém dados da biologia do inseto, assim como análises de parâmetros influenciados pela presença dos simbioses de interesse, tais como fecundidade, tempo de desenvolvimento e viabilidade em cada um dos estágios de vida. O estudo também traz os dados necessários sobre a sobrevivência dos insetos aos inseticidas mencionados na presença e ausência dos simbioses.

As tabelas abaixo demonstram os valores de cada um dos parâmetros utilizados. A tabela 2 contém os parâmetros da biologia do inseto, com os dados coletados por Almeida (2018) sendo as viabilidades totais e tempo de desenvolvimento de cada estágio, e a viabilidade diária utilizada no modelo, sendo uma proporção calculada utilizando os dados mencionados. As tabelas 3 e 4 indicam os parâmetros de sobrevivência do inseto nas condições de aplicação de inseticidas, que foram os tratamentos utilizados para as simulações.

Tabela 2: Descrição dos parâmetros (primeira coluna) e valores influenciados pela presença de diferentes simbiontes, utilizados nas simulações do modelo computacional

	<b>Apossimbionte</b>	<b>L. <i>adecarboxylata</i></b>	<b><i>P. psychrotolerans</i></b>	<b>Ambos os simbiontes</b>
Viabilidade total (Ovos)	83%	78%	69,4%	63,4%
Tempo de desenvolvimento (Ovos)	4 dias	5 dias	4 dias	4 dias
Viabilidade diária (Ovos)	0.958	0.956	0.923	0.908
Viabilidade total (Larva)	96%	93%	75,5%	72,5%
Tempo de desenvolvimento (Larva)	18 dias	19 dias	17 dias	18 dias
Viabilidade diária (Larva)	0.998	0.996	0.988	0.988
Viabilidade total (Pupa)	84%	76%	59,5%	53,5%
Tempo de desenvolvimento (Pupa)	11 dias	10 dias	11 dias	11 dias
Viabilidade diária (Pupa)	0.985	0.976	0.963	0.958
Viabilidade total (Adulto)	90%	90%	90%	90%
Tempo máximo de vida (Adultos)	7 dias	7 dias	7 dias	7 dias
Viabilidade diária (adultos)	0.986	0.986	0.986	0.986
Fecundidade das Fêmeas (diária)	115 ovos/fêmea	67 ovos/fêmea	27 ovos/fêmea	19 ovos/fêmea

Tabela 3: Mortalidade de *S. frugiperda* com diferentes simbionte e em diferentes concentrações de chlorpyrifos ethyl

	<b>CL50 Apossimbionte (Tratamento 1)</b>	<b>CL50 L. <i>adecarboxylata</i> (Tratamento 2)</b>	<b>CL90 Apossimbionte (Tratamento 3)</b>
Apossimbionte	50%	74%	90%
<i>L. adecarboxylata</i>	27%	50%	67%

Tabela 4: Relação de mortalidade de *S. frugiperda* com diferentes simbionte e em diferentes concentrações de Spinosad

	<b>CL50 Apossimbionte (Tratamento 5)</b>	<b>CL50 P. <i>psychrotolerans</i> (Tratamento 6)</b>	<b>CL90 Apossimbionte (Tratamento 7)</b>
Apossimbionte	50%	63%	90%
<i>P. psychrotolerans</i>	40%	50%	74%

É importante notar que as condições iniciais para todas as simulações testadas, consistiram em 4000 indivíduos, todos na fase de larva, com aleatorização em parâmetros

como a idade, variando entre 5 e 20 dias, o sexo (50% macho e 50% fêmea), e também a presença ou ausência dos simbioss, com a probabilidade de presença da *L. adcarboxylata* sendo 35%, e a presença de *P. psychrotolerans* de 25%, valores encontrados de acordo com as proporções máximas encontradas em testes controle.

### 3.3 Simulações

Para este tipo de trabalho, as simulações são equivalentes aos resultados de estudos experimentais, e a mudança nos parâmetros em função de interações têm o objetivo de responder as perguntas levantadas no estudo. A base de comparação para as simulações de diferentes tratamentos foi a simulação controle, contendo os parâmetros da biologia de *S. frugiperda*, sem aplicações de inseticidas.

Para testar os inseticidas como uma forma de pressão seletiva, foram realizados três tipos de simulações, de acordo com a forma que os inseticidas foram aplicados. O primeiro grupo envolve diferentes intervalos de dias entre aplicações pontuais, o segundo considera diferentes concentrações, e a forma de aplicação é dependente de um nível de controle. No terceiro, foi testada a presença constante do inseticida, porém em baixas concentrações. Para a finalidade desses testes, apenas as larvas eram vulneráveis aos inseticidas, com exceção do terceiro teste, que afetava toda a população.

**Simulações tipo 1:** O primeiro teste foi realizado somente com a concentração letal 50 dos inseticidas chlorpyrifos ethyl e Spinosad, enquanto o intervalo entre aplicações foi alterado em cada tratamento, sendo 30, 15, 10 e 5 dias. Dessa forma foi possível testar como o próprio número de aplicações serve como uma forma de aumentar a pressão de seleção.

**Simulações tipo 2:** Para testar a influência da concentração dos inseticidas sobre as proporções de hospedeiros dos simbioss, optou-se por utilizar um limite para o tamanho populacional, que servia como nível de controle. Esse nível foi fixado em 7500 indivíduos para todas as simulações, valor assumido como representativo de um nível de controle abaixo da capacidade de suporte do inseto. Sempre que a população de insetos estivesse acima desse valor, a aplicação do produto era realizada. Foram testadas todas as concentrações mencionadas nas tabelas 3 e 4, ou seja 50 e 90.

**Simulações tipo 3:** Estas simulações foram realizadas para explorar a sub dosagem, e seu efeito constante no ambiente. Desta forma, não foram aplicados inseticidas com o uma



chance pontual de sobrevivência durante a aplicação, mas sim, alterações nos parâmetros de biologia dos insetos, deixando de usar os valores da tabela 2 e utilizando os valores apresentados na tabela 5. Dessa forma, foi simulada uma diminuição geral na bionomia dos insetos suscetíveis, enquanto houve um aumento nos hospedeiros do simbiote que confere resistência ao inseticida testado. Devido à falta de dados, foi este cenário foi explorado só com a relação de *L. adecarboxilata* na presença chlorpyrifos ethyl, e os parâmetros para *P. psychrotolerans* se mantiveram os mesmos com exceção da viabilidade das larvas e fecundidade, utilizando os parâmetros do apossimbiote como base, para melhor representar a presença constante do inseticida afetando os insetos.

Tabela 5: Descrição dos parâmetros (primeira coluna) e valores influenciados pela presença de diferentes simbioses, utilizados nas simulações tipo 3

	<b>Apossimbiote</b>	<b><i>L. adecarboxylata</i></b>	<b><i>P. psychrotolerans</i></b>	<b>Ambos os simbioses</b>
Viabilidade (Ovos)	83%	81%	69,4%	63,4%
Tempo de desenvolvimento (Ovos)	4 dias	4 dias	4 dias	4 dias
Viabilidade (Larva)	24%	57%	24%	35%
Tempo de desenvolvimento (Larva)	19 dias	19 dias	17 dias	18 dias
Viabilidade (Pupa)	76%	62%	59,5%	53,5%
Tempo de desenvolvimento (Pupa)	10 dias	10 dias	11 dias	11 dias
Viabilidade (Adulto)	90%	90%	90%	90%
Tempo máximo de vida (Adultos)	6 dias	6 dias	7 dias	6 dias
Fecundidade das Fêmeas (diária)	31 ovos/fêmea	71 ovos/fêmea	27 ovos/fêmea	19 ovos/fêmea

### 3.4 Análises estatísticas

As séries temporais foram comparadas através de análises gráficas visuais, utilizando o pacote ggplot2 em linguagem R. As médias das subpopulações foram apresentadas juntamente com quartis, que representam a variação entre simulações, na forma de envelope (média ao meio, com os quartis formando um “envelope” em limites superiores e inferiores). Optou-se por utilizar quartis, medida de posição, uma vez que os dados não apresentam normalidade. O eixo X, descreve a variação do tempo, e no eixo Y as médias dos tamanhos populacionais. Essa análise visual foi feita com cada um dos 3 testes realizados.

Devido as características das simulações tipo 3, que não apresenta variáveis explanatórias de interesse para comparação, foi realizada apenas a representação visual, através do gráfico das séries temporais.

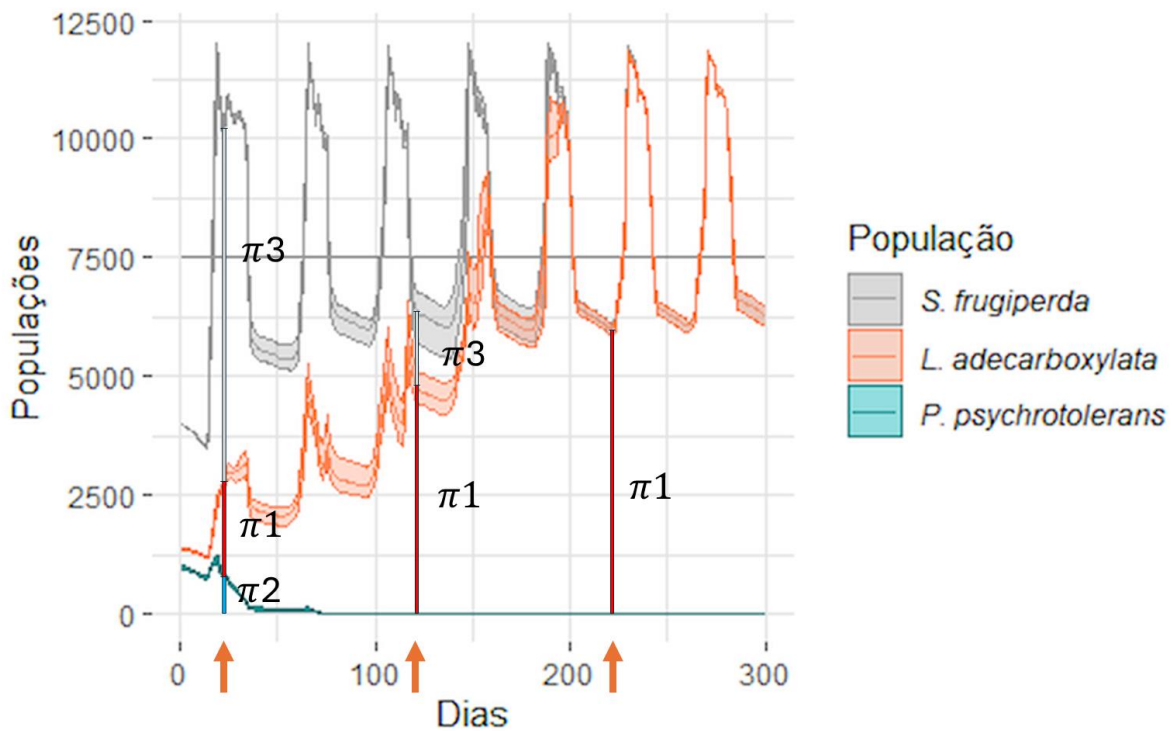
Para simulações 1 e 2 foram também realizadas análises de proporção das subpopulações, com o intuito de extrair mais informações a partir dos dados gerados pelas séries temporais. As análises foram também feitas com pacotes estatísticos como o Gamlss em linguagem R, versão 4.2.0. Utilizou-se modelos mistos, com distribuição multinomial com as proporções das 3 subpopulações, que seriam a população de hospedeiros de cada um dos simbiontes, assim como dos insetos apossimbiontes como variável resposta em pontos equidistantes de tempo na série.

Para as simulações tipo 2, devido a sua maior complexidade, outras informações foram extraídas e observadas. A primeira, através da adição de um fator que considera a presença do inseticida no modelo misto utilizado para a análise de proporções, observando se há assim um melhor ajuste para os dados. Por fim, foi realizada uma análise utilizando o intervalo de tempo das aplicações como variável resposta, e acrescentando as proporções de simbiontes como possíveis variáveis explanatórias.

### 3.4.1 Análise de proporções: simulações 1 e 2

Devido à complexidade da variável resposta, sendo composta de 3 proporções em razão do cenário considerando as subpopulações, foi necessário adotar modelos com logitos multinível para a caracterização da variável resposta. Essa metodologia utiliza os valores das proporções ' $\pi_1$ ', ' $\pi_2$ ' e ' $\pi_3$ ', que representam respectivamente as proporções de *L. adecarboxylata*, *P. psychrotolerans* e Apossimbiontes, extraídas das séries temporais conforme a figura 2. A composição desse logito segue a equação (1), com o valor de ' $c$ ' = 3, devido as três proporções presentes.

$$\log\left(\frac{\pi_j}{\pi_c}\right), j = 1, \dots, c - 1. \quad (1)$$



**Figura 2.** Variáveis resposta para análise de proporções,  $\pi_1$ ,  $\pi_2$  e  $\pi_3$  representam respectivamente, as proporções de indivíduos hospedeiros de *L. adecarboxylata*, *P. psychrotolerans* e aossimbiontes na população total de insetos (*S. frugiperda*). Pontos de observação determinados pelas setas vermelhas. Simb1 = Hospedeiros de *L. adecarboxylata*; Simb2 = Hospedeiros de *P. psychrotolerans*; *S. frugiperda* = População de insetos contendo hospedeiros e aossimbiontes

Com a variável resposta definida, através do uso de modelos mistos, foram definidas as variáveis explanatórias, sendo estas os inseticidas utilizados (Chlorpyrifos ethyl e Spinosad), assim como os diferentes intervalos entre aplicações (5, 10, 15 e 30 dias) para as simulações tipo 1, e as diferentes concentrações (CL50A, CL50S e CL90A) para as simulações tipo 2, assim como a presença do tempo como uma covariável aditiva.

