

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

**Toxicidade de inseticidas neonicotinóides sobre o psílideo *Diaphorina citri*  
Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae) e o parasitóide *Tamarixia radiata*  
(Waterson) (Hymenoptera: Eulophidae)**

**Stella Pacheco Lombardi de Carvalho**

**Tese apresentada para obtenção do título  
de Doutor em Ciências. Área de concentração:  
Entomologia**

**Piracicaba**

**2008**

**Stella Pacheco Lombardi de Carvalho**  
**Engenheiro Agrônomo**

**Toxicidade de inseticidas neonicotinóides sobre o psíldeo *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae) e o parasitóide *Tamarixia radiata* (Waterson) (Hymenoptera: Eulophidae)**

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

**Tese apresentada para obtenção do título de Doutor em Ciências. Área de concentração: Entomologia**

**Piracicaba**  
**2008**

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)  
DIVISÃO DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - ESALQ/USP**

Carvalho, Stella Pacheco Lombardi de

Toxicidade de inseticidas neonicotinóides sobre o psílideo *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae) e o parasitóide *Tamarixia radiata* (Waterson) (Hymenoptera: Eulophidae) / Stella Pacheco Lombardi de Carvalho.- - Piracicaba, 2008.

58 p. : il.

Tese (Doutorado) - - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, 2008.  
Bibliografia.

1. Citricultura 2. Inseticidas – Toxicidade 3. Insetos sugadores 4. Parasitóide  
I. Título

CDD 595.7

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

A DEUS, acima de tudo

**AGRADEÇO**

Ao meu marido Guilherme e ao nosso filho Raphael  
pelo amor, compreensão, companherismo, dedicação e apoio em todos os  
momentos

**DEDICO**

Aos meus pais Francisco e Regina  
e às minhas irmãs Simone, Marina e Beatriz

**OFEREÇO**

## AGRADECIMENTOS

A Deus pela vida e pelas graças alcançadas;

Ao Prof. Dr. Celso Omoto pela orientação, ajuda, oportunidades concedidas e conhecimentos transmitidos ao longo desses anos e amizade;

Ao Prof. Dr. José Roberto Postalí Parra pela oportunidade, pelos ensinamentos e pelo exemplo de dedicação e profissionalismo;

Aos demais docentes do PPG em Entomologia pelos ensinamentos;

A CAPES pela concessão da bolsa de estudo;

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) e ao Fundo de Defesa da Citricultura (FUNDECITRUS) pelo apoio financeiro para o desenvolvimento desse projeto;

Ao querido cunhado Ricardo Frigieri Crestana pela disponibilização da área para coleta dos insetos e pela amizade;

Ao grupo FISCHER S/A AGROPECUÁRIA pela liberação das áreas para a coleta de insetos, em especial aos funcionários Celso Nogueira, César Patrick Alton Bertolucci e Welci Dinardo pela ajuda;

À empresa Bayer CropScience Ltda pelo fornecimento de amostra de inseticidas para execução deste trabalho;

Aos engenheiros agrônomos Fernando Joly Campos, Samuel Martinelli, Marcelo Poletti, Nádía Fernanda B. Casarin, Everaldo Batista Alves, Cláudio Roberto Franco, Beatriz Maria

Ferrari e Eloisa Salmeron pela amizade, incentivo e colaboração na elaboração deste trabalho;

Aos estagiários do Laboratório de Resistência de Artrópodes a Pesticidas pela amizade;

Aos funcionários e ex-funcionários do Setor de Entomologia Horozino Rodrigues dos Santos “Dino”, José Carlos R. Castilho “Carlinhos”, Vitor Celso da Silva, Maria Marta C. Barella, Neide Graciano Zério, Heraldo Negri de Oliveira, Augusto César Pinheiro Florim, Solange Aparecida Vieira pela colaboração e amizade;

À Dr<sup>a</sup> Marinéia de Lara Haddad pelo auxílio nas análises estatísticas;

Aos colegas do Programa de Pós-graduação em Entomologia pela amizade e convívio durante esses anos;

Aos funcionários da Biblioteca Central da ESALQ/USP pela ajuda e serviços prestados na busca de referências bibliográficas;

Às bibliotecárias Eliana Maria Garcia e Silvia Maria Zinsly da ESALQ/USP pelo auxílio e dedicação na revisão das referências.

## SUMÁRIO

RESUMO .....	8
ABSTRACT .....	9
1 INTRODUÇÃO .....	10
2 DESENVOLVIMENTO .....	12
2.1 Revisão bibliográfica .....	12
2.1.1 Aspectos bioecológicos de <i>Diaphorina citri</i> .....	12
2.1.2 Manejo do “greening” .....	13
2.1.3 Resistência de insetos a inseticidas neonicotinóides.....	16
2.1.4 Efeitos letais e subletais de inseticidas em parasitóides.....	18
2.2 Material e métodos .....	22
2.2.1 Coleta e criação de <i>D. citri</i> em laboratório.....	22
2.2.2 Criação do parasitóide <i>T. radiata</i> .....	23
2.2.3 Suscetibilidade de <i>D. citri</i> a inseticidas neonicotinóides.....	24
2.2.4 Monitoramento da suscetibilidade de populações de <i>D. citri</i> a inseticidas neonicotinóides.....	25
2.2.5 Avaliação dos efeitos letais e subletais de inseticidas neonicotinóides sobre o parasitóide <i>T. radiata</i> .....	26
2.2.5.1 Teste de contato direto.....	26
2.2.5.2 Adultos expostos a resíduos frescos em superfícies de vidro .....	27
2.2.5.3 Teste de toxicidade em pupas.....	30
2.2.5.4 Teste de persistência dos inseticidas sobre adultos de <i>T. radiata</i> .....	31
2.3 Resultados e Discussão.....	32
2.3.1 Caracterização da suscetibilidade de <i>D. citri</i> aos inseticidas neonicotinóides.....	32
2.3.2 Monitoramento da suscetibilidade de populações de <i>D. citri</i> a inseticidas neonicotinóides.....	36
2.3.3 Avaliação dos efeitos letais e subletais de inseticidas neonicotinóides sobre o parasitóide <i>T. radiata</i> .....	38

2.3.3.1 Teste de contato direto.....	38
2.3.3.2 Adultos expostos a resíduos frescos em superfícies de vidro.....	39
2.3.3.3 Teste de toxicidade em pupas.....	42
2.3.3.4 Teste de persistência dos inseticidas sobre adultos de <i>T. radiata</i> .....	46
2.4 Considerações finais.....	48
3 CONCLUSÕES .....	50
REFERÊNCIAS .....	51



## RESUMO

### **Toxicidade de inseticidas neonicotinóides sobre o psilídeo *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae) e o parasitóide *Tamarixia radiata* (Waterson) (Hymenoptera: Eulophidae)**

Os inseticidas neonicotinóides são atualmente o principal grupo químico utilizado para o controle de insetos sugadores, constituindo-se uma boa opção para o controle de *Diaphorina citri* Kuwayama. Outra opção de controle do psilídeo tem sido a exploração do parasitóide *Tamarixia radiata* (Waterson). A compatibilidade dessas duas estratégias de controle poderia auxiliar na implementação de programas de manejo integrado de pragas na cultura do citros. No entanto, faltam estudos sobre a caracterização da suscetibilidade de *D. citri* para os inseticidas neonicotinóides e o impacto desses inseticidas sobre *T. radiata*. Sendo assim, os objetivos do trabalho foram o de caracterizar a suscetibilidade de *D. citri* a inseticidas neonicotinóides, realizar o monitoramento da suscetibilidade a esses inseticidas em populações de *D. citri* coletadas em pomares de diferentes regiões do Estado de São Paulo e avaliar os efeitos letais e subletais desses inseticidas sobre o parasitóide *T. radiata*. Os inseticidas avaliados foram: thiametoxam, thiacloprid e imidacloprid. O método de bioensaio adotado foi o de contato residual para a caracterização da suscetibilidade de *D. citri* a esses inseticidas. O monitoramento da suscetibilidade a esses inseticidas em diferentes populações de *D. citri* foi realizado com concentrações diagnósticas baseadas na concentração letal 95 (CL<sub>95</sub>) de cada inseticida. Para avaliar os efeitos letais e subletais desses inseticidas sobre *T. radiata* foram realizados bioensaios de contato direto em adultos e pupas, toxicidade residual em adultos, e persistência da atividade biológica desses inseticidas sobre a superfície de folhas de citros. Entre os neonicotinóides testados, a maior toxicidade a *D. citri* foi observado com thiametoxam, seguidos por imidacloprid e thiacloprid. Os resultados do monitoramento apresentaram diferenças significativas na suscetibilidade das populações de *D. citri* aos inseticidas neonicotinóides. Para thiametoxam, a sobrevivência estimada para as populações de *D. citri* testadas na concentração diagnóstica variou entre 5,5 e 16%, para thiacloprid variou entre 4,5 e 22,5 % e para imidacloprid entre 4 e 14%. Uma alta toxicidade desses inseticidas foi observada para adultos e pupas de *T. radiata*. No entanto, os efeitos subletais desses inseticidas a 10% da concentração recomendada sobre o estágio de pupa causou redução significativa no parasitismo somente com thiametoxam. A emergência, longevidade e razão sexual de *T. radiata* não foram afetadas pelos inseticidas avaliados. A toxicidade residual de thiametoxam, thiacloprid e imidacloprid em folhas de mudas de citros foi relativamente elevada para adultos de *T. radiata* e com persistência de pelo menos 14 dias.