Com a presença das variáveis explanatórias, a fórmula do modelo estatístico se apresenta como demonstrado na equação (2), onde o valor de ' $\alpha$ ' representa os interceptos de cada variável resposta, e cada valor de ' $\beta$ ' interfere no *slope* da curva gerada. Este valor é utilizado para cada uma das variáveis explanatórias, com o total de variáveis e covariáveis presentes sendo representadas pelo valor ' $p$ '.

$$\log\left(\frac{\pi_j}{\pi_c}\right) = \alpha_j + b_{0i} + \beta_{j1}x_1 + \beta_{j2}x_2 + \dots + \beta_{jp}x_p, j = 1, \dots, c - 1. \quad (2)$$

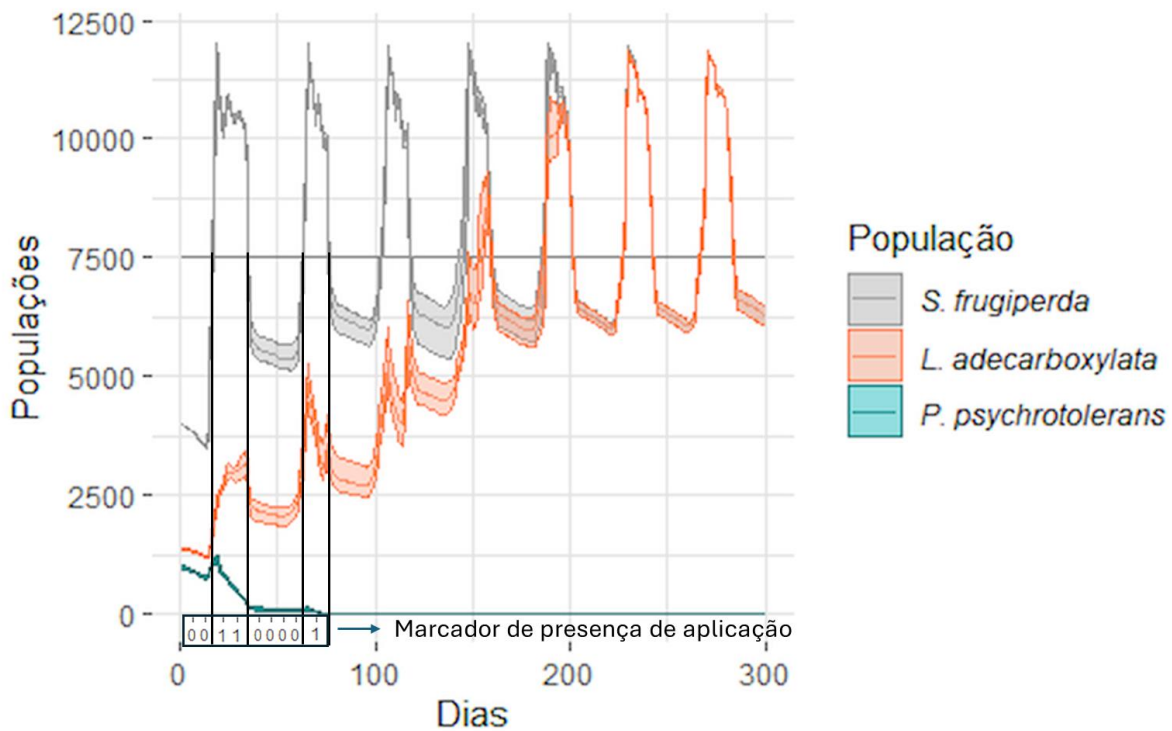
Esta análise foi realizada com o objetivo de definir os fatores que afetam as proporções das subpopulações. Foram observados diferentes instantes nas séries temporais

em períodos equidistantes entre as aplicações, conforme indicado pelas setas vermelhas na figura 2, totalizando 10 pontos observados para as simulações com intervalo de aplicação definido, e 8 pontos observados para as simulações com nível de controle.

Desta forma, foi possível testar cada uma das variáveis, assim como possíveis interações entre elas, e se tiveram influência significativa sobre a dinâmica das proporções ao longo dos pontos observados.

### 3.4.2 Análise do indicador de inseticidas

Utilizou-se como base o modelo escolhido na sessão anterior, contendo *splines* para a interpolação da série, e os logitos generalizados como variáveis resposta, assim como as mesmas variáveis explanatórias com significância estatística. Assim, foi elaborado um novo modelo estatístico que apresenta um fator extra, um indicador que determina a presença ou ausência da aplicação do inseticida em cada tempo observado na série temporal, como demonstrado na figura abaixo. A ausência de aplicação foi marcada como “0” e a presença como “1”. Este fator foi acrescentado como um dos valores de ‘ $\beta$ ’, seguindo a mesma equação (2).



**Figura 3.** Representação do fator de aplicação de inseticidas. Ausência de aplicação foi marcada como “0” e a presença como “1” ao longo da série temporal. Simb1 = Hospedeiros de *L. adecarboxylata*; Simb2 = Hospedeiros de *P. psychrotolerans*; *S. frugiperda* = População de insetos contendo hospedeiros e apossimbiontes

Desta forma, foi possível saber como a presença do inseticida interfere na dinâmica de proporções de simbiosiontes ao longo do tempo, não só de forma pontual. Foram testadas quantidades de pontos de corte (*knots*) diferentes, que representam diferentes pontos que separam as regiões da série temporal, fazendo com que o modelo se ajuste a cada uma das regiões, facilitando o processo (PERPEROGLU *et al.*, 2019). Estes pontos foram previamente definidos na análise de proporções como mencionado, porém observando-os para avaliar as alterações ao longo de todo tempo amostral. Para tanto, foi necessário encontrar o número de cortes que melhor representassem as regiões da série temporal. Essa comparação entre diferentes valores de *knots* foi feita empregando o critério de Akaike (AIC), com o objetivo de encontrar a versão do modelo com melhor ajuste aos dados.

Após a seleção do modelo, foi elaborado um gráfico que demonstra as curvas da equação estatística gerada, que acompanha não só a proporção de todas as subpopulações, mas também considera os intervalos de aplicação. Essa metodologia não foi utilizada para as simulações tipo 1, uma vez que a presença pontual e bem definida das aplicações não traria novas informações e perspectivas nas séries temporais.

### 3.4.3 Análise de intervalo de aplicação

Foi elaborada também uma análise específica para as simulações que utilizaram um nível de controle como base para as aplicações (simulação tipo 2). A análise utilizou como variável resposta, nomeada  $Y_{ij}$ , o intervalo de tempo contendo aplicações de inseticidas, com o ponto inicial sendo o momento em que a população passou do nível de controle, e o ponto final deste intervalo sendo o momento em que ficou abaixo do nível de controle. O procedimento foi feito com o objetivo de observar se houve um aumento no intervalo, ou seja, número de aplicações necessárias para que a população ficasse abaixo do nível de controle.

Neste cenário, foi assumida uma distribuição gama, para modelo misto, representado pela equação 3, que demonstra a variável resposta como dependente de  $\mu_{ij}$ , que representa o conjunto das variáveis explanatórias, juntamente com o fator aleatório  $b_{0i}$ .

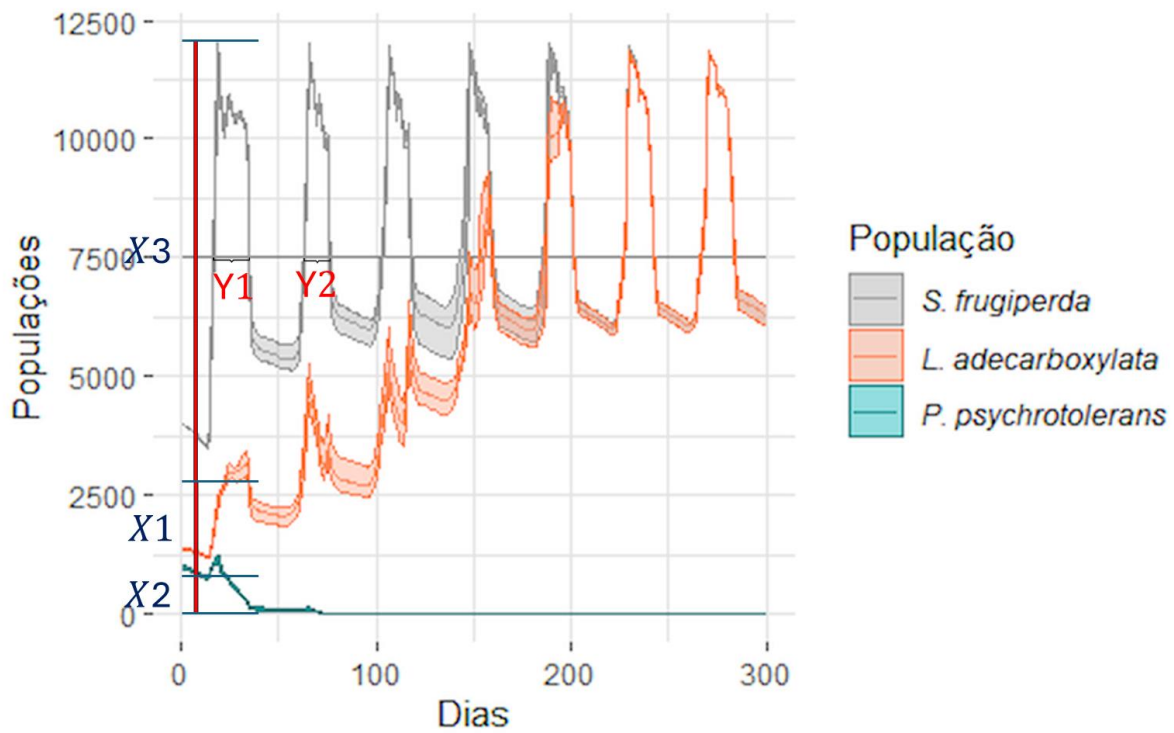
$$Y_{ij} \sim \text{Gamma}(\mu_{ij}, \Phi) \quad (3)$$

Na equação 4, temos a relação entre as variáveis resposta, onde cada valor de  $\beta$  corresponde a uma variável diferente, sendo estas as combinações de inseticidas com as diferentes concentrações, como mencionado acima. Porém, nesta análise a variável resposta foi o intervalo de tempo em que houve aplicações, com as médias das proporções de indivíduos das subpopulações durante este intervalo, como possíveis variáveis explanatórias.

$$\mu_{ij} = \beta_0 + b_{0i} + \beta_1 P_1 + \beta_2 P_2 + \beta_3 P_3 + \dots + \beta_n P_n \quad (4)$$

Já a equação 5 é representativa do modelo da variável aleatória considerada. Na imagem abaixo também é possível observar como os valores de  $\beta$  e  $Y$  foram coletados nas simulações.

$$b_0 \sim N(0, \sigma^2) \quad (5)$$



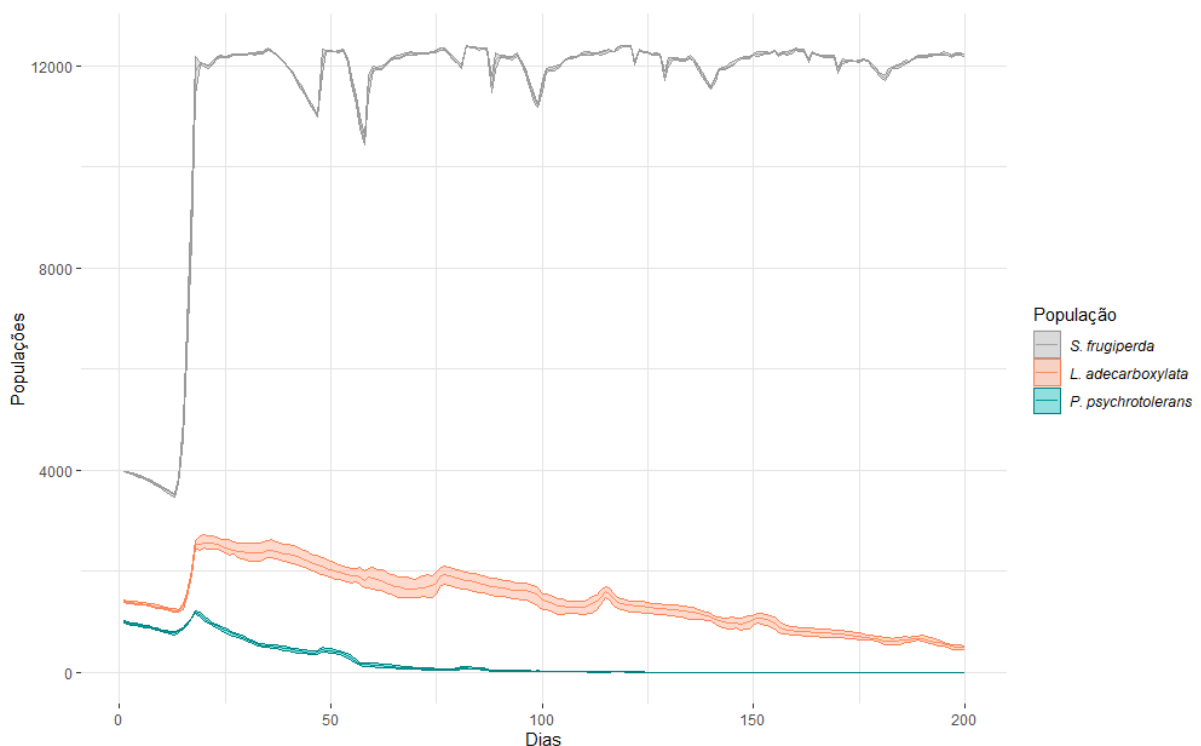
**Figura 4.** Representação das variáveis resposta (Y) e proporções dos simbiosites como uma das variáveis explanatórias (X) que serão fatores nas séries temporais para a análise de intervalo de aplicação. Simb1 = Hospedeiros de *L. adecarboxylata*; Simb2 = Hospedeiros de *P. psychrotolerans*; *S. frugiperda* = População de insetos contendo hospedeiros e apossimbiontes

## 4. RESULTADOS

### 4.1 Séries temporais

As séries temporais geradas são os resultados oriundos das simulações realizadas, apresentadas através de gráficos que demonstram mudanças das populações de *S. frugiperda* como um todo, hospedeiros de *L. adecarboxylata* e hospedeiros de *P. psychrotolerans* ao longo do tempo.