Palavras-chave: Neonicotinóide; Parasitóide; Citros; *Diaphorina citri*; *Tamarixia radiata*.

## ABSTRACT

### **Toxicity of neonicotinoid insecticides on the psyllid *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae) and the parasitoid *Tamarixia radiata* (Waterson) (Hymenoptera: Eulophidae)**

The neonicotinoid insecticides are currently the main chemical group used for controlling sucking pests and represent a good option for the control of *Diaphorina citri* Kuwayama. Another control alternative of this pest is the exploitation of parasitoid *Tamarixia radiata* (Waterson). The compatibility of these control strategies could be very helpful for the implementation of integrated pest management program in citrus. However, there are few studies on the characterization of the susceptibility of *D. citri* to neonicotinoid insecticides and the evaluation of the impact of these insecticides on *T. radiata*. Therefore, the objectives of this research were to evaluate the susceptibility of *D. citri* to neonicotinoid insecticides, to monitor the susceptibility to these insecticides in *D. citri* populations collected from different citrus groves in the State of São Paulo, and to evaluate the lethal and sublethal effects of these insecticides on *T. radiata*. The insecticides evaluated in this study were: thiamethoxam, thiacloprid e imidacloprid. A residual contact bioassay was used to characterize the susceptibility of *D. citri* to these insecticides. A diagnostic concentration bioassays based on lethal concentration 95 (LC<sub>95</sub>) of each insecticide were used for monitoring the susceptibility of *D. citri* populations. The lethal and sublethal effects of these insecticides on *T. radiata* were conducted by using direct contact bioassays on adult and pupal stages of *T. radiata*, residual contact bioassays and persistence of biological activity of these insecticides on citrus leaf surface. Among the neonicotinoid insecticides tested, the highest toxicity was observed with thiametoxam, followed by imidacloprid and thiaclopid. A significant difference in the susceptibility to neonicotinoid insecticides was detected in *D. citri* populations. For thiamethoxam, the survivorship at diagnostic concentration varied from 5.5 to 16%, for thiacloprid varied from 4.5 to 22.5 %, and for imidacloprid from 4 to 14%. The toxicity of these insecticides was high to adult and pupal stages of *T. radiata*. However, the sublethal effects of these insecticides at 10% of the recommended rate on pupae stage caused the reduction of the parasitism capacity only with thiamethoxam. The emergence, longevity and sexual ratio of *T. radiata* were not affected by any insecticide tested. The residual toxicity of thiametoxam, thiacloprid and imidacloprid sprayed on citrus seedling leaves was relatively high to *D. citri* adults and lasted at least 14 days.

Keywords: Neonicotinoid; Parasitoid; Citrus; *Diaphorina citri*; *Tamarixia radiata*.

## 1 INTRODUÇÃO

A presença do psílideo *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae) nos pomares de citros no Brasil tem gerado grande preocupação nos últimos anos, com a detecção da presença da bactéria *Candidatus Liberibacter americanus*, agente causal da doença conhecida por “greening” ou Huanglongbing (HLB), nas principais regiões citrícolas do Estado de São Paulo em 2004 (TEIXEIRA 2005). Essa doença dizimou a citricultura, especialmente em países africanos e do sudoeste asiático (MARTINEZ; WALLACE 1967). Uma das alternativas de se manejar a doença é mediante o controle do vetor *D. citri*, principalmente por meio da aplicação de inseticidas, além do manejo cultural e uso de agentes de controle biológico (FUNDECITRUS, 2006).

Os inseticidas do grupo químico dos neonicotinóides apresentam-se como opção de controle de *D. citri*, uma vez que a rápida absorção desses produtos pelas plantas faz com que esses ajam rapidamente, em baixas doses, contra insetos sugadores das principais culturas (TOMIZAWA; CASIDA, 2005). Acetamiprid, imidacloprid e thiamethoxam foram testados para o controle de *D. citri* no Brasil, sendo que imidacloprid apresentou eficiência de 70% até 60 dias após a aplicação, enquanto que os demais também foram eficientes, porém com menor período residual (NAKANO; LEITE; FLORIM, 1999).

O uso constante e de maneira indiscriminada de agroquímicos, impossibilita a implementação de um programa de manejo integrado, principalmente, devido a casos de resistência de pragas a agroquímicos, além do impacto sobre os agentes de controle biológico (GEORGHIU, 1983; CROFT, 1990). Há uma grande preocupação com relação à evolução da resistência de *D. citri* a inseticidas, principalmente aos produtos do grupo dos neonicotinóides e piretróides que têm sido largamente utilizados na citricultura brasileira para o controle de outras pragas dos citros como as cigarrinhas, cochonilhas e outras (ROBERTO; YAMAMOTO, 1998; RAGA et al. 2000; YAMAMOTO et al. 2002). Casos de resistência a inseticidas neonicotinóides já têm sido documentados na literatura, como, por exemplo, em *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) com intensidade de resistência a imidacloprid superior a 100 vezes, além da possibilidade de resistência cruzada a outros neonicotinóides (ELBERT; NAUEN, 2000; NAUEN et al., 2002; RAUCH; NAUEN, 2003).

Outra opção de controle do psilídeo nos países afetados pelo “greening” tem sido a utilização dos parasitóides *Tamarixia radiata* (Waterson) (Hymenoptera: Eulophidae) e *Diaphorencyrtis aligarhensis* (Shafee, Alam and Agaral) (Hymenoptera: Encyrtidae) em programas de controle biológico clássico de *D. citri* como realizado em Taiwan (CHIEN; CHU, 1996 apud TORRES, 2006), nas ilhas Reunião, Guadalupe e Maurício (ÉTIENNE et al., 2001) e nos EUA (SKELLEY; HOY, 2004). *T. radiata* teve sua ocorrência registrada pela primeira vez nos pomares citrícolas do Estado de São Paulo no início de 2005 (TORRES et al. 2006). Entretanto, o uso de inseticidas neonicotinóides para o controle de *D. citri* na citricultura pode comprometer o sucesso do controle biológico, uma vez que a literatura relata o impacto negativo de inseticidas desse grupo químico a outros parasitóides.

O inseticida imidacloprid foi considerado tóxico a *Trichogramma platneri* Nagarkatti (Hymenoptera: Trichogrammatidae) e *Colpoclypeus florus* (Walker) (Hymenoptera: Eulophidae) em teste de contato direto (BRUNNER et al. 2001), e também a *Diadegma insulare* (Cresson) (Hymenoptera: Ichneumonidae) em testes residuais (HILL; FOSTER, 2000). Tillman (2006) relatou a alta toxicidade de acetamiprid e thiamethoxam a *Trichopoda pennipes* (Diptera: Tachinidae) também em testes residuais, entre outros.

Com o intuito de possibilitar uma integração do controle químico e o controle biológico na cultura do citros, há necessidade da avaliação do impacto dos inseticidas mais utilizados nessa cultura sobre *T. radiata*. Sendo assim, esse trabalho tem como objetivo geral prover informações que auxiliem na implementação de um programa de manejo integrado do psilídeo *D. citri* na cultura do citros, mediante a utilização de inseticidas neonicotinóides (imidacloprid, thiamethoxam e thiacloprid). Para tanto, foram realizados estudos para: a) a avaliação da suscetibilidade a inseticidas neonicotinóides em populações de *D. citri* coletadas em pomares de diferentes regiões do Estado de São Paulo; b) a avaliação da toxicidade direta de inseticidas neonicotinóides sobre a fase adulta do parasitóide *T. radiata*; c) a avaliação dos efeitos letais e subletais de inseticidas neonicotinóides sobre adultos expostos a resíduos frescos e secos; d) a avaliação dos efeitos letais e subletais desses inseticidas quando aplicados na fase de pupa do parasitóide; e e) a avaliação do efeito da persistência desses inseticidas sobre os adultos do parasitóide.

## 2 DESENVOLVIMENTO

### 2.1 Revisão bibliográfica

#### 2.1.1 Aspectos bioecológicos de *Diaphorina citri*

O psílídeo *D. citri* está presente nos pomares de citros há mais de 60 anos no Brasil (COSTA LIMA 1942). Era considerada uma praga secundária, até a primeira constatação dos sintomas da doença “greening” no Brasil, que ocorreu em março de 2004 em pomares de citros das regiões Centro e Sul do Estado de São Paulo (FUNDECITRUS, 2006).