Na figura 5, a simulação considera a ausência de controle químico, demonstrando pouca variação e constante presença da população total de *S. frugiperda* próxima a capacidade de suporte. Os resultados indicam rápida extinção dos hospedeiros de *P. psychrotolerans* (Simb2), e uma queda mais suave de hospedeiros de *L. adecarboxylata* (Simb1), que também apresentam uma maior variação no número de indivíduos entre simulações.



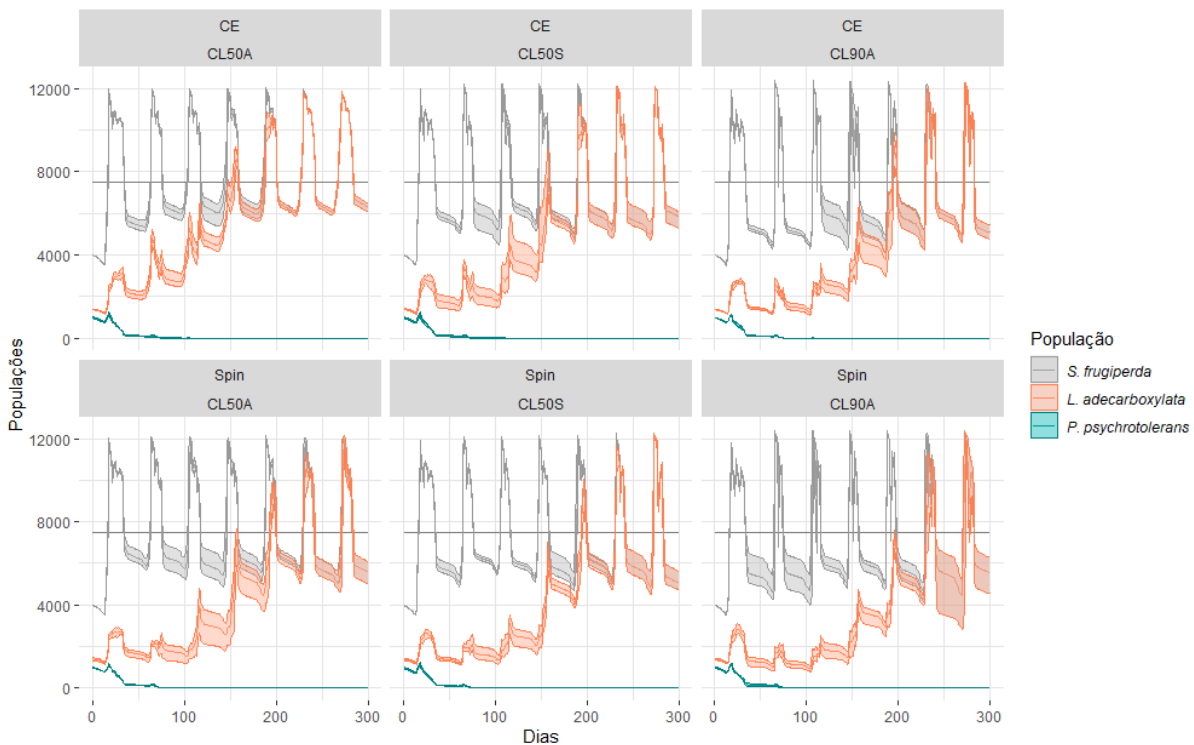
**Figura 5.** Serie Temporal Simulação Controle, média de indivíduos com variação entre simulações representadas por envelope ao longo do tempo. Simb1 = Hospedeiros de *L. adecarboxylata*; Simb2 = Hospedeiros de *P. psychrotolerans*; *S. frugiperda* = População de insetos contendo hospedeiros e apossimbiontes.

A análise visual das séries temporais da figura 6, considerou a aplicação de inseticidas levando em conta o nível de controle. Em relação ao simbiote *L. adecarboxylata*



(Simb1), observa-se crescimento ao longo do tempo, apresentando população formada completamente por hospedeiros do simbiote ao final das séries temporais. Isso ocorreu em todos os cenários, para ambos os inseticidas e em todas as concentrações. O simbiote apresentou picos de crescimento nos intervalos entre 100 e 200 dias

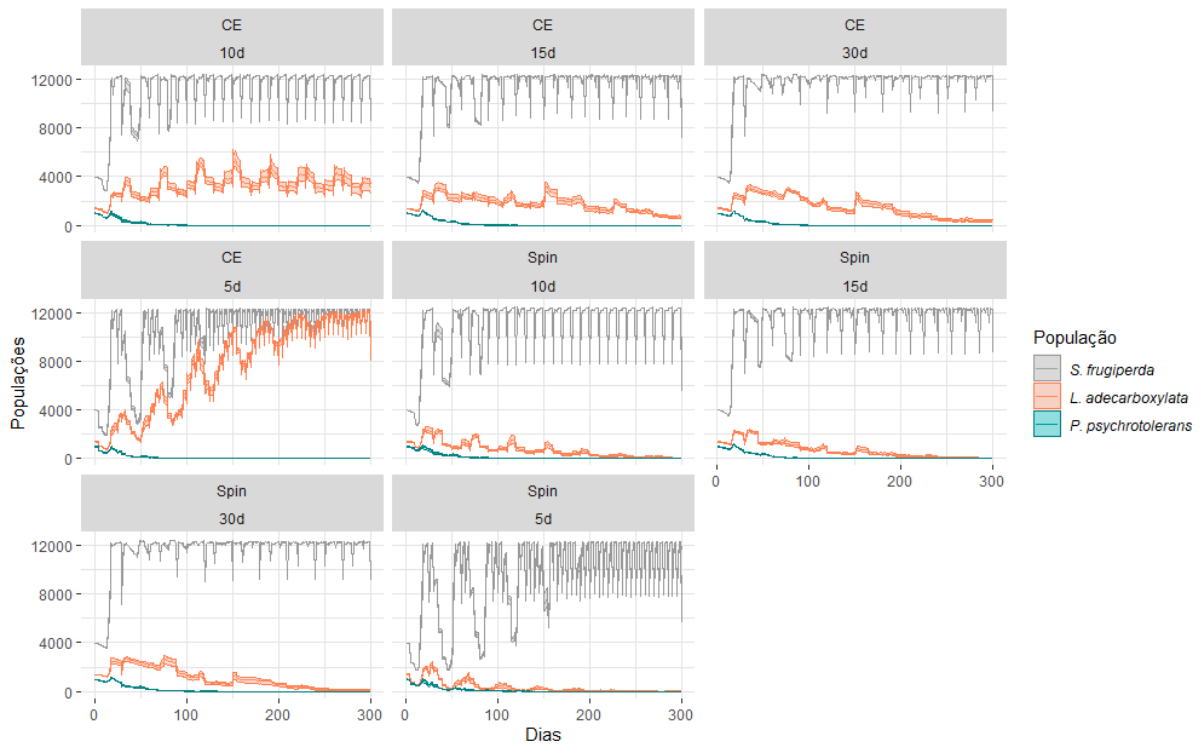
Porém, considerando a aplicação de Spinosad, não se verificou o crescimento da população de hospedeiros do simbiote *P. psychrotolerans* (Simb2), que se manteve em níveis baixos no início de todas as séries. O resultado também indica um rápido desaparecimento das populações após alguns dias, mesmo em situações em que este simbiote apresentava maior chance de sobrevivência para o inseto, como é o caso nas aplicações de Spinosad.



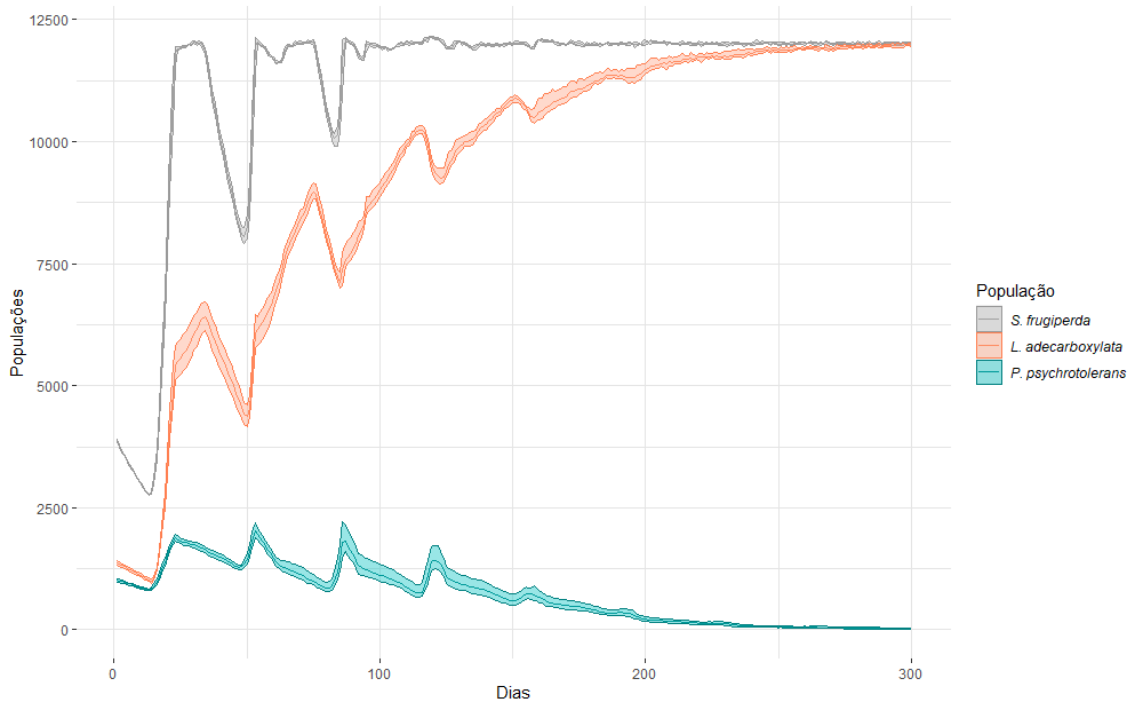
**Figura 6.** Séries Temporais Simulações tipo 2. Média de indivíduos com variação entre simulações representadas por envelope ao longo do tempo, aplicação com base no nível de controle, com diferentes concentrações. CE = chlorpyrifos ethyl; Spin = Spinosad; Simb1 = Hospedeiros de *L. adacarboxylata*; Simb2 = Hospedeiros de *P. psychrotolerans*; *S. frugiperda* = População de insetos contendo hospedeiros e apossimbiontes.

Já na figura 7, a trajetória das populações de hospedeiros do simbiote *P. psychrotolerans*, indica desaparecimento após poucos espaços de tempo, mesmo em cenários que trazem benefícios. Já a trajetória de *L. adacarboxylata* apresenta algumas diferenças. A primeira é que os simbiontes só se mantêm na população em relativa alta quantidade em pressões seletivas mais altas (10 dias e 5 dias). Apenas no cenário de aplicação a cada 5 dias

houve um crescimento significativo a ponto da população de insetos se tornar composta somente por hospedeiros, sem a presença de indivíduos apossimbiontes. A segunda diferença, é que neste cenário, a inserção de Spinosad não fez com que a população de hospedeiros de *L. adecarboxylata* crescesse significativamente na população, como esperado, uma vez que não é um cenário benéfico para seus hospedeiros.



**Figura 7.** Séries Temporais Simulações Tipo 1. Média de indivíduos com variação entre simulações representadas por envelope ao longo do tempo, aplicações com intervalos definidos. CE = chlorpyrifos ethyl; Spin = Spinosad; Simb1 = Hospedeiros de *L. adecarboxylata*; Simb2 = Hospedeiros de *P. psychrotolerans*; *S. frugiperda* = População de insetos contendo hospedeiros e apossimbiontes.



**Figura 8.** Série Temporal Simulações tipo 3. Média de indivíduos com variação entre simulações representadas por envelope ao longo do tempo, com presença constante de chlorpyrifos ethyl em baixa concentração. Simb1 = Hospedeiros de *L. adecarboxylata*; Simb2 = Hospedeiros de *P. psychrotolerans*; *S. frugiperda* = População de insetos contendo hospedeiros e apossimbiontes.