O “greening”, também chamado Huanglongbing (HLB), é considerado a mais importante doença de citros do mundo, causada pela bactéria *Candidatus Liberibacter* spp., que vive e se desenvolve no floema das plantas, impedindo a distribuição da seiva elaborada e causando redução na produção e eventual morte das árvores (McCLEAN; SCHWARZ, 1970 apud McFARLAND; HOY, 2001; TSAI et al. 1988 apud TSAI et al. 2000). *Trioza erytreae* (Del Guercio) (Hemiptera: Triozidae) na África e *Diaphorina citri* na Ásia são os únicos vetores conhecidos que transmitem as duas formas da doença conhecidas como “greening” dos citros africano e asiático, respectivamente (HALBERT; MANJUNATH, 2004). No Brasil o vetor é *D. citri* e a presença da bactéria *Candidatus Liberibacter americanus* foi constatada em adultos desse psílídeo, em pomares contaminados no Estado de São Paulo (TEIXEIRA, 2005). As densidades populacionais mais altas de *D. citri* ocorrem no final da primavera e começo do verão. Durante o outono e o inverno a população dessa praga é baixa (YAMAMOTO et al., 2001).

Os adultos de *D. citri* medem de 2-3 mm de comprimento e têm coloração castanha e, geralmente, alimentam-se na face inferior das folhas. Os adultos saltam ou voam pequenas distâncias quando perturbados (MEAD, 2006) e podem viver de 1 a 2 meses à temperatura de 22°C (LIU; TSAI, 2000).

Os ovos são colocados em brotações novas ou nas reentrâncias das folhas e apresentam-se em forma de amêndoas e de coloração amarelo-alaranjado. O número de ovos por fêmea

depende da planta hospedeira. Quatro dias após a colocação dos ovos eclodem as primeiras ninfas, a 25 °C (TSAI; LIU, 2000).

As ninfas de *D. citri* são de coloração amarelo-alaranjada, alimentam-se exclusivamente de brotos novos e caminham lentamente. Apresentam cinco estágios ninfais muito similares. A alimentação das ninfas produz um fio encerado que direciona as secreções açucaradas ao longo de seu corpo. A taxa de sobrevivência das ninfas depende da variedade do citros (GRAFTON-CARDWELL et al., 2006).

O desenvolvimento de ovo-adulto varia de 16 a 17 dias a 25 °C e em condições ideais pode completar até 30 gerações por ano. A ótima sobrevivência dos adultos acontece em umidade próxima a 50%, mas há uma significativa sobrevivência em umidades abaixo de 7% (MCFARLAND; HOY, 2001).

Os danos ocasionados por *D. citri* são devidos à sucção de grande quantidade de seiva e produção de secreções açucaradas que cobrem as folhas e resultam em uma cobertura fuliginosa. Além disso, injetam uma toxina salivar que causa má formação nas folhas e brotações, que são prováveis locais de oviposição. O psílideo encontra-se entre os insetos associados à cultura cítrica que ocasionam severos danos indiretos (HALBERT; MANJUNATH, 2004), pois as maiores perdas nos pomares ocorrem quando está relacionado com a transmissão do “greening”. Os sintomas dessa doença incluem brotos amarelados e mosqueados, além de clorose das folhas. O mosqueamento superficial é semelhante aos sintomas de deficiência de zinco. Entretanto, o mosqueamento do “greening” não é só ao longo das veias como a deficiência de zinco, mas também nas veias cruzadas da folha. Plantas infectadas se tornam raquíticas, com poucas folhas e podem florescer fora de estação. Há morte de ramos e os frutos produzidos são pequenos, duros e abortam sementes escuras. O suco da fruta infectada tem sabor amargo. O fruto não colore uniformemente o que levou ao nome de “greening” para a doença (CAPOOR et al., 1974 apud GRAFTON-CARDWELL et al., 2006).

### **2.1.2 Manejo do “greening”**

O manejo do “greening” dos citros envolve muitos aspectos do manejo integrado de pragas (HALBERT; MANJUNATH, 2004). O manejo realizado no Brasil é semelhante ao que tem sido realizado para clorose variegada dos citros (CVC) e é baseado em três medidas

fundamentais: uso de mudas sadias, arranquio de árvores contaminadas de qualquer idade e severidade de sintomas e controle dos vetores por meio do monitoramento e aplicação de inseticidas (FUNDECITRUS, 2006). No entanto, quando o vetor e o patógeno estão presentes, o controle do psilídeo com inseticidas tem sido fundamental (TOLLEY, 1990 apud HALBERT; MANJUNATH, 2004).

O monitoramento da densidade populacional de *D. citri* pode ser feito com o uso de cartões amarelos para definir o momento para a tomada de decisão para o controle. O monitoramento também pode ser realizado pela inspeção visual de brotos novos de citros, observando-se todos os estágios de desenvolvimento do inseto ou mediante a amostragem por aspiração de adultos. Os ovos e ninfas pequenas são difíceis de serem visualizados sem o auxílio de uma lente de aumento (GRAFTON-CARDWELL et al., 2006). A verificação da presença de ninfas tem uma importância muito grande, pois os adultos provenientes de ninfas que se alimentaram de plantas infectadas podem transmitir a bactéria do “greening”, imediatamente após a emergência do adulto (XU et al. 1988 apud HALBERT; MANJUNATH, 2004). A população é considerada alta quando atinge aproximadamente três ninfas e cinco adultos por ramo (HALBERT; MANJUNATH, 2004).

Para o controle químico de *D. citri*, diversos inseticidas sistêmicos aplicados no solo, no tronco ou na parte aérea podem ser utilizados (FUNDECITRUS, 2006). Segundo Grafton-Cardwell et al. (2006), o uso de inseticidas sistêmicos granulados (por exemplo, imidacloprid) associados a inseticidas em pulverizações (neonicotinóides, piretróides e organofosforados) apresenta um resultado mais eficiente e rápido. Óleo mineral também pode ser utilizado, porém tem uma eficiência limitada.

No Brasil a eficiência dos inseticidas neonicotinóides no controle de *D. citri* tem sido reportada. Nakano et al. (1999) em experimentos em campo com o uso de neonicotinóides mostraram a eficiência de alguns neonicotinóides no controle do psilídeo. Os tratamentos e as doses utilizadas mediante pincelamento de tronco, foram: (1) Winner 100 AL (0,5 g de imidacloprid/planta); (2) Winner 100 AL (1,0 g de imidacloprid/planta); (3) Confidor 700 GrDa (35 mg de imidacloprid/L); (4) Dimetoato 500 (500 mg de dimethoate/L); (5) Winner (200 g i.a./L)(0,5 g de imidacloprid/planta); (6) Winner (1,0 g de imidacloprid/planta); (7) testemunha. Aos três dias da aplicação todos os produtos tiveram eficiência acima de 80%, com exceção do tratamento Confidor 100 AL (0,5 g de imidacloprid/planta). Confidor 700 GrDa (35 mg de

imidacloprid/L) foi o mais eficaz. Com 21 dias todos os tratamentos foram eficientes, com exceção da testemunha. No experimento em casa de vegetação, Winner (0,5 g de imidacloprid/planta) apresentou controle de cerca de 70% até 60 dias após a aplicação. Os inseticidas Saurus (0,6 g de acetamiprid/planta) e Cruiser (thiamethoxam) (2,4 g de thiamethoxam/ planta) apresentaram também boa eficiência, porém, com menor efeito residual nas concentrações utilizadas.

Roberto e Yamamoto (1998) avaliaram a eficiência de inseticidas no controle de cigarrinhas em condições de campo. Dentre os tratamentos, foram utilizados os seguintes neonicotinóides: Winner 100 AL (250 e 500 mg de imidacloprid/planta) e Confidor 700 GrDa (175 e 350 mg de imidacloprid/planta). Esses pesquisadores concluíram que para plantas de até seis anos de idade, imidacloprid foi eficiente, e o período de controle foi de até 80 dias em condições de campo.

O controle biológico do psíldeo pode ser realizado por fungos, predadores e parasitóides. Aubert (1987) relatou que os fungos entomopatogênicos *Cladosporium* sp. nr. *Oxysporum* Berk & M. A. Curtis e *Capnodium citri* Mont. podem ser o mais importante fator de mortalidade de *D. citri*. A mortalidade das ninfas foi de 60-70% quando a umidade relativa foi superior a 87,9% na Ilha Reunião.