A figura 8 apresenta trajetórias obtidas através das simulações 3, em que se utilizou os próprios dados das tabelas de vida. Nessa imagem é possível observar uma menor variação da população de hospedeiros de *L. adecarboxylata*, além de seu crescimento em forma assintótica, tendendo ao limite da capacidade de suporte, que representa uma proporção maior destes hospedeiros na população total. É possível notar também que a população de hospedeiros de *P. psychrotolerans*, continua apresentando tendência a extinção.

#### 4.2 Análise de proporções

A primeira análise das proporções com modelos mistos foi realizada com as simulações tipo 1, baseada em diferentes intervalos entre aplicações, com diferentes modelos testados com os parâmetros e interações possíveis e considerando o princípio da parcimônia e de verossimilhança. O modelo escolhido apresentou interação entre pesticidas e intervalos de aplicação (LR: 426932, GL = 18,  $p < 0.01$ ), diferença entre os tipos de inseticidas (LR = 1023125, GL = 16,  $p < 0.01$ ) e diferença entre os intervalos de aplicações (LR = 856788, GL = 24,  $p < 0.01$ ).

Foram testadas também interações entre intervalo de aplicação e inseticida. Todas as combinações de intervalo de aplicação e inseticida apresentaram resultados significativamente diferentes ( $GL = 4, p < 0.01$ ), demonstrando que cada um dos tratamentos influenciou na determinação das proporções de indivíduos de cada uma das subpopulações. Essas comparações foram pareadas e são apresentadas com mais detalhes no Apêndice A, tabelas 6 e 7.

Na segunda análise, observando os testes que utilizaram o nível de controle e diferentes concentrações dos inseticidas, também foi notada a interação entre pesticidas e concentrações (LR: 1756.40,  $GL = 12, p < 0.01$ ), juntamente com diferença entre os dois inseticidas (LR = 14132,  $GL = 12, p < 0.01$ ) e entre as concentrações (LR = 15321,  $GL = 16, p < 0.01$ ).

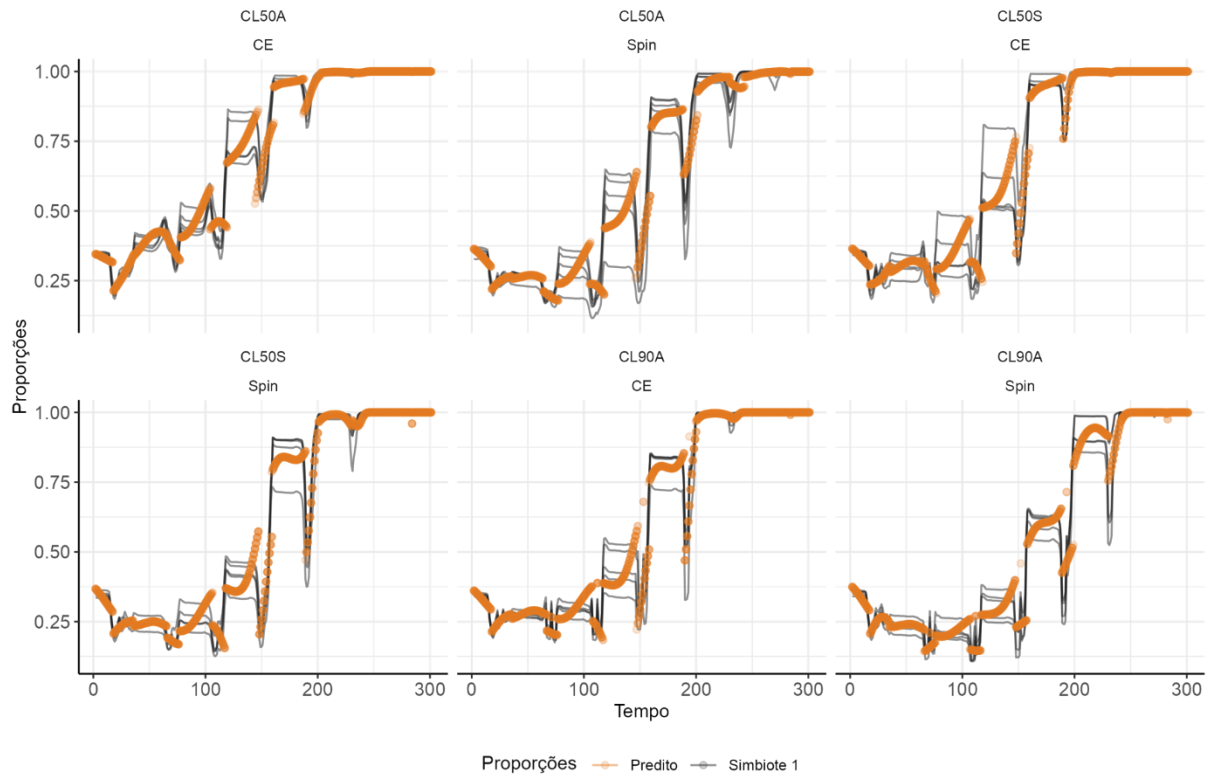
Da mesma forma, todas as combinações apresentaram diferença significativa ( $GL = 4, p < 0.01$ ), conforme as tabelas 8 e 9 no apêndice, demonstrando que cada um dos tratamentos observados, tanto os inseticidas quanto as concentrações tiveram influência nas proporções de indivíduos de cada subpopulação.

### 4.3 Análise de marcador de inseticidas

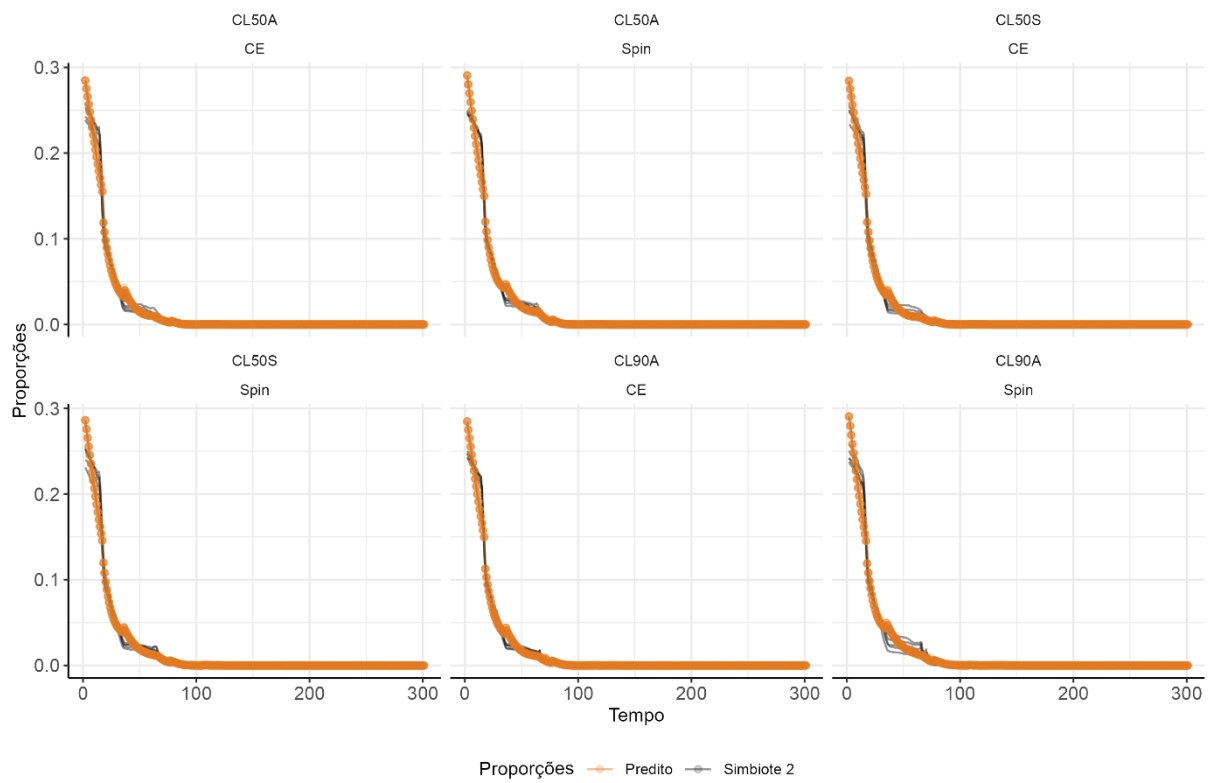
Utilizando as séries temporais, juntamente com o novo indicador de presença ou ausência da aplicação, foram testados modelos com diferentes valores de *knots*. Os modelos foram comparados através do critério de Akaike e o modelo que apresentou menor valor de AIC, foi aquele que utilizou 11 *knots* utilizando o indicador (AIC: 1914076.2), enquanto sem o indicador, o valor de AIC para 11 *knots* foi de 3244405.8. Valores mais altos de corte apresentam menor AIC, porém, não há uma diferença muito grande quando comparado com 11 cortes, além disso, para evitar *overfitting* e manter o modelo menos complexo (princípio da parcimônia) foi determinado este número de cortes.

O resultado do novo modelo pode ser observado através das figuras abaixo. As figuras contêm cada um dos tratamentos observados, assim como as proporções encontradas de cada uma das subpopulações, juntamente com a curva predita pelo modelo, que contém “saltos” que acompanham as quedas e aumentos das populações, devido a presença do

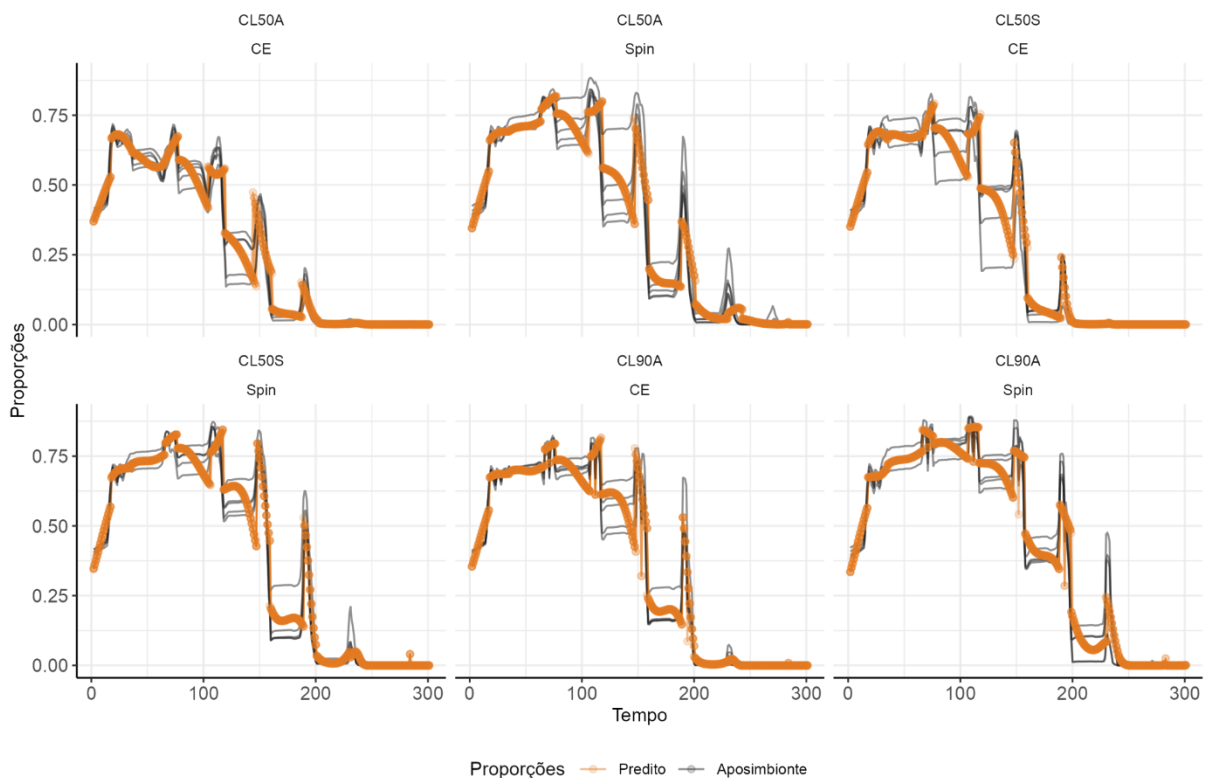
inseticida nestes intervalos. Nota-se que a indicação da presença do inseticida é necessária para que o modelo estatístico tenha melhor aderência aos dados.