Há dois conhecidos parasitóides primários de *D. citri*. Um eulofídeo ectoparasitóide *Tamarixia radiata* (Waterston) e um encirtídeo endoparasitóide *Diaphorencyrtus aligarhensis* (Shaffee et al.) (HALBERT; MANJUNATH, 2004). *T. radiata* é mais eficiente que *D. aligarhensis* (TANG 1989 apud HALBERT; MANJUNATH, 2004).

A utilização dos parasitóides em programas de controle biológico reduziu significativamente a população de *D. citri* em vários países como em Taiwan (CHIEN; CHU, 1996 apud TORRES, 2006), nas ilhas Reunião, Guadalupe e Maurícius (ÉTIENNE et al., 2001) e nos EUA (SKELLEY; HOY 2004). Na Ilha Reunião, o “greening” foi detectado em 1967 e se mostrou como um dos maiores obstáculos no cultivo de citros. A importação da Índia, a multiplicação e a liberação do parasitóide *T. radiata*, juntamente com a distribuição de material de propagação sadio, foi o que possibilitou o reestabelecimento da cultura nessa região (ÉTIENNE et al. 2001).

*T. radiata* se desenvolve como um ectoparasitóide idiobionte em ninfas de *D. citri*. As fêmeas colocam os ovos na face ventral das ninfas de terceiro a quinto ínstar. A larva do



parasitóide se alimenta da hemolinfa da ninfa hospedeira e no final de seu desenvolvimento fixa os restos da ninfa do psilídeo morta na superfície da planta para pupar sob essa proteção. Os adultos emergem por um círculo perfurado na região do tórax da ninfa (ÉTIENNE et al., 2001).

*T. radiata* ataca preferencialmente o 5º instar ninfal de *D. citri* (CHU and CHIEN, 1991 apud SKELLEY; HOY, 2004). A fêmea adulta se alimenta de ninfas jovens e essas ações combinadas podem destruir cerca de 500 ninfas de *D. citri* durante seu ciclo de vida (CHIEN, 1995 apud SKELLEY; HOY, 2004). *T. radiata* não ataca nenhum outro psilídeo que não seja *D. citri* (AUBERT; QUILICI, 1984 apud SKELLEY; HOY, 2004).

Muitos predadores generalistas como ácaros, crisopídeos, coccinelídeos e sirfídeos se alimentam de *D. citri* (MICHAUD, 2004). Uma espécie de *Scymnus* (Coccinellidae) que preda *D. citri* foi descrita no Brasil (GRAVENA et al. 1996). Coccinelídeos predadores são os mais importantes agentes de controle biológico de *D. citri* na Flórida (MICHAUD, 2004). Muitos coccinelídeos e crisopídeos têm sido descritos (MICHAUD, 2002), mas não há nenhuma informação que eles reduzem a população do psilídeo. Sirfídeos do gênero *Allograpta* foram encontrados na Ilha Reunião e no Nepal (AUBERT, 1987) e na Flórida (MICHAUD, 2002).

### 2.1.3 Resistência de insetos a inseticidas neonicotinóides

A descoberta dos inseticidas do grupo dos neonicotinóides foi um marco no controle químico, pois representa o principal grupo de inseticidas lançado nas últimas três décadas e tem sido o que mais cresceu no mercado desde a comercialização dos piretróides (NAUEN; BRETSCHNEIDER, 2002). Assim como a nicotina, os neonicotinóides atuam no sistema nervoso central dos insetos como agonistas da acetilcolina nos receptores nicotínicos pós-sinápticos (NAUEN et al., 2001). Mas ao contrário da nicotina, eles se mostraram seletivos dentro da Classe Insecta e não prejudiciais aos mamíferos (TOMIZADA; CASIDA, 2005).

A descoberta e a subsequente comercialização dos neonicotinóides promoveram aos produtores agrícolas uma importante ferramenta para o manejo das mais destrutivas pragas das principais culturas. Os grupos de insetos alvos dos neonicotinóides são primariamente os das Ordens Hemiptera e Coleoptera, incluindo espécies com uma longa história de resistência a produtos mais usados. Entretanto, a velocidade com que imidacloprid, precursor comercial do

grupo dos neonicotinóides, foi incorporada em estratégias de controle ao longo do mundo, causa preocupação com a evolução da resistência (NAUEN; DENHOLM, 2005).

Gorman et al. (2001) avaliaram a suscetibilidade de populações de *Trialeurodes vaporariorum* (Hemiptera: Aleyrodidae) a imidacloprid em populações coletadas em casas de vegetação no Reino Unido e não encontraram evidências de resistência. Entretanto, a resistência a imidacloprid em *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) foi detectada por Cahil et al. (1996). A  $CL_{50}$  estimada de imidacloprid para a população suscetível de referência foi 1,7 ppm e a concentração diagnóstica estabelecida para o monitoramento da resistência foi 16 ppm. Dez populações de *B. tabaci* coletadas da região da Almeria (Espanha) mostraram uma mortalidade significativamente menor na concentração diagnóstica que a população suscetível. O extensivo uso de imidacloprid foi considerado a razão pela ocorrência da resistência nessa região.

Ishaaya et al. (2005) estudaram a existência de resistência cruzada entre alguns inseticidas em populações de *B. tabaci* coletadas em diferentes regiões de Israel. Uma população de *B. tabaci* resistente a pyriproxifen coletada em Kfar Maimon foi exposta a esse inseticida por várias gerações, apresentando uma resistência de 2000 vezes, mas não apresentou resistência cruzada a acetamiprid e imidacloprid. Uma baixa resistência cruzada de 5-13 vezes foi observada ao neonicotinóide thiamethoxam. Outras duas populações coletadas em Ayalon Valley e Yesha foram expostas a thiamethoxam por 12 e 20 gerações, respectivamente. A população de Ayalon Valley apresentou razão de resistência de 600 vezes e a de Yesha de 100 vezes em relação à população suscetível de referência. No entanto, a população de Yesha não apresentou resistência cruzada a acetamiprid e imidacloprid e a de Ayalon Valley apresentou resistência de 4-6 vezes a acetamiprid e imidacloprid.

Um estudo realizado com os sinergistas butóxido de piperonila (PBO) e *S,S,S*-tributyl fosforotritioato (DEF) com bioensaio de contato residual, aumentou a atividade inseticida de acetamiprid em uma população *Plutella xylostella* L. (Lepidoptera: Plutellidae) resistente a esse inseticida, mas não na população suscetível de referência, sugerindo que as monooxigenases dependentes do citocromo P-450 e esterases tem um importante papel na resistência de *P. xylostella* a acetamiprid. Para se determinar a estabilidade da resistência, a população resistente foi criada por 7 gerações na ausência de pressão de seleção, resultando em um decréscimo na razão de resistência de 110 para 2,42 vezes, demonstrando que a resistência a acetamiprid em *P. xylostella* é instável (NINSIN; TANAKA, 2005).

Um estudo para avaliar o padrão de suscetibilidade a imidacloprid e nove outros neonicotinóides foi realizado com uma população de *Leptinotarsa decemlineata* (Say) (Coleoptera: Chrysomelidae) coletada em Long Island, New York, utilizando bioensaio de aplicação tópica. Foi encontrada uma razão de resistência de 309 vezes a imidacloprid e uma baixa resistência cruzada a outros neonicotinóides (MOTA-SANCHEZ et al., 2006).

Horowitz et. al. (2004) realizaram estudos de dinâmica da resistência em *B. tabaci* aos inseticidas neonicotinóides acetamiprid e thiamethoxam em campos de algodão de Israel, no período de 1999 a 2003. Não foi observada a resistência ao acetamiprid até 2001, um pequeno aumento de aproximadamente 5 vezes foi observado no período de 2002 a 2003. Entretanto, de 2001 a 2003 houve um aumento de mais de 100 vezes em duas regiões.

Elbert e Nauen (2000) monitorando a suscetibilidade de populações de *B. tabaci* no sul da Espanha para inseticidas comumente utilizados nessa região, detectaram um aumento da resistência a imidacloprid em populações coletadas no campo entre 1994 e 1998. Resistência cruzada entre imidacloprid e thiamethoxam foi confirmada em condições de campo.

#### **2.1.4 Efeitos letais e subletais de inseticidas em parasitóides**

Uma forma de se obter um manejo racional de pragas é proporcionar o equilíbrio ecológico entre as pragas e seus inimigos naturais, mediante estratégias que minimizem os efeitos negativos do controle químico sobre o biológico (KOGAN, 1998). Como os parasitóides são pertencentes ao terceiro nível trófico da cadeia alimentar é de fundamental importância conhecer os efeitos dos agroquímicos no contexto de interações tritróficas para que a utilização desses produtos possa ser otimizada.

O controle químico continua sendo a principal estratégia do manejo integrado de pragas. Entretanto, os efeitos letais e subletais de agroquímicos não seletivos são considerados um risco para as espécies benéficas (CROFT, 1990). O uso indiscriminado de agroquímicos também pode levar a surtos de pragas devido à ressurgência ou evolução da resistência (GEORGHIOU, 1983; CROFT, 1990).

Por um longo tempo, o método tradicional de laboratório para estimar o efeito de agroquímicos nos artrópodes benéficos foi a estimativa da dose letal ( $DL_{50}$ ) ou da concentração letal ( $CL_{50}$ ) média. Um segundo passo para avaliar os efeitos dos agroquímicos nos organismos

benéficos foi o desenvolvimento de testes de seletividade para identificar produtos com baixa atividade em organismos não-alvo. Entretanto, a seletividade era baseada em valores de  $DL_{50}$ , e os efeitos dos agroquímicos nos organismos benéficos ainda ocorriam pela falta de atenção nos efeitos subletais (DESNEUX et al. 2007). Em função do aumento da importância econômica dos organismos benéficos na agricultura e o reconhecimento das limitações associadas aos métodos tradicionais para o estudo dos efeitos subletais dos agroquímicos o número de trabalhos nessa área tem aumento bastante nos últimos anos (LITTLE, 1990).

Os efeitos subletais são definidos baseados nos efeitos fisiológicos ou comportamentais nos indivíduos que sobreviveram à exposição a um agroquímico (a dose/concentração do agroquímico pode ser letal ou subletal). A dose/concentração subletal é definida como aquela que não causa mortalidade aparente na população experimental (DESNEUX et al. 2007).

Wright e Verkerk (1995) listaram as seguintes áreas como importantes para a avaliação do efeito subletal de agroquímico sobre inimigos naturais: locomoção, consumo, parasitismo (busca, oviposição, tempo para reconhecimento), repelência, tempo de desenvolvimento, deformação, longevidade e reprodução (fecundidade, fertilidade, razão sexual).

Os testes de laboratório são o primeiro passo na avaliação do potencial de risco de um agroquímico para a fauna de artrópodes não-alvos (HASSAN, 1988, 1997). Eles são subdivididos de acordo com seus objetivos: (a) experimentos com o estágio de vida mais vulnerável (mais afetado ou mais exposto do organismo benéfico); (b) experimentos com os estágios de vida menos vulneráveis do inimigo natural; (c) experimentos de avaliação da duração da atividade prejudicial do produto (persistência); e (d) experimentos laboratoriais ampliados.

Brunner et al. (2001) estudaram o efeito letais de inseticidas em dois parasitóides *Trichogramma platneri* Nagarkatti (Hymenoptera: Trichogrammatidae) e *Colpoclypeus florus* (Walker) (Hymenoptera: Eulophidae) e os resultados obtidos mostraram que imidacloprid e abamectin foram altamente tóxicos quando aplicados topicamente, entretanto não apresentaram toxicidade em resíduos foliares um dia após a aplicação.

Hill e Foster (2000) conduziram um estudo para avaliar a toxicidade de inseticidas ao adulto de *Diadegma insulare* (Cresson) (Hymenoptera: Ichneumonidae) e seu hospedeiro *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae). Os inseticidas imidacloprid, permethrin, carbaryl e spinosad foram muito tóxicos ao parasitóide em testes residuais.

Um estudo realizado para avaliar a suscetibilidade de *Nezara viridula* (Heteroptera: Pentatomidae) e o parasitóide *Trichopoda pennipes* (Diptera: Tachinidae) a diferentes inseticidas foi conduzido por Tillman (2006). Indoxacarb, acetamiprid e thiamethoxam foram muito tóxicos ao parasitóide quando alimentados com solução (água/açúcar) contendo esses compostos. Em testes residuais thiamethoxam foi altamente tóxico a *T. pennipes* enquanto que acetamiprid foi moderadamente tóxico, assim como para *Podisus maculiventris* (Heteroptera: Pentatomidae) (TILLMAN; MULLINIX 2004).

Williams et al. (2002) avaliaram a toxicidade residual de diferentes inseticidas ao parasitóide de ovos *Anaphes iole* (Hymenoptera: Mymaridae). Imediatamente após o tratamento, resíduos da maioria dos inseticidas testados (acefate, cyflutrina, lambda-cyhalothrin, imidacloprid, thiamethoxam, spinosad, fipronil e oxamyl) resultaram em menos de 3% de sobrevivência. A sobrevivência dos adultos expostos a oxamyl, imidacloprid, indoxacarb e acefate aumentou consideravelmente uma semana após o tratamento, com aproximadamente 50% de sobrevivência em menos de 5 dias. Os inseticidas thiamethoxam e lambda-cyhalothrin apresentaram 50% de sobrevivência no período entre 5 e 11 dias.

Schuld e Schmuck (2000) avaliaram os efeitos subletais do inseticida thiacloprid quando aplicados sobre as fases imaturas *Trichogramma cacoeciae* Marchal (Hymenoptera: Trichogrammatidae) em condições de casa de vegetação e de campo. Nos testes em casa de vegetação, thiacloprid pulverizado em ovos parasitados por *T. cacoeciae* afetaram significativamente a emergência dos adultos do parasitóide, provocando reduções entre 35-49%. Entretanto, baseado nos estudos de campo esses autores concluíram que o uso desse inseticida não influenciou os parâmetros porcentagem de emergência, longevidade dos adultos e número de ovos parasitados durante a vida do parasitóide. Atribuindo essa ausência de impacto do inseticida no parasitóide, pela degradação dos resíduos desse produto por fatores como a radiação solar, precipitação, variação de temperatura e umidade do ar.

Efeitos subletais de inseticidas no parasitóide *Aphytus melinus* (Hymenoptera: Aphelinidae) foram avaliados por Rosenheim e Hoy (1988). Esse parasitóide foi exposto a  $CL_{50}$ s dos inseticidas carbaryl, chlorpyrifos, dimethoate, malation e methidathion. A exposição a carbaryl não apresentou efeitos subletais nesse inseto. Entretanto, os demais produtos reduziram a longevidade em até 85%, causando uma temporária redução na produção de descendentes. Chlorpyrifos alterou a razão sexual dos descendentes, para mais machos. Em consequência dos

efeitos subletais encontrados nesse trabalho, os autores ressaltam a importância da avaliação desses parâmetros na escolha do agroquímico a ser utilizado.

Krespi et al. (1991) avaliaram o efeito dos inseticidas deltamethrin,  $\lambda$ -cyhalothrin e dimethoate no ciclo de vida do parasitóide *Aphidius uzbekistanicus* (Hymenoptera: Aphidiidae), quando expostos em diferentes fases do seu desenvolvimento. Os inseticidas influenciaram a longevidade média dos adultos. Dimethoate foi o único tratamento que afetou a fecundidade média. Os três tratamentos afetaram o número de fêmeas produzidas, mais ou menos, variando com a fase do inseto que foi exposta.

A suscetibilidade dos parasitóides *Diadegma insulare* (Hymenoptera: Ichneumonidae) e *Oomyzus sokolowskii* (Hymenoptera: Eulophidae) foi avaliada para oito inseticidas por Cordero et al. (2007), utilizando bioensaio de contato residual. Esfenvalerate, methomyl, acephate, spinosad, indoxacarb e emamectin benzoate foram considerados os mais tóxicos causando 100% mortalidade a *D. insulare* ou a *O. sokolowskii* ou a ambos após 72 h da exposição. O inseticida acetamiprid foi considerado menos tóxico que os anteriormente citados, entretanto, causou 77% de mortalidade de *D. insulare* e 91% de mortalidade de *O. sokolowskii*.

Symington (2003) avaliou o efeito de sete inseticidas na pupação, emergência e mortalidade sobre *Orgilus lepidus* (Hymenoptera: Braconidae), quando expostos a esses produtos na fase de pré-pupa, visando à segurança no uso desses produtos em programas de MIP. Endosulfan, methamidophos e permethrin foram considerados como inadequados. Difenconazole, imidacloprid, pirimicarb, e thiodicarb não interferiram nos parâmetros avaliados sendo considerados adequados para o MIP.

Bastos et al. (2006) avaliaram o efeito de 21 agroquímicos incluindo inseticidas, fungicidas, herbicidas e reguladores de crescimento sobre *Trichogramma pretiosum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) em dois hospedeiros (*Sitotroga cerealella* (Lepidoptera: Gelechiidae) e *Ephestia kuehniella* (Lepidoptera: Pyralidae)), quando expostos na fase imatura e adulta a esses produtos. Esses autores relataram diferenças na toxicidade dos agroquímicos de acordo com o hospedeiro utilizado para o desenvolvimento do parasitóide.

A seletividade de 13 agroquímicos utilizados na citricultura para o controle do bicho-furão-dos-citros foi avaliada por Matos (2008) em *Trichogramma atopovirilia* Oatman & Platner, mediante bioensaio de exposição de adultos a resíduos frescos. Todos os produtos (incluindo o neonicotinóide imidacloprid) reduziram o parasitismo de *T. atopovirilia*. O tratamento

imidacloprid apresentou uma redução de 93,6%, sendo o que mais influenciou negativamente esse parâmetro.