**Figura 9.** Representação gráfica do modelo estatístico contendo o indicador de presença de inseticida como fator. Predito = proporções de *L. adcarboxylata* previstas pelo modelo. Simbiote 1 = proporções de *L. adcarboxylata* coletadas através das simulações. CE = chlorpirifos ethyl; Spin = Spinosad



**Figura 10.** Representação gráfica do modelo estatístico contendo o indicador de presença de inseticida como fator. Predito = proporções de *P. psychrotolerans* preditas pelo modelo. Simbiote 2= proporções de *P. psychrotolerans* coletadas através das simulações. CE = chlorpyrifos ethyl; Spin = Spinosad



**Figura 11.** Representação gráfica do modelo estatístico contendo o indicador de presença de inseticida como fator. Predito = proporções de Aposimbiontes previstas pelo modelo. Aposimbionte = proporções de aposimbiontes coletadas através das simulações. CE = chlorpyrifos ethyl; Spin = Spinosad

#### 4.4 Análise do intervalo de aplicação

Para a análise dos intervalos de aplicação, foram testados diferentes modelos mistos, considerando as variáveis resposta e fatores aleatórios. O modelo foi selecionado de acordo com o princípio da verossimilhança. No modelo escolhido, houve interação significativa entre concentração e inseticida usado (LR = 21.25, GL = 2, P-valor < 0.01), além de diferença significativa entre concentrações (LR = 178.91, GL = 4, p-valor < 0.01) e entre inseticidas (LR = 42.98, GL = 3, p-valor < 0.01).

Foram testados também, combinações pareadas dos parâmetros, testando pares de concentrações em cada um dos inseticidas, assim como as diferenças entre inseticidas em cada uma das concentrações utilizadas. Os resultados aparecem nas tabelas 10 e 11 do apêndice A. Houve diferença significativa tanto das concentrações quanto dos inseticidas utilizados, e suas diferentes combinações também geraram diferentes resultados no intervalo de aplicação (GL=1, p < 0.01). Porém, houve exceções nas concentrações letais 50 para simbiontes (LR = 0.018, GL = 1, p = 0.8985) e 90 para aposimbiontes (LR = 3.18, GL = 1, p = 0.07), nestes casos, não houve diferença entre os inseticidas utilizados.

Apesar do resultado demonstrando como as concentrações e inseticidas possuem diferentes intervalos de aplicação para que a população de insetos fique abaixo do nível de controle, o resultado não indicou diferença significativa sendo removido do modelo estatístico pelo princípio da parcimônia. Dessa forma, não foi possível confirmar a hipótese de que o aumento na presença de simbiosites ao longo do tempo interfere no intervalo de aplicação necessário para o controle da população.





## 5. DISCUSSÃO

### 5.1 Dinâmica de *Leclercia adecarboxylata*

Para facilitar a discussão, dos resultados obtidos, a influência dos simbiosites será discutida separadamente, uma vez que entre as diferentes análises e simulações, ambos apresentaram comportamentos relativamente consistentes, permitindo a discussão baseada no que foi observado em cada um.

Observando a dinâmica de *L. adecarboxylata* nos resultados obtidos, é possível constatar que este simbiote representou melhor a dinâmica de custo-benefício no modelo proposto.

Este simbiote apresentou claras desvantagens em situações em que seu custo não apresentava nenhum benefício. Além disso, exibiu presença significativa na população em cenários com a aplicação de Chlorpyrifos ethy, composto que a bactéria ajuda a degradar. O resultado ficou bem visível nas simulações tipo 1, com a diminuição dos intervalos entre aplicações 30 -> 15 -> 10 -> 5. Da mesma forma com as simulações tipo 3, com a presença do inseticida em baixa concentração, o simbiote apresenta a curva assintótica tendendo a um aumento em sua proporção, apresentando uma proporção de 1 ao fim da série temporal, demonstrando a presença de uma população somente de hospedeiros.

Este resultado também foi observado no teste 2, onde há importantes para serem discutidos neste cenário. *Leclercia adecarboxylata* teve um aumento na proporção e eventualmente todos os indivíduos da população foram considerados hospedeiros, de diferentes formas e velocidades. Contudo, ao final de cada série observada a ocupação da população foi a mesma, aparentemente independente do inseticida utilizado.

Isso trouxe um resultado inesperado, uma vez que no cenário de aplicação com base no nível de dano houve crescimento aparentemente independente do benefício, uma vez que o simbiote foi extremamente presente na população, mesmo em casos em que houve a aplicação de Spinosad, composto que essa bactéria não ajuda a degradar. Apesar de apresentar diferenças significativas entre as variáveis de concentração e inseticida, as análises demonstraram apenas que estes fatores influenciaram as proporções nos tempos observado. Porém não indicaram como esta influência ocorreu, e nem porque houve crescimento em cenários não favoráveis aos hospedeiros.

A razão mais provável para o resultado acima descrito, foi o aumento da complexidade do modelo quando comparando as simulações 1 e 2. Durante o primeiro e terceiro cenário, não havia variação em relação a aplicação dos inseticidas, sendo estes aplicados em tempos determinados no primeiro, e com a presença constante no terceiro. Já nas simulações tipo 2, devido a implementação do nível de dano para aplicação, as instâncias e intervalos de aplicação dos inseticidas se tornaram mais variáveis, levando a uma maior complexidade.

Esse aumento da complexidade do modelo pode gerar diferentes resultados quando comparado a cenários mais simples. Isso é observado em IBMs e o ideal, é de que estes aumentos na complexidade sejam claros, para que se entenda a origem das alterações dos resultados obtidos (BAVECO *et al.*, 2014). No caso deste trabalho, o aumento da complexidade não foi incremental. Além disso, outros aspectos como o nível de controle ser assumido e a ausência no modelo de certos fatores biológicos como a migração, podem influenciar o resultado.

Na natureza não é incomum a presença de relações de simbiose onde há apenas custo para um dos lados. Porém a relação assemelha-se à relação parasitária, com a transmissão horizontal permitindo o sucesso da relação (RUSSELL *et al.*, 2003; EBERT, 2013). *Leclercia adecarboxylata*, pode ocorrer com alta abundância na população devido a transmissão horizontal somada a pressão dos inseticidas, mesmo em situações de baixo benefício.

Há também outras dimensões que ajudariam a melhor representar a presença de simbioses na população. Dentre eles a estrutura espacial seria a principal para serem considerados em uma nova versão ou aprimoramento do modelo. Isso porque a espacialidade tem importância para o conceito de resistência, uma vez que áreas de refúgio podem ser utilizadas para que insetos vivam em menor pressão seletiva, fazendo com que aspectos que conferem resistência sejam menos frequentes na população (SISTERSON ET AL., 2005, CROWDER & CARRIÈRE, 2009).

Estes aspectos podem ser integrados em um modelo baseado em indivíduo, uma vez que já foram desenvolvidos IBMs para *S. frugiperda* considerando a espacialidade no modelo e sua influência sobre a resistência contra plantas Bt (GARCIA *et. al* 2016; GARCIA *et. al* 2020). Isso não só auxiliaria melhor no entendimento e representação das interações inseto-

simbionte, mas também poderia trazer implicações ao manejo de pragas através de distribuição de áreas de refúgio.

## 5.2 Dinâmica de *Pseudomonas psychrotolerans*

Similarmente ao primeiro simbionte observado *P. psychrotolerans* também apresentou resultados consistentes em todas as simulações observadas, porém, sendo sempre excluído da população, uma vez que em nenhum cenário, houve benefício o suficiente para compensar seu alto custo constitutivo. A relação de altos custos com baixo benefício é sempre citada como limitante da distribuição de certos simbioss, mesmo em situações em que os organismos deveriam trazer vantagens aos hospedeiros (DYKSTRA *et al.*, 2014; MARTINEZ *et al.*, 2017; RODITI, BOYLE & XAVIER, 2013).

Além dos fatores de transmissão e da espacialidade, outro fator que poderia mediar a dinâmica entre o simbionte e *S. frugiperda*, é o fator genético. A compatibilidade genética entre as espécies que estão interagindo pode influenciar o tipo de relação assim como seus custos (KWIATKOWSKI, ENGELSTÄDTER & VORBURGER, 2012). *Spodoptera frugiperda* apresenta uma variedade de linhagens genéticas conhecidas, cada uma caracterizada por diferentes densidades e espécies de bactérias encontradas na microbiota de indivíduos coletados em campo (OLIVEIRA *et al.*, 2022; GOMES, OMOTO & CÔNSOLI, 2020; ALMEIDA *et al.* 2017). É possível que uma melhor combinação genética entre as partes possa gerar um menor custo constitutivo, ou uma melhor eficiência na degradação do inseticida.

*Pseudomonas psychrotolerans* exibiu resultados importantes nas simulações tipo 3. Para este caso foi assumido o tratamento com inseticida em baixa densidade. Mesmo sob a presença do simbionte a relação trazia benefícios ao *fitness* neste cenário. Infelizmente a inexistência de dados impediu a realização de simulações em que as tabelas de vida fossem diferentes para indivíduos com e sem o simbionte, em concentrações baixas de Spinosad. Porém, o resultado obtido com o teste utilizando os dados para Chlorpyrifos ethy firmou-se como o cenário com maior crescimento do simbionte quando comparado com outros cenários (ver figura 8).

Há outros aspectos importantes para inserção em modelos futuros, como por exemplo processos de coinfeção. Neste caso, a desvantagem para os indivíduos que apresentam ambos os simbioss seria um pouco menor, uma vez que o custo constitutivo

para portadores do simbiote vantajoso é reduzido neste cenário. Essa condição pode levar a um efeito “carona” do segundo simbiote. Apesar do termo ter uma origem genética, o efeito carona é um efeito observável também em simbioses, já que algumas espécies são relevantes para afídeos, mostrando-se como beneficiadores ou causadores do efeito, devido a fatores e condições ambientais, ou a presença de um mutualismo envolvendo todas as partes (PENG *et al.*, 2023; CARPENTER *et al.*, 2021; DOREMUS & OLIVER, 2017).

### 5.3 Controle químico

Através dos resultados obtidos, ficou bem claro o quanto relevante os compostos químicos utilizados para o controle dos insetos podem ser nas relações inseto-simbiote. Particularmente, tanto o tipo do inseticida utilizado, quanto sua concentração e intervalos entre aplicações tiveram relevância para definir a dinâmica das proporções de hospedeiros e não hospedeiros dos simbioses estudados.

Alguns dos fatores mais importantes no que se refere à resistência em pragas, não estão diretamente relacionadas as espécies sendo controladas, e sim aos inseticidas utilizados, seja o composto e seu mecanismo de ação (SODERLUND, 2008), a concentração utilizada, o intervalo de aplicação e a exposição do inseto ao composto químico (GEORGHIOU, 1972).

O intervalo de aplicação e tempo de exposição dos insetos, foram investigados neste trabalho através de duas formas diferentes de aplicação, que são as aplicações mais pontuais com intervalos definidos e a aplicação de acordo com o nível de controle. Este pode ser um dos motivos pelo qual o crescimento do simbiote *L. adecarboxylata* foi mais consistente nos testes de nível de controle.

Já existem estudos demonstrando a presença de populações resistentes a inseticidas como Spinosad devido ao mal uso do inseticida, mais especificamente, através da aplicação com maior frequência do que o recomendado, com intervalos menores entre aplicações, levando a consequências como a resistência cruzada (BIELZA *et al.*, 2007).

O mesmo pode ser dito em relação a concentração utilizada, fator importante para a resistência em uma população, com exemplos que exploram as implicações de doses sub-letais (GUEDES; WALSE & THRONE, 2017), diferentes níveis de concentração no controle (BOLZAN *et al.*, 2019) e até mesmo implicações do uso de altas concentrações, através de estudos com modelo (HELPS; PAVELEY & BOSCH, 2017).

Porém, estes fatores não agem de forma independente, mas sim envolvem uma interação entre tempo de exposição, intervalos de aplicação e a concentração utilizada (LEITE *et al.*, 2020). Estas interações apresentam cenários mais complexos, que poderiam gerar resultados importantes, no caso de integração dos dois parâmetros no modelo desenvolvido. Efeitos como o tempo de degradação do inseticida também poderiam ser relevantes para estudos desta natureza (GUEDES; WALSE & THRONE, 2017).

Não só a interação dos parâmetros, mas a interação entre inseticidas também poderia ser observada, uma vez que é comum a mistura de diferentes compostos para o controle químico, ou integração de métodos de alternância entre compostos (BARČIĆ *et al.*, 2006), assim como a integração com outras formas de controle (AHMED *et al.*, 2022; RIVERO-BORJA *et al.*, 2018).

#### 5.4 Funcionalidade do modelo

De forma geral o modelo apresentado atendeu as demandas e ajudou a responder as perguntas levantadas pela pesquisa, levando em consideração a heterogeneidade da população em relação a distribuição dos simbiosites, assim como as diferentes características desses indivíduos, através de um modelo baseado em indivíduos (IBM), feito em uma metodologia orientada em forma de lista, onde cada linha representa um indivíduo.

A revisão de Breckling (2002), além de ajudar a classificar o modelo elaborado, também menciona alguns dos pontos negativos do uso de IBMs, como a questão do alto consumo de tempo e recursos computacionais, que são cada vez maiores conforme o número de indivíduos aumenta. Esse problema foi o principal limitador para este trabalho de forma geral, uma vez que devido as características reprodutivas do inseto utilizado como objeto de estudo, levam a um alto número de indivíduos.

Para contornar este problema e manter o foco do modelo nos principais aspectos da relação inseto-simbionte, algumas mudanças nos parâmetros do inseto foram realizadas, assim como a desconsideração de certos fatores encontrados na natureza. Fatores abióticos tais como a temperatura (RUSSELL & MORAN, 2005); a espacialidade do sistema, junto a entrada e saída de insetos com diferentes genótipos e simbiosites (BROWN & AKÇAY, 2018); e a transmissão horizontal, que são todos fatores importantes para a relação inseto-microrganismo, foram desconsideradas devido à falta de parâmetros na literatura.