## **2.2 Material e métodos**

O projeto de pesquisa foi desenvolvido no “Laboratório de Resistência de Artrópodes a Pesticidas” do Departamento de Entomologia, Fitopatologia e Zoologia Agrícola da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, SP, no período de março de 2006 a dezembro de 2007.

### **2.2.1 Coleta e criação de *D. citri* em laboratório**

Para a caracterização da suscetibilidade de *D. citri* aos inseticidas neonicotinóides foi utilizada uma população do psíldeo coletada em pomar da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” – Piracicaba – SP em 2005, sem histórico de pulverizações de agroquímicos, além de estar isolado de outros pomares de citros. Essa população foi considerada a suscetível de referência.

A coleta de populações de *D. citri* em pomares comerciais de citros foi realizada utilizando-se diferentes procedimentos de captura dos insetos. Mediante expedições em campo foram utilizados desde a coleta de ramos com formas imaturas do psíldeo até a coleta de adultos com rede entomológica e equipamento de sucção RYOBI® modelo 310 BVr (YAMAMOTO et al., 2001; SKELLEY; HOY, 2004). Em cada pomar amostrado foram coletados 200 a 500 psíldeos.

Populações de *D. citri* coletadas em campo foram multiplicadas no laboratório em plantas de murta *Murraya paniculata* (L.), seguindo metodologia adaptada de Tsai e Liu (2000) e Skelley e Hoy (2004). As plantas de murta foram cultivadas em recipientes plásticos contendo mistura de substrato vegetal (Plantmax) e terra, com volume de 0,5 L. As diferentes populações de *D. citri* foram criadas em gaiolas teladas (dimensões de 30 × 30 × 50 cm) (Figura 1A). Estas

gaiolas foram mantidas em salas climatizadas à temperatura de  $27 \pm 2$  °C, umidade relativa de  $70 \pm 10$  % e fotofase de 14 h.

Para a manutenção de cada população foram utilizadas de 3 a 6 gaiolas. Em cada gaiola foi mantida uma fase específica de desenvolvimento do inseto (ovo, ninfas ou adultos). Aproximadamente 400 adultos de *D. citri* foram mantidos como matrizes para a criação em outra gaiola. A manipulação dos adultos de *D. citri* foi realizada com o auxílio de uma bomba de vácuo ligada por uma mangueira de silicone (5 mm de diâmetro) a uma borracha usada como tampa de um frasco de vidro (8 cm × 2,5 cm), a qual possuía uma outra mangueira para a sucção dos insetos (Figuras 1B e 1C). Para estimular brotações novas, as plantas de *M. paniculata* eram submetidas a procedimentos de poda dos meristemas apicais e ramos mais altos associado a adubações nitrogenadas, plantas com brotações novas eram colocadas semanalmente nas gaiolas matrizes.

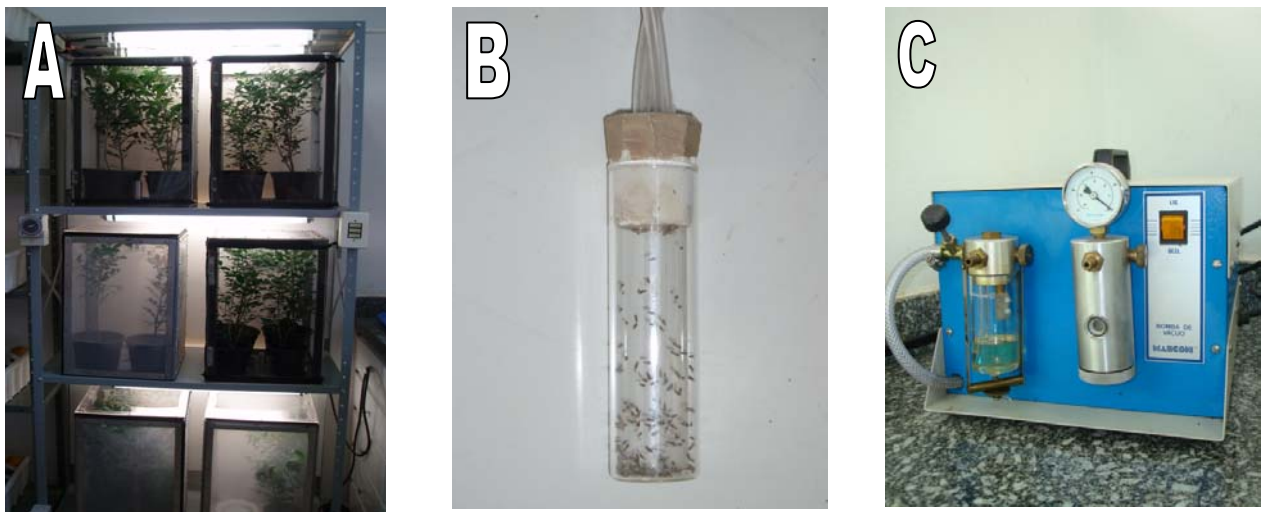


Figura 1 – (A) Vista geral da criação de *D. citri*; (B) Succionador de partículas usado para manipulação de *D. citri*; (C) Bomba de vácuo;

### 2.2.2 Criação do parasitóide *T. radiata*

Uma população do parasitóide *T. radiata* foi obtida da criação do Laboratório de Biologia de Insetos, do Departamento de Entomologia, Fitopatologia e Zoologia Agrícola, da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Piracicaba/SP. Os parasitóides foram criados



sobre o hospedeiro *D. citri*, nas mesmas condições descritas no item 2.2.1 seguindo metodologia adaptada de Skelley e Hoy (2004). Aproximadamente 9 adultos de *T. radiata* eram liberados na razão 2 fêmeas:1 macho em gaiolas com vasos de plantas de murta contendo ninfas de 4<sup>o</sup> e 5<sup>o</sup> instar de *D. citri*. Para a alimentação dos adultos do parasitóide foi fornecido gotículas de mel colocadas no interior das gaiolas. Aproximadamente 6 dias após a liberação dos parasitóides, as plantas com ninfas parasitadas eram transferidas para uma nova gaiola até a emergência do adulto. Estas gaiolas foram mantidas em salas climatizadas à temperatura de  $27 \pm 2$  °C, umidade relativa de  $70 \pm 10$  % e fotofase de 14 h.

### **2.2.3. Suscetibilidade de *D. citri* a inseticidas neonicotinóides**

Os inseticidas utilizados para avaliar a suscetibilidade de populações de *D. citri* foram: thiamethoxam (Actara 250 WG (250 g de ingrediente ativo por kg – granulado dispersível) - Syngenta Proteção de Cultivos Ltda), thiacloprid (Calypso (480 g de ingrediente ativo por litro – suspensão concentrada) - Bayer CropScience Ltda e imidacloprid (Confidor 700 GrDa (700 g de ingrediente ativo por kg – granulado dispersível) - Bayer CropScience Ltda). Esses inseticidas foram escolhidos por serem recomendados para o controle de diversas pragas na cultura do citros e utilizados em pulverizações foliares.

O bioensaio utilizado para a caracterização da suscetibilidade aos inseticidas neonicotinóides foi de contato residual. Esse método de bioensaio foi realizado mediante a pulverização do inseticida em arenas de 3,3 cm de diâmetro confeccionadas com folhas de laranjeira da variedade Pêra Rio. As arenas foram mantidas sobre algodão umedecido até a pulverização do produto. A aplicação foi feita sobre a superfície abaxial dos discos de folha mediante o uso de torre de pulverização de Potter (Burkard Manufacturing, Rickmansworth Herts, Reino Unido) calibrada à pressão de 10 psi (68,95 kPa). Foi utilizado um volume de 2 mL de solução em cada pulverização, obtendo-se uma deposição média de resíduo úmido de 1,56 mg/cm<sup>2</sup> sobre as arenas. Após a pulverização, as arenas foram transferidas sobre o algodão umedecido até a secagem do produto. Em seguida, as arenas foram acondicionadas em placas acrílicas de 3,5 cm de diâmetro (Falcon 1008, Becton Dickinson Labware, Lincoln Park, NJ, Estados Unidos) contendo 1 mL de uma mistura ainda não geleificada de ágar-água na

concentração de 2% (adaptado de Barber et al. 1999). Cada arena foi infestada com 10 psilídeos adultos, os quais foram previamente anestesiados com CO<sub>2</sub>, facilitando assim sua manipulação. Em seguida as placas foram tampadas e mantidas invertidas.

Os conjuntos de bioensaios foram mantidos em câmara climatizada à temperatura de 25 ± 1°C, umidade relativa de 70 ± 10% e fotofase de 14 h. A avaliação da mortalidade foi realizada 24 h após a pulverização. Para a avaliação da mortalidade, os psilídeos foram dispostos com a parte inferior voltada para cima e aqueles que não responderam com movimentos vigorosos e não conseguiram voltar à posição normal e andar, foram considerados mortos.

Para a caracterização da suscetibilidade de *D. citri* aos inseticidas neonicotinóides, o delineamento experimental adotado foi inteiramente casualizado. Para cada inseticida, foram utilizadas cinco concentrações espaçadas logaritmicamente e que proporcionaram mortalidade entre 5 e 99%. Cada concentração foi repetida cinco vezes, sendo que cada repetição foi constituída por quatro placas de bioensaio por concentração. Os dados de mortalidade para a população de referência foram submetidos à análise de Probit utilizando o programa POLO-PC (LEORA SOFTWARE, 1987). A partir da curva de concentração-resposta da população suscetível para cada produto, a CL<sub>50</sub> foi estimada e definida as concentrações diagnósticas baseadas na CL<sub>95</sub> para os trabalhos de monitoramento da suscetibilidade de populações de *D. citri* a esses inseticidas.

#### **2.2.4 Monitoramento da suscetibilidade de populações de *D. citri* a inseticidas neonicotinóides**

A suscetibilidade das populações de *D. citri* coletadas em pomares de diferentes regiões citrícolas do Estado de São Paulo (Quadro 1) para os inseticidas neonicotinóides foi avaliada mediante bioensaios de concentrações diagnósticas. A coleta e a criação das populações avaliadas foram realizadas conforme metodologia descrita em 2.2.1. As concentrações diagnósticas utilizadas foram 20,3 mg de thiamethoxam/L de água, 183 mg de thiacloprid/L de água e 41,6 mg de imidacloprid/L de água que foram definidas a partir da caracterização inicial da curva de concentração-mortalidade da linhagem suscetível de *D. citri* para esses três inseticidas (item 2.2.3).

O delineamento experimental adotado foi inteiramente casualizado. Para cada concentração testada, os bioensaios foram repetidos cinco vezes, sendo que cada repetição foi constituída por quatro placas de bioensaio por concentração e duas placas na testemunha (pulverização com água destilada), totalizando-se 200 insetos por concentração. Os dados de porcentagem de sobrevivência ( $x$ ) nas concentrações diagnósticas de cada inseticida foram transformados por  $\arcsen\left(\sqrt{x/100}\right)$  submetidos à análise de variância e teste Tukey para a comparação entre as médias de sobrevivência ds populações das diferentes regiões citrícolas do Estado de São Paulo. As análises foram realizadas com o programa estatístico SAS System for Windows versão 9.1. O nível de significância dos testes foi de  $\alpha= 0,05$ .

Cidade	Local	Data de coleta (mês/ano)
Anhembi	Fazenda Redenção	05/07
Barretos	Fazenda Califórnia	07/07
Pirassununga	Fazenda Cantareira	09/07

Quadro 1 – Procedência e data de coleta das populações de *Diaphorina citri* em pomares de citros do Estado de São Paulo

## 2.2.5 Avaliação dos efeitos letais e subletais de inseticidas neonicotinóides sobre o parasitóide *T. radiata*

### 2.2.5.1 Teste de contato direto

O bioensaio utilizado para a avaliação do efeito dos inseticidas neonicotinóides aplicados diretamente sobre a fase adulta de *T. radiata* foi de contato direto (adaptado de BRUNNER et al. 2001). Cinco fêmeas de *T. radiata* com 48 h de vida foram selecionadas aleatoriamente da colônia, anestesiadas com CO<sub>2</sub>, colocadas em um pedaço de papel de filtro (11 cm de diâmetro) e transferidas para pulverização em torre de Potter (Burkard, Rickmansworth, UK) a 6 psi. Os inseticidas e as concentrações utilizadas foram thiamethoxam (2,5 e 25 ppm),

thiacloprid (4,8 e 48 ppm) e imidacloprid (3,5 e 35 ppm), valores correspondentes a 10 e 100% da concentração recomendada para cultura do citros. Um volume de 2 mL da solução de cada concentração de inseticida foi utilizada em cada pulverização. Os insetos foram imediatamente transferidos para um tubo de vidro de 2,5 cm de diâmetro por 8 cm de altura, com auxílio de um fino pincel, fechados com uma tampa telada. Para a alimentação dos parasitóides, uma gota de mel foi colocada na tampa. A avaliação da mortalidade foi realizada 24 h após a pulverização.

Os bioensaios foram mantidos em câmara climatizada à temperatura de  $25 \pm 1^\circ\text{C}$ , umidade relativa de  $70 \pm 10\%$  e fotofase de 14 h.

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado. Quinze repetições foram feitas, sendo que cada repetição foi constituída de um tubo de vidro com 5 fêmeas. Os dados de porcentagem de mortalidade ( $y$ ) de cada tratamento foram transformados por  $\text{arc sen}(\sqrt{y/100})$  e submetidos à análise de variância e teste Tukey para a comparação entre as médias dos tratamentos. As análises foram realizadas com o programa estatístico SAS System for Windows versão 9.1. O nível de significância dos testes foi de  $\alpha = 0,05$ .

#### **2.2.5.2 Adultos expostos a resíduos frescos em superfícies de vidro**

O método de bioensaio utilizado neste trabalho foi uma adaptação da metodologia de bioensaio utilizada para o parasitóide *Trichogramma cacoeciae* apresentada por Hassan (1994) e adaptada por Rocha e Carvalho (2004). Foi utilizada a fase adulta de *T. radiata*, correspondente ao estágio de desenvolvimento mais sensível a inseticidas em parasitóides.

As concentrações e os produtos fitossanitários testados foram 25 mg de thiamethoxam/L de água, 48 mg de thiacloprid/L de água e 35 mg de imidacloprid/L de água e um tratamento controle foi feito com a pulverização de água destilada. Essas concentrações correspondem às recomendações comerciais dos inseticidas para a cultura do citros.

Os parasitóides foram expostos a superfícies de vidros recém-pulverizadas em torre de Potter com 1,5 mg de resíduo úmido por  $\text{cm}^2$  de área. Gaiolas de exposição utilizadas foram confeccionadas em armação de alumínio de 13 cm de largura  $\times$  13 cm de comprimento  $\times$  2 cm de altura, com 1 cm de espessura. Três lados de cada gaiola apresentavam 6 furos de 1 cm de diâmetro cada para ventilação os quais foram fechados internamente utilizando-se tecido de

algodão de coloração preta, de forma a garantir o aprisionamento dos parasitóides dentro da gaiola e permitir a troca gasosa. No outro lado foi feito um orifício de 1 cm de diâmetro para liberação dos parasitóides nas gaiolas. Essa abertura foi fechada externamente com papel preto, sendo aberta somente no momento da introdução dos parasitóides. Cada gaiola foi vedada nas partes superior e inferior por placas de vidro (13 cm de largura × 13 cm de comprimento × 2 mm de espessura) contendo resíduos dos inseticidas, sendo o conjunto de placas preso com elásticos. Após a pulverização das placas de vidro, essas foram mantidas por aproximadamente 2 h sobre bandejas para a secagem do resíduo. Essas placas foram dispostas sobre a armação de alumínio com as faces pulverizadas voltadas para o interior da gaiola. As gaiolas foram montadas e conectadas umas a outras por uma mangueira de silicone ligada a uma bomba a vácuo, utilizada para eliminação dos gases do interior das gaiolas durante todo período do experimento (Figura 2A). Para evitar a fuga dos parasitóides para áreas marginais das placas de vidro, as bordas das placas foram cobertas com papel preto, permitindo a formação de uma área central livre de 25 cm<sup>2</sup> (5 cm × 5 cm), com incidência de luz até o final do experimento, o que favoreceu o caminhamento dos parasitóides sobre o resíduo. Um pequeno pedaço de fita crepe (0,5 cm × 0,5 cm) foi colado sobre a superfície superior pulverizada com uma gotícula de mel para a alimentação dos insetos. Quinze fêmeas adultas de *T. radiata* (24 a 48 h de idade) foram liberadas dentro das gaiolas e permaneceram em contato com o resíduo por 24 h.

Após o período de exposição (24 h), a avaliação da mortalidade foi realizada e alguns dos insetos sobreviventes foram transferidos para outras gaiolas para a avaliação da capacidade de parasitismo após a exposição aos resíduos dos inseticidas. A avaliação da redução na capacidade de parasitismo foi calculada por meio da fórmula  $R = (1 - (P/p)) * 100$ , onde “R” é a porcentagem de redução na capacidade de parasitismo, “P” é o valor do parasitismo médio para cada produto e “p” representou o parasitismo médio observado para o tratamento testemunha. Outros parâmetros como porcentagem de emergência, razão sexual e longevidade dos descendentes, também foram avaliados.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com 4 tratamentos e seis repetições, sendo cada repetição constituída de uma gaiola de exposição.