Além disso, houve problemas de esforço computacional e tempo necessário para as simulações. Dessa forma, é interessante considerar quais são as alternativas para solucionar esse problema, para uso futuro do modelo. Na própria revisão de Breckling (2002) uma alternativa já é apresentada, que seria uma mudança na metodologia, para uma orientada em forma de objeto, que apresenta uma forma de armazenamento e uso de memória mais eficiente do que a forma de lista.

Uma solução eficiente para o problema poderia ser a utilização de outras linguagens computacionais, como C++ ou Python, ou até mesmo através do uso de pacotes como 'Rcpp', que permite a integração de linguagem C++ no próprio programa R, permitindo otimizar partes do modelo, sem a necessidade de alterar toda a estrutura em uma nova linguagem (EDDELBUETTEL et al., 2023). Outra opção seria o uso do pacote 'simecol', que traz opções de programação orientada a objetos, e algumas opções voltadas a IBMs também (PETZOLDT & RINKE, 2007).

## 6. CONCLUSÕES

Com o modelo desenvolvido, foi possível testar as principais hipóteses levantadas. A análise do primeiro teste de hipótese relevou que há um aumento das proporções de portadores de simbioses que apresentam um benefício suficiente para compensar seu custo constitucional. Além disso, através das análises foi possível confirmar que a intensidade da pressão seletiva, seja devido a um maior número de aplicações ou diferentes concentrações teve influência na dinâmica destas proporções.

Também foi possível testar a hipótese de que haveria uma alteração na eficiência do controle químico, através da quantidade de aplicações necessárias para o controle devido ao aumento das proporções de simbioses. E neste cenário, a hipótese não foi confirmada, uma vez que as proporções de hospedeiros e aposimbioses não tiveram influência no número de aplicações necessárias para controle dos insetos. Apesar deste resultado, as dinâmicas podem resultar em implicações ao controle de pragas, demonstrando como a presença destes endossimbioses, em conjunto com outros fatores ambientais e do hospedeiro, podem levar ao desenvolvimento de resistência contra certos produtos.

O algoritmo atendeu as principais demandas e objetivos levantados nesta pesquisa, com uma integração de conceitos teóricos e dados coletados na literatura. Isso foi possível através de experimentos, expandindo o conhecimento sobre estas dinâmicas, utilizando dados que inicialmente foram coletados e analisados em nível de indivíduos, e os aplicando em cenários populacionais.

Por fim, é importante relatar que ferramentas computacionais auxiliam estudos em cenários mais complexos, que podem ser inviáveis em estudos de campo ou laboratoriais. Por outro lado, este mesmo nível de complexidade pode acabar levando a situações em que o esforço computacional para o modelo é muito alto, juntamente com as dificuldades de definir quais variáveis estão afetando o sistema. Como demonstrado nesta pesquisa, alguns aspectos das relações inseto-simbioses, apesar de uma relação complexa, puderam ser estudados e testados em cenários populacionais.





## REFERÊNCIAS

- A MÉNDEZ, Walter *et al.* Spinosad and nucleopolyhedrovirus mixtures for control of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: noctuidae) in maize. **Biological Control**, [S.L.], v. 25, n. 2, p. 195-206, out. 2002. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/s1049-9644\(02\)00058-0](http://dx.doi.org/10.1016/s1049-9644(02)00058-0).
- AHMED, Kanwer Shahzad *et al.* Synergized Toxicity of Promising Plant Extracts and Synthetic Chemicals against Fall Armyworm *Spodoptera frugiperda* (JE Smith) (Lepidoptera: noctuidae) in pakistan. **Agronomy**, [S.L.], v. 12, n. 6, p. 1289-1302, 27 maio 2022. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/agronomy12061289>.
- ALMEIDA, Luís Gustavo de. **Simbiontes de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae): potencial biotecnológico para biorremediação e implicações na metabolização de inseticidas pelo hospedeiro**. 2013. 105 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Entomologia, Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Piracicaba, 2013. <https://doi.org/10.11606/D.11.2013.tde-22082013-111842>
- ALMEIDA, Luis Gustavo de *et al.* The gut microbiota of insecticide-resistant insects houses insecticide-degrading bacteria: a potential source for biotechnological exploitation. **Plos One**, [S.L.], v. 12, n. 3, 30 mar. 2017. Public Library of Science (PLoS). <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0174754>.
- ALMEIDA, Luís Gustavo de. **Metabolização de xenobióticos e produção de bioinseticidas por bactérias associadas a insetos**. 2018. Tese (Doutorado em Entomologia) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2018. doi:10.11606/T.11.2018.tde-11102018-102026. Acesso em: 2023-11-01.
- BARČIĆ, J. Igrc *et al.* Combinations of several insecticides used for integrated control of Colorado potato beetle (*Leptinotarsa decemlineata*, Say., Coleoptera: chrysomelidae). **Journal Of Pest Science**, [S.L.], v. 79, n. 4, p. 223-232, 30 ago. 2006. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s10340-006-0138-5>.
- BAVECO, J. M. (Hans) *et al.* Comparing population recovery after insecticide exposure for four aquatic invertebrate species using models of different complexity. **Environmental Toxicology And Chemistry**, [S.L.], v. 33, n. 7, p. 1517-1528, 9 maio 2014. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1002/etc.2605>.
- BIELZA, Pablo *et al.* Resistance to spinosad in the western flower thrips, *Frankliniella occidentalis* (Pergande), in greenhouses of south-eastern Spain. **Pest Management Science**, [S.L.], v. 63, n. 7, p. 682-687, 8 maio 2007. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1002/ps.1388>.
- BIRD, L.J.; DRYNAN, L.J.. Comparison of insecticide toxicity in adult and larval stages of *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) and *Helicoverpa armigera* (Hünber) (Lepidoptera: noctuidae). **Crop Protection**, [S.L.], v. 166, abr. 2023. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cropro.2023.106185>.
- BLANTON, Alison G.; PETERSON, Brittany F.. Symbiont-Mediated Insecticide Detoxification as an Emerging Problem in Insect Pests. **Frontiers In Microbiology**, [S.L.], v. 11, 30 set. 2020. Frontiers Media SA. <http://dx.doi.org/10.3389/fmicb.2020.547108>.
- BLOW, Frances *et al.* Impact of Facultative Bacteria on the Metabolic Function of an Obligate Insect- Bacterial Symbiosis. *Mbio*, [S.L.], v. 11, n. 4, p. 1-12, 25 ago. 2020. **American Society for Microbiology**. <http://dx.doi.org/10.1128/mbio.00402-20>.
- BOLZAN, Anderson *et al.* Selection and characterization of the inheritance of resistance of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: noctuidae) to chlorantraniliprole and cross :resistance to other diamide insecticides. **Pest Management Science**, [S.L.], v. 75, n. 10, p. 2682-2689, 25 mar. 2019. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1002/ps.5376>.
- BOSCH, Tijs J. M. van Den; WELTE, Cornelia U.. Detoxifying symbionts in agriculturally important pest insects. **Microbial Biotechnology**, [S.L.], v. 10, n. 3, p. 531-540, 12 dez. 2016. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/1751-7915.12483>.

- BOSCH, T.C.G., MILLER, D.J. (2016). Introduction: The Holobiont Imperative. In: The Holobiont Imperative. **Springer**, Vienna. [https://doi.org/10.1007/978-3-7091-1896-2\\_1](https://doi.org/10.1007/978-3-7091-1896-2_1)
- BOUCHER DH, JAMES S, KEELER KH. 1982. The ecology of mutualism. **Annu. Rev. Ecol. Syst.**
- BRECKLING, Broder. Individual-Based Modelling Potentials and Limitations. **The Scientific World Journal**, [S.L.], v. 2, p. 1044-1062, maio 2002. Hindawi Limited. <http://dx.doi.org/10.1100/tsw.2002.179>.
- BRIGHT, Monika; BULGHERESI, Silvia. A complex journey: transmission of microbial symbionts. **Nature Reviews Microbiology**, [S.L.], v. 8, n. 3, p. 218-230, mar. 2010. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1038/nrmicro2262>.
- BROWN, Alexandra; AKÇAY, Erol. Evolution of transmission mode in conditional mutualisms with spatial variation in symbiont quality. **Evolution**, [S.L.], v. 73, n. 2, p. 128-144, 20 dez. 2018. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/evo.13656>.
- BROWNLIE, Jeremy C.; JOHNSON, Karyn N.. Symbiont-mediated protection in insect hosts. **Trends In Microbiology**, [S.L.], v. 17, n. 8, p. 348-354, ago. 2009. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.tim.2009.05.005>.
- BURTET, Leonardo M et al. Managing fall armyworm, *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: noctuidae), with bt maize and insecticides in southern brazil. **Pest Management Science**, [S.L.], v. 73, n. 12, p. 2569-2577, 12 set. 2017. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1002/ps.4660>.
- CARPENTER, Melissa *et al.* Frequent Drivers, Occasional Passengers: signals of symbiont-driven seasonal adaptation and hitchhiking in the pea aphid, *acyrthosiphon pisum*. **Insects**, [S.L.], v. 12, n. 9, p. 1-37, 8 set. 2021. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/insects12090805>.
- CASTAÑEDA-MOLINA, Yuliana *et al.* Microbiome analysis of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera, Noctuidae) larvae exposed to *Bacillus thuringiensis* (Bt) endotoxins. **Peerj**, [S.L.], v. 11, 12 set. 2023. PeerJ. <http://dx.doi.org/10.7717/peerj.15916>.
- CHANG, Hong *et al.* Comparative analyses of the effects of sublethal doses of emamectin benzoate and tetrachlorantraniliprole on the gut microbiota of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: noctuidae). **Journal Of Insect Science**, [S.L.], v. 23, n. 4, 1 jul. 2023. Oxford University Press (OUP). <http://dx.doi.org/10.1093/jisesa/iead039>.
- CHAHINE, Sarah; O'DONNELL, Michael J.. Interactions between detoxification mechanisms and excretion in Malpighian tubules of *Drosophila melanogaster*. **Journal Of Experimental Biology**, [S.L.], v. 214, n. 3, p. 462-468, 1 fev. 2011. The Company of Biologists. <http://dx.doi.org/10.1242/jeb.048884>.
- CLARK, Emily L.; KARLEY, Alison J.; HUBBARD, Stephen F.. Insect endosymbionts: manipulators of insect herbivore trophic interactions?. **Protoplasma**, [S.L.], v. 244, n. 1-4, p. 25-51, 21 maio 2010. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s00709-010-0156-2>.
- CLAVÉ, Corentin et al. Physiological costs of facultative endosymbionts in aphids assessed from energy metabolism. **Functional Ecology**, [S.L.], v. 36, n. 10, p. 2580-2592, 16 ago. 2022. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/1365-2435.14157>
- DALE, Colin; MORAN, Nancy A.. Molecular Interactions between Bacterial Symbionts and Their Hosts. **Cell**, [S.L.], v. 126, n. 3, p. 453-465, ago. 2006. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cell.2006.07.014>
- DEANGELIS, Donald L.; GRIMM, Volker. Individual-based models in ecology after four decades. **F1000Prime Reports**, [S.L.], v. 6, p. 1-6, 2 jun. 2014. Faculty Opinions Ltd. <http://dx.doi.org/10.12703/p6-39>
- DILLON, R.J., e DILLON, V.M. (2004). The gut bacteria of insects: nonpathogenic interactions. **Annu. Rev. Entomol.** 49, 71–92. <http://dx.doi.org/10.1146/annurev.ento.49.061802.123416>.

- DONG, Xingchen *et al.* Pseudomonas benzopyrenica sp. nov., isolated from soil, exhibiting high-efficiency degradation of benzo(a)pyrene. **International Journal Of Systematic And Evolutionary Microbiology**, [S.L.], v. 73, n. 9, p. 0-00, 19 set. 2023. Microbiology Society. <http://dx.doi.org/10.1099/ijsem.0.006034>.
- DOREMUS, Matthew R.; OLIVER, Kerry M.. Aphid Heritable Symbiont Exploits Defensive Mutualism. **Applied And Environmental Microbiology**, [S.L.], v. 83, n. 8, p. 1-15, 15 abr. 2017. American Society for Microbiology. <http://dx.doi.org/10.1128/aem.03276-16>.
- DOUGLAS, Angela E.. Lessons from Studying Insect Symbioses. **Cell Host & Microbe**, [S.L.], v. 10, n. 4, p. 359-367, out. 2011. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.chom.2011.09.001>.
- DYKSTRA, Hannah R. et al. Factors Limiting the Spread of the Protective Symbiont Hamiltonella defensa in Aphis craccivora Aphids. **Applied And Environmental Microbiology**, [S.L.], v. 80, n. 18, p. 5818-5827, 15 set. 2014. American Society for Microbiology. <http://dx.doi.org/10.1128/aem.01775-14>.
- EBERT, Dieter. The Epidemiology and Evolution of Symbionts with Mixed-Mode Transmission. **Annual Review Of Ecology, Evolution, And Systematics**, [S.L.], v. 44, n. 1, p. 623-643, 23 nov. 2013. Annual Reviews. <http://dx.doi.org/10.1146/annurev-ecolsys-032513-100555>.
- EDDELBUETTEL D, et al. (2023). Rcpp: Seamless R and C++ Integration. R package version 1.0.11, <https://CRAN.R-project.org/package=Rcpp>.
- ENDERS, Laramy; HEFLEY, Trevor. Modeling host–microbiome interactions to improve mechanistic understanding of aphid vectored plant pathogens. **Frontiers In Ecology And Evolution**, [S.L.], v. 11, 27 set. 2023. Frontiers Media SA. <http://dx.doi.org/10.3389/fevo.2023.1251165>.
- EPA, United States Environmental Protection. Chlorpyrifos. Dez, 2022 Disponível em: <https://www.epa.gov/ingredients-used-pesticide-products/chlorpyrifos>.
- FERNÁNDEZ, María del Mar et al. Influence of microbiota in the susceptibility of parasitic wasps to abamectin insecticide: deep sequencing, esterase and toxicity tests. *Pest Management Science*, [S.L.], v. 75, n. 1, p. 79-86, 16 out. 2018. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1002/ps.5195>.
- FERREIRA, Cláudia P.; GODOY, Wesley A. C. (Ed.). **Ecological modelling applied to entomology**. Piracicaba: Springer, 2014.
- FRAGO, Enric *et al.* Insect symbionts as hidden players in insect–plant interactions. **Trends In Ecology & Evolution**, [S.L.], v. 27, n. 12, p. 705-711, dez. 2012. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.tree.2012.08.013>.
- GARCIA, Adriano G. *et al.* Predicting evolution of insect resistance to transgenic crops in within-field refuge configurations, based on larval movement. **Ecological Complexity**, [S.L.], v. 28, n. 0, p. 94-103, dez. 2016. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ecocom.2016.07.006>.
- GARCIA, Adriano G. et al. Modelling movement and stage-specific habitat preferences of a polyphagous insect pest. **Movement Ecology**, [S.L.], v. 8, n. 1, p. 1-11, 2 mar. 2020. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1186/s40462-020-00198-7>.
- GEORGHIOU, George P.. The Evolution of Resistance to Pesticides. **Annual Review Of Ecology And Systematics**, [S.L.], v. 3, n. 1, p. 133-168, nov. 1972. Annual Reviews. <http://dx.doi.org/10.1146/annurev.es.03.110172.001025>.
- GOMES, A. F. F.; OMOTO, C.; CÔNSOLI, F. L. (2020). Gut bacteria of field-collected larvae of Spodoptera frugiperda undergo selection and are more diverse and active in metabolizing multiple insecticides than laboratory-selected resistant strains. **J. Pest Sci.** v. 93, p. 833–851. doi: 10.1007/s10340-020-01202-0

- GUEDES, Raul Narciso C; WALSE, Spencer s; THRONE, James e. Sublethal exposure, insecticide resistance, and community stress. **Current Opinion In Insect Science**, [S.L.], v. 21, p. 47-53, jun. 2017. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cois.2017.04.010>.
- GULER, Muhammet; TURKOGLU, Vedat; BASI, Zehra. Determination of malation, methidathion, and chlorpyrifos ethyl pesticides using acetylcholinesterase biosensor based on Nafion/Ag@rGO-NH2 nanocomposites. **Electrochimica Acta**, [S.L.], v. 240, p. 129-135, jun. 2017. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.electacta.2017.04.069>.
- HARRISON, Robert L. Introduction to Monte Carlo Simulation. Aip Conference Proceedings, [S.L.], 2010. **AIP**. <http://dx.doi.org/10.1063/1.3295638>.
- HARRISON, Ellie *et al.* Rapidly fluctuating environments constrain coevolutionary arms races by impeding selective sweeps. **Proceedings Of The Royal Society B: Biological Sciences**, [S.L.], v. 280, n. 1764, 7 ago. 2013. The Royal Society. <http://dx.doi.org/10.1098/rspb.2013.0937>.
- HARTMANN, Aaron C. *et al.* The Paradox of Environmental Symbiont Acquisition in Obligate Mutualisms. **Current Biology**, [S.L.], v. 27, n. 23, p. 3711-3716, dez. 2017. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cub.2017.10.036>.
- HELPS, J.C.; PAVELEY, N.D.; BOSCH, F. van Den. Identifying circumstances under which high insecticide dose increases or decreases resistance selection. **Journal Of Theoretical Biology**, [S.L.], v. 428, p. 153-167, set. 2017. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jtbi.2017.06.007>.
- HENNIG, Christian. Mathematical Models and Reality: a constructivist perspective. **Foundations Of Science**, [S.L.], v. 15, n. 1, p. 29-48, 21 out. 2009. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s10699-009-9167-x>.
- HETHCOTE, Herbert W.. The Mathematics of Infectious Diseases. **Siam Review**, [S.L.], v. 42, n. 4, p. 599-653, jan. 2000. Society for Industrial & Applied Mathematics (SIAM). <http://dx.doi.org/10.1137/s0036144500371907>.
- ITOH, Hideomi *et al.* Host–symbiont specificity determined by microbe–microbe competition in an insect gut. **Proceedings Of The National Academy Of Sciences**, [S.L.], v. 116, n. 45, p. 22673-22682, 21 out. 2019. Proceedings of the National Academy of Sciences. <http://dx.doi.org/10.1073/pnas.1912397116>.
- KAECH, Heidi; VORBURGER, Christoph. Horizontal Transmission of the Heritable Protective Endosymbiont *Hamiltonella defensa* Depends on Titre and Haplotype. **Frontiers In Microbiology**, [S.L.], v. 11, 14 jan. 2021. Frontiers Media SA. <http://dx.doi.org/10.3389/fmicb.2020.628755>.
- KALTENPOTH, Martin; FLÓREZ, Laura V.. Versatile and Dynamic Symbioses Between Insects and Burkholderia Bacteria. **Annual Review Of Entomology**, [S.L.], v. 65, n. 1, p. 145-170, 7 jan. 2020. **Annual Reviews**. <http://dx.doi.org/10.1146/annurev-ento-011019-025025>
- KANNOVSKI, P. B.. Gardening Ants, the Attines. Neal A. Weber. American Philosophical Society, Philadelphia, 1972. xx, 146 pp., illus. \$8. **Memoirs of the American Philosophical Society**, vol. 92. Science, [S.L.], v. 178, n. 4063, p. 856-856, 24 nov. 1972. American Association for the Advancement of Science (AAAS). <http://dx.doi.org/10.1126/science.178.4063.856>.
- KIKUCHI, Yoshitomo *et al.* Symbiont-mediated insecticide resistance. **Proceedings Of The National Academy Of Sciences**, [S.L.], v. 109, n. 22, p. 8618-8622, 23 abr. 2012. Proceedings of the National Academy of Sciences. <http://dx.doi.org/10.1073/pnas.1200231109>.
- KWIATKOWSKI, Marek; ENGELSTÄDTER, Jan; VORBURGER, Christoph. On Genetic Specificity in Symbiont-Mediated Host-Parasite Coevolution. **Plos Computational Biology**, [S.L.], v. 8, n. 8, 30 ago. 2012. Public Library of Science (PLoS). <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pcbi.1002633>.

- KWIATKOWSKI, Marek; VORBURGER, Christoph. Modeling the Ecology of Symbiont-Mediated Protection against Parasites. **The American Naturalist**, [S.L.], v. 179, n. 5, p. 595-605, maio 2012. University of Chicago Press. <http://dx.doi.org/10.1086/665003>.
- LEITE, Suzany A. *et al.* Time-concentration interplay in insecticide resistance among populations of the Neotropical coffee leaf miner, *Leucoptera coffeella*. **Agricultural And Forest Entomology**, [S.L.], v. 23, n. 2, p. 232-241, 13 nov. 2020. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/afe.12425>.
- LI, Xianchun; SCHULER, Mary A.; BERENBAUM, May R.. Molecular Mechanisms of Metabolic Resistance to Synthetic and Natural Xenobiotics. **Annual Review Of Entomology**, [S.L.], v. 52, n. 1, p. 231-253, 1 jan. 2007. Annual Reviews. <http://dx.doi.org/10.1146/annurev.ento.51.110104.151104>.
- LV, Nannan *et al.* The gut symbiont *Sphingomonas* mediates imidacloprid resistance in the important agricultural insect pest *Aphis gossypii* Glover. **Bmc Biology**, [S.L.], v. 21, n. 1, 17 abr. 2023. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1186/s12915-023-01586-2>.
- MARTINEZ, Adam J. *et al.* Multi-modal defences in aphids offer redundant protection and increased costs likely impeding a protective mutualism. **Journal Of Animal Ecology**, [S.L.], v. 87, n. 2, p. 464-477, 5 jun. 2017. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/1365-2656.12675>.
- MONTEZANO, D.G. *et al.* Host Plants of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: noctuidae) in the americas. **African Entomology**, [S.L.], v. 26, n. 2, p. 286-300, set. 2018. Academy of Science of South Africa. <http://dx.doi.org/10.4001/003.026.0286>.
- MOON, Il-Chul; HONG, Jeong Hee. Theoretic interplay between abstraction, resolution, and fidelity in model information. **2013 Winter Simulations Conference (Wsc)**, [S.L.], p. 1283-1291, dez. 2013. IEEE. <http://dx.doi.org/10.1109/wsc.2013.6721515>.
- MURATOGLU, Hacer; DEMIRBAG, Zihni; SEZEN, Kazim. The first investigation of the diversity of bacteria associated with *Leptinotarsa decemlineata* (Coleoptera: chrysomelidae). **Biologia**, [S.L.], v. 66, n. 2, p. 288-293, 20 fev. 2011. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.2478/s11756-011-0021-6>.
- NGUYEN, Phuong Linh; VAN BAALEN, Minus. On the difficult evolutionary transition from the free-living lifestyle to obligate symbiosis. **Plos One**, [S.L.], v. 15, n. 7, 30 jul. 2020. Public Library of Science (PLoS). <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0235811>.
- OKUMA, Daniela M *et al.* Inheritance and fitness costs of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: noctuidae) resistance to spinosad in brazil. **Pest Management Science**, [S.L.], v. 74, n. 6, p. 1441-1448, 2 mar. 2018. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1002/ps.4829>.
- OLIVEIRA, Nathalia C. *et al.* Non-targeted metabolomics reveals differences in the gut metabolic profile of the fall armyworm strains when feeding different food sources. **Journal Of Insect Physiology**, [S.L.], v. 139, n. 0, p. 1-9, maio 2022. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jinsphys.2022.104400>.
- OLIVER, Kerry M. *et al.* Facultative bacterial symbionts in aphids confer resistance to parasitic wasps. **Proceedings Of the National Academy Of Sciences**, [S.L.], v. 100, n. 4, p. 1803-1807, 31 jan. 2003. Proceedings of the National Academy of Sciences. <http://dx.doi.org/10.1073/pnas.0335320100>.
- OLIVER, Kerry M *et al.* Population dynamics of defensive symbionts in aphids. **Proceedings Of The Royal Society B: Biological Sciences**, [S.L.], v. 275, n. 1632, p. 293-299, 21 nov. 2007. The Royal Society. <http://dx.doi.org/10.1098/rspb.2007.1192>.
- OLIVER, Kerry M. *et al.* Facultative Symbionts in Aphids and the Horizontal Transfer of Ecologically Important Traits. **Annual Review Of Entomology**, [S.L.], v. 55, n. 1, p. 247-266, 1 jan. 2010. **Annual Reviews**. <http://dx.doi.org/10.1146/annurev-ento-112408-085305>.

- OLIVER, Kerry M; A MORAN, Nancy; HUNTER, Martha s. Costs and benefits of a superinfection of facultative symbionts in aphids. **Proceedings Of The Royal Society B: Biological Sciences**, [S.L.], v. 273, n. 1591, p. 1273-1280, 15 fev. 2006. The Royal Society. <http://dx.doi.org/10.1098/rspb.2005.3436>.
- PENG, Linyao *et al.* Cryptic community structure and metabolic interactions among the heritable facultative symbionts of the pea aphid. **Journal Of Evolutionary Biology**, [S.L.], p. 1-19, 13 set. 2023. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/jeb.14216>.
- PERPEROGLOU, Aris *et al.* A review of spline function procedures in R. **Bmc Medical Research Methodology**, [S.L.], v. 19, n. 1, p. 0-00, 6 mar. 2019. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1186/s12874-019-0666-3>.
- PETZOLDT, T.; RINKE, K. simcol: An Object-Oriented Framework for Ecological Modeling in R. **Journal of Statistical Software**, [S. L.], v. 22, n. 9, p. 1–31, 2007. DOI: 10.18637/jss.v022.i09.
- PROWELL, Dorothy Pashley; MCMICHAEL, Margaret; SILVAIN, Jean-François. Multilocus Genetic Analysis of Host Use, Introgression, and Speciation in Host Strains of Fall Armyworm (Lepidoptera: noctuidae). **Annals Of The Entomological Society Of America**, [S.L.], v. 97, n. 5, p. 1034-1044, 1 set. 2004. Oxford University Press (OUP). [http://dx.doi.org/10.1603/0013-8746\(2004\)097\[1034:mgaohu\]2.0.co;2](http://dx.doi.org/10.1603/0013-8746(2004)097[1034:mgaohu]2.0.co;2).
- PREEDY, Katharine F. *et al.* Learning-induced switching costs in a parasitoid can maintain diversity of host aphid phenotypes although biocontrol is destabilized under abiotic stress. **Journal Of Animal Ecology**, [S.L.], v. 89, n. 5, p. 1216-1229, 30 mar. 2020. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/1365-2656.13189>.
- RAMALHO, Manuela Oliveira *et al.* Transovarian Transmission of Blochmannia and Wolbachia Endosymbionts in the Neotropical Weaver Ant *Camponotus textor* (Hymenoptera, Formicidae). **Current Microbiology**, [S.L.], v. 75, n. 7, p. 866-873, 21 fev. 2018. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s00284-018-1459-3>.
- RIOS, E.S., *et al.*, 2014. Spatial distribution of *Spodoptera frugiperda* in the wasteland of southern Pernambuco state. **Revista de Ciências Agrárias**, Belém, v. 57, n. 3, pp. 297-304. <http://dx.doi.org/10.4322/rca.ao1461>.
- RIVERO-BORJA, Maribel *et al.* Interaction of *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* with chlorpyrifos ethyl and spinosad in *Spodoptera frugiperda* larvae. **Pest Management Science**, [S.L.], v. 74, n. 9, p. 2047-2052, 9 jun. 2018. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1002/ps.4884>.
- RODITI, Laura de Vargas; BOYLE, Kerry e; XAVIER, Joao B. Multilevel selection analysis of a microbial social trait. **Molecular Systems Biology**, [S.L.], v. 9, n. 1, p. 1-12, jan. 2013. EMBO. <http://dx.doi.org/10.1038/msb.2013.42>.
- ROUSH, R T; A MCKENZIE, J. Ecological Genetics of Insecticide and Acaricide Resistance. **Annual Review Of Entomology**, [S.L.], v. 32, n. 1, p. 361-380, jan. 1987. Annual Reviews. <http://dx.doi.org/10.1146/annurev.en.32.010187.002045>.
- RUSSELL, J. A. *et al.* Side-stepping secondary symbionts: widespread horizontal transfer across and beyond the aphidoidea. **Molecular Ecology**, [S.L.], v. 12, n. 4, p. 1061-1075, 28 mar. 2003. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1046/j.1365-294x.2003.01780.x>.
- RUSSELL, A. Jacob; MORAN, A. Nancy. – A – Costs and benefits of symbiont infection in aphids: variation among symbionts and across temperatures. **Proceedings Of The Royal Society B: Biological Sciences**, [S.L.], v. 273, n. 1586, p. 603-610, 6 dez. 2005. The Royal Society. <http://dx.doi.org/10.1098/rspb.2005.3348>.
- SAHANI, Shrawan Kumar *et al.* Diversity of bacterial communities associated with the gut of the fall armyworm, *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: noctuidae) in eastern india. **Phytoparasitica**, [S.L.], v. 51, n. 3, p. 447-460, 27 abr. 2023. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s12600-023-01077-8>.

- SARMA, Priyanshu Manab *et al.* Degradation of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons by a Newly Discovered Enteric Bacterium, *Leclercia adecarboxylata*. **Applied And Environmental Microbiology**, [S.L.], v. 70, n. 5, p. 3163-3166, maio 2004. American Society for Microbiology. <http://dx.doi.org/10.1128/aem.70.5.3163-3166.2004>.
- SCARBOROUGH, Claire L. *et al.* Aphid Protected from Pathogen by Endosymbiont. **Science**, [S.L.], v. 310, n. 5755, p. 1781-1781, 16 dez. 2005. American Association for the Advancement of Science (AAAS). <http://dx.doi.org/10.1126/science.1120180>.
- SCHMID-HEMPEL, Paul. Evolutionary Ecology Of Insect Immune Defenses. **Annual Review Of Entomology**, [S.L.], v. 50, n. 1, p. 529-551, 1 jan. 2005. Annual Reviews. <http://dx.doi.org/10.1146/annurev.ento.50.071803.130420>.
- SHAO, Yongqi *et al.* Symbiont-Derived Antimicrobials Contribute to the Control of the Lepidopteran Gut Microbiota. **Cell Chemical Biology**, [S.L.], v. 24, n. 1, p. 66-75, jan. 2017. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.chembiol.2016.11.015>.
- SIDDIQUI, Junaid Ali *et al.* Role of Insect Gut Microbiota in Pesticide Degradation: a review. **Frontiers In Microbiology**, [S.L.], v. 13, 3 maio 2022. Frontiers Media SA. <http://dx.doi.org/10.3389/fmicb.2022.870462>.
- SOCHARD, Corentin *et al.* Secondary Symbionts Affect Foraging Capacities of Plant-Specialized Genotypes of the Pea Aphid. **Microbial Ecology**, [S.L.], v. 82, n. 4, p. 1009-1019, 11 mar. 2021. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s00248-021-01726-7>.
- SODERLUND, David M. Pyrethroids, knockdown resistance and sodium channels. **Pest Management Science**, [S.L.], v. 64, n. 6, p. 610-616, 28 mar. 2008. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1002/ps.1574>.
- SPARKS, Thomas C. *et al.* Resistance and cross-resistance to the spinosyns – A review and analysis. **Pesticide Biochemistry And Physiology**, [S.L.], v. 102, n. 1, p. 1-10, jan. 2012. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.pestbp.2011.11.004>.
- STEARNS, Stephen C.; SCHMID-HEMPEL, Paul. Evolutionary Insights Should Not Be Wasted. **Oikos**, [S.L.], v. 49, n. 1, p. 118-125, maio 1987. JSTOR. <http://dx.doi.org/10.2307/3565561>.
- TENDENG, E., LABOU, B., DIATTE, M., DJIBA, S. and DIARRA, K., 2019. The Fall armyworm *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith), a new pest of maize in Africa: biology and first native natural enemies detected. **International Journal of Biological and Chemical Sciences**, vol. 13, no. 2, pp. 1011-1026. <http://dx.doi.org/10.4314/ijbcs.v13i2.35>.
- TOMÉ, Maysa P. *et al.* Modeling fall armyworm resistance in Bt-maize areas during crop and off-seasons. **Journal Of Pest Science**, [S.L.], v. 96, n. 4, p. 1539-1550, 14 jul. 2022. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s10340-022-01531-2>.
- VORBURGER, Christoph. *et al.* A strain of the bacterial symbiont *Regiella insecticola* protects aphids against parasitoids. **Biology Letters**, [S.L.], v. 6, n. 1, p. 109-111, 23 set. 2009. The Royal Society. <http://dx.doi.org/10.1098/rsbl.2009.0642>.
- VORBURGER, Christoph; GANESANANDAMOORTHY, Pravin; KWIATKOWSKI, Marek. Comparing constitutive and induced costs of symbiont-conferred resistance to parasitoids in aphids. **Ecology And Evolution**, [S.L.], v. 3, n. 3, p. 706-713, 13 fev. 2013. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1002/ece3.491>.
- VORBURGER, C.; GOUSKOV, A.. Only helpful when required: a longevity cost of harbouring defensive symbionts. **Journal Of Evolutionary Biology**, [S.L.], v. 24, n. 7, p. 1611-1617, 13 maio 2011. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1420-9101.2011.02292.x>.
- WANG, Xing *et al.* *Pseudomonas rhizoryzae* sp. nov., isolated from rice. **International Journal Of Systematic And Evolutionary Microbiology**, [S.L.], v. 70, n. 2, p. 944-950, 1 fev. 2020. Microbiology Society. <http://dx.doi.org/10.1099/ijsem.0.003852>.



- WARNECKE, F., et al. (2007). Metagenomic and functional analysis of hindgut microbiota of a wood-feeding higher termite. **Nature**. V. 450, p. 560–565. doi: 10.1038/nature06269
- YU, Simon J.; ING, Robert T.. Microsomal biphenyl hydroxylase of fall armyworm larvae and its induction by allelochemicals and host plants. **Comparative Biochemistry And Physiology Part C: Comparative Pharmacology**, [S.L.], v. 78, n. 1, p. 145-152, jan. 1984. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/0742-8413\(84\)90062-8](http://dx.doi.org/10.1016/0742-8413(84)90062-8).
- YU, S.J. (2008). **Detoxification Mechanisms in Insects**. In: Capinera, J.L. (eds) Encyclopedia of Entomology. Springer, Dordrecht. [https://doi.org/10.1007/978-1-4020-6359-6\\_891](https://doi.org/10.1007/978-1-4020-6359-6_891).
- ZAYET, Souheil *et al.* Leclercia adecarboxylata as Emerging Pathogen in Human Infections: clinical features and antimicrobial susceptibility testing. **Pathogens**, [S.L.], v. 10, n. 11, p. 1399-1409, 28 out. 2021. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/pathogens10111399>.
- ZILBER-ROSENBERG, Ilana; ROSENBERG, Eugene. Role of microorganisms in the evolution of animals and plants: the hologenome theory of evolution. **Fems Microbiology Reviews**, [S.L.], v. 32, n. 5, p. 723-735, ago. 2008. Oxford University Press (OUP). <http://dx.doi.org/10.1111/j.1574-6976.2008.00123.x>.
- ZYTYNSKA, Sharon; VENTURINO, Ezio. Modelling the Role of Vector Transmission of Aphid Bacterial Endosymbionts and the Protection Against Parasitoid Wasps. **Trends In Biomathematics: Mathematical Modeling for Health, Harvesting, and Population Dynamics**, [S.L.], p. 209-230, 2019. Springer International Publishing. [http://dx.doi.org/10.1007/978-3-030-23433-1\\_15](http://dx.doi.org/10.1007/978-3-030-23433-1_15).

## APÊNDICES

**APÊNDICE A.** Tabelas de comparação par a par das variáveis respostas utilizadas nas análises de modelos mistos.

Tabela 6: Comparação par a par dos diferentes intervalos de aplicação de acordo com o inseticida utilizado, todos os pares apresentaram diferença significativa de acordo com teste-chi, com valor de  $p < 0.05$ .

Inseticida	Pares de aplicações	Resultados
Ce	10d e 15d	LR = 47552, GL = 4, $p < 0.01$
Ce	10d e 30d	LR = 77093, GL = 4, $p < 0.01$
Ce	10d e 5d	LR = 338802, GL = 4, $p < 0.01$
CE	15d e 30d	LR = 4371.6, GL = 4, $p < 0.01$
CE	15d e 5d	LR = 582787, GL = 4, $p < 0.01$
CE	30d e 5d	LR = 654151, GL = 4, $p < 0.01$
Spinosad	10d e 15d	LR = 363.28, GL = 4, $p < 0.01$
Spinosad	10d e 30d	LR = 4178.1, GL = 4, $p < 0.01$
Spinosad	10d e 5d	LR = 7005.3, GL = 4, $p < 0.01$
Spinosad	15d e 30d	LR = 6114.6, GL = 4, $p < 0.01$
Spinosad	15d e 5d	LR = 4427.4, GL = 4, $p < 0.01$
Spinosad	30d e 5d	LR = 18703, GL = 4, $p < 0.01$

Tabela 7: Comparação par a par dos diferentes inseticidas para cada tipo de aplicação, todos os pares apresentaram diferença significativa de acordo com teste-chi, com valor de  $p < 0.05$

Aplicação	Comparação entre inseticidas (CE vs Spinosad)
5d	LR = 835496, GL = 4, $p < 0.01$
10d	LR = 144145, GL = 4, $p < 0.01$
15d	LR = 37968, GL = 4, $p < 0.01$
30d	LR = 5516.2, GL = 4, $p < 0.01$

Tabela 8: Comparação par a par das diferentes concentrações de acordo com o inseticida utilizado, todos os pares apresentaram diferença significativa de acordo com teste-chi, com valor de  $p < 0.05$ .

Inseticida	Pares de concentração	Resultado
CE	CL50A e CL50S	LR = 2166.9, GL = 4, $p < 0.01$
CE	CL50A e CL90A	LR = 8328.4, GL = 4, $p < 0.01$
CE	CL50S e CL90A	LR = 2277.3, GL = 4, $p < 0.01$
Spinosad	CL50A e CL50S	LR = 399.10, GL = 4, $p < 0.01$
Spinosad	CL50A e CL90A	LR = 5917.2, GL = 4, $p < 0.01$
Spinosad	CL50S e CL90A	LR = 3698.6, GL = 4, $p < 0.01$

Tabela 9: Comparação par a par dos diferentes inseticidas para concentração utilizada, todos os pares apresentaram diferença significativa de acordo com teste-chi, com valor de  $p < 0.05$

Concentração	Comparação entre inseticidas (CE vs Spinosad)
CL50S	LR = 3097.8, GL = 4, $p < 0.01$
CL50A	LR = 6905.0, GL = 4, $p < 0.01$
CL90A	LR = 4129.6, GL = 4, $p < 0.01$

Tabela 10: Comparação par a par das concentrações para análise do intervalo de aplicação.

Inseticida	Pares de concentração	Resultados
CE	CL50A e CL50S	LR = 64.78, GL =1, p < 0.01
CE	CL50A e CL90A	LR = 100.67, GL=1, p < 0.01
CE	CL50S e CL90A	LR = 13.18, GL = 1, p < 0.01
Spin	CL50A e CL50S	LR = 8.28, GL = 1, p < 0.01
Spin	CL50A e CL90A	LR = 68.60, GL = 1, p < 0.01
Spin	CL50S e CL90A	LR = 39.28, GL=1 p < 0.01

Tabela 11: Comparação par a par dos inseticidas para análise do intervalo de aplicação.

Concentração	Comparação entre inseticidas (CE vs Spinosad)
CL50A	LR = 56.37, GL =1, p < 0.01
CL50S	LR = 0.018, GL = 1, p = 0.8985
CL90A	LR = 3.18, GL =1, p = 0.07