As gaiolas utilizadas para avaliar a capacidade de parasitismo foram confeccionadas com frascos plásticos com tampa de volume 500 ml. Um orifício foi feito no fundo dos frascos e uma cobertura de voal foi colada para permitir a ventilação. A tampa dos frascos também foi

recortada para permitir a passagem de um ramo de murta dentro da gaiola. As gaiolas serviram para individualizar os ramos da planta. Em cada vaso de murta foram colocadas duas gaiolas (Figura 2B). Um ramo infestado com 10 ninfas de *D. citri* foi colocado sobre esse ramo individualizado, 24 h antes do contato hospedeiro-parasitóide. Esse tempo de aclimação foi necessário para que as ninfas pudessem fixar-se e alimentar-se na planta. A fim de se evitar uma possível mudança de estágio, ninfas de quarto ínstar foram utilizadas. Estas são caracterizadas pela dimensão das tecas alares cuja extremidade anterior atinge o eixo dos olhos (CHING-CHIN CHIEN, 1988 apud FAUVERGUE; QUILICI, 1991). Após esse período de aclimação, uma fêmea de *T. radiata* sobrevivente à exposição do resíduo foi colocada em cada gaiola. Uma gotícula de mel foi colocada sobre o voal, para a alimentação. O parasitóide foi mantido na presença do hospedeiro por 24 h. Um total de quinze gaiolas por tratamento foram montadas.

Seis dias após o contato hospedeiro-parasitóide, com as ninfas mumificadas (detectada pela presença das sedas de amarração pela larva de *T. radiata*, único indício do sucesso do parasitismo), a porcentagem de parasitismo foi avaliada. Aproximadamente 12 dias após o contato hospedeiro-parasitóide com a emergência dos adultos, outros parâmetros foram avaliados tais como a porcentagem de emergência, razão sexual dos descendentes e longevidade dos adultos.

A porcentagem de emergência foi avaliada em função do número de adultos provenientes das ninfas parasitadas. A sexagem foi feita baseada em caracteres das antenas e do abdômen (WATERSTON, 1922). Para a avaliação da longevidade uma amostra de 30 insetos (15 fêmeas e 15 machos) da população descendente foi avaliada por tratamento.

Os bioensaios foram mantidos em sala climatizada à temperatura de  $27 \pm 1^\circ\text{C}$ , umidade relativa de  $70 \pm 10\%$  e fotofase de 14 h. A avaliação da mortalidade foi realizada 24 h após o início do experimento.

Os dados de porcentagem de mortalidade ( $y$ ), porcentagem de parasitismo, porcentagem de emergência de cada tratamento foram transformados por  $\text{arc sen}(\sqrt{y/100})$  e submetidos à análise de variância e teste Tukey para a comparação das médias dos tratamentos. Os dados de razão sexual e longevidade de cada tratamento foram submetidos à análise de variância e teste Tukey para a comparação das médias dos tratamentos. As análises foram realizadas com o programa estatístico SAS System for Windows versão 9.1. O nível de significância dos testes foi de  $\alpha = 0,05$ .

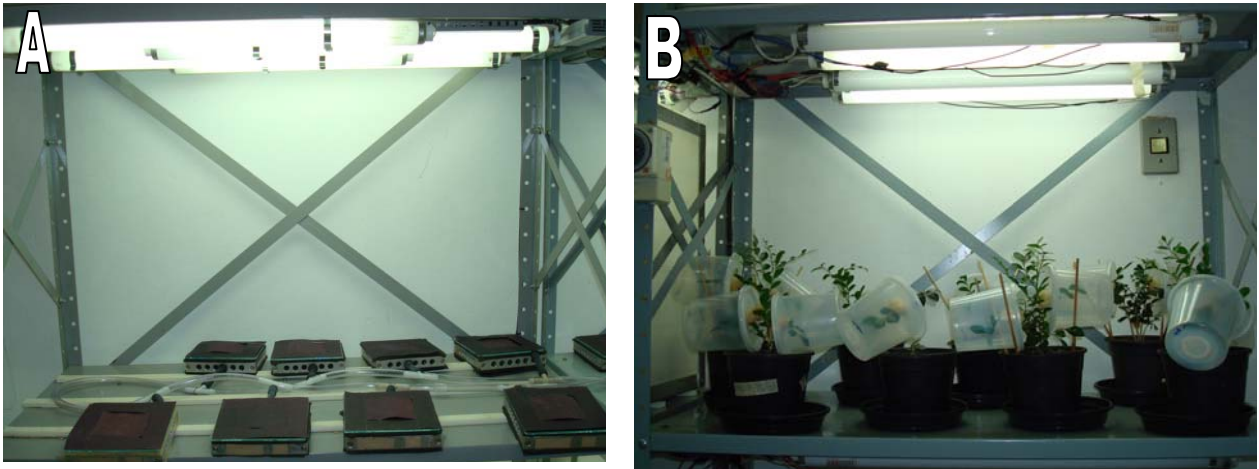


Figura 2– (A) Gaiola de exposição de *T. radiata* ao resíduo dos inseticidas; (B) Gaiola utilizada para avaliar a capacidade de parasitismo

### 2.2.5.3 Teste de toxicidade em pupas

Pupas de *T. radiata* (estágio do ciclo de vida menos sensível a inseticidas) em ramos de murta foram expostas à pulverização direta do inseticida. Para a obtenção das pupas de *T. radiata* em ramos de murta, foi utilizado o mesmo procedimento descrito no item 2.2.5.2 com o uso de gaiolas plásticas (Figura 2B), porém o contato hospedeiro-parasitóide foi permitido por 48 h. Seis dias após o contato hospedeiro-parasitóide, com as ninfas mumificadas, os ramos foram cortados das plantas, colocados em um pedaço de papel de filtro de 11 cm de diâmetro e transferidos para pulverização em torre de Potter (Burkard, Rickmansworth, UK) a 10 psi. Os inseticidas e as concentrações utilizadas foram thiamethoxam (2,5, 12,5 e 25 ppm), thiacloprid (4,8, 24 e 48 ppm) e imidacloprid (3,5, 17,5 e 35 ppm), valores correspondentes a 10%, 50% e 100% da concentração recomendada para a cultura do citros. Um volume de 2 mL da solução de cada concentração do inseticida foi utilizada em cada pulverização. Esses ramos foram transferidos para uma placa de Petri (com 10 cm de diâmetro), até a emergência dos adultos. Para a alimentação dos parasitóides, uma gota de mel foi colocada na tampa. Aproximadamente 12 dias após o contato hospedeiro-parasitóide, foi avaliada a porcentagem de emergência e 24 h após a emergência, a mortalidade foi avaliada.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com 4 tratamentos e dez repetições, sendo cada repetição constituída por uma placa com um ramo com pupas de *T. radiata*.

Nos tratamentos que utilizaram 10% da concentração recomendada, além dos parâmetros citados acima, também foram avaliados: razão sexual e a longevidade dos adultos. Para a avaliação desses parâmetros os insetos foram individualizados em tubos de ensaio tampados com filme plástico de PVC Magipack®. Uma gotícula de mel foi colocada no interior dos tubos para a alimentação. Posteriormente, 10 fêmeas de cada tratamento foram retiradas aleatoriamente. A cada fêmea foi oferecido 10 ninfas de quarto ínstar de *D. citri*, utilizando a mesma metodologia usada no item 2.2.5.2 para a avaliação do parasitismo.

Os bioensaios foram mantidos em sala climatizada à temperatura de  $27 \pm 1^\circ\text{C}$ , umidade relativa de  $70 \pm 10\%$  e fotofase de 14 h. A avaliação da mortalidade foi realizada 24 h após a pulverização.

A porcentagem de parasitismo e de emergência foi avaliada, e também a longevidade e a razão sexual dos descendentes. As avaliações foram feitas conforme descrito no item 2.2.5.2.

Os dados de porcentagem de mortalidade ( $y$ ), porcentagem de parasitismo, porcentagem de emergência, de cada tratamento foram transformados por  $\arcsen\left(\sqrt{y/100}\right)$  e submetidos a uma análise de variância e teste Tukey para a comparação dos tratamentos. Os dados de razão sexual e longevidade foram submetidos a uma análise de variância e teste Tukey para a comparação das médias dos tratamentos. As análises foram realizadas com o programa estatístico SAS System for Windows versão 9.1. O nível de significância dos testes foi de  $\alpha = 0,05$ .

#### **2.2.5.4 Teste de persistência dos inseticidas sobre adultos de *T. radiata***

Para a avaliação do efeito dos resíduos foliares dos inseticidas sobre os adultos do parasitóide foi utilizado bioensaio foi adaptado de Brunner et al. (2001). Mudanças de citros variedade Pêra Rio foram pulverizadas, com pulverizador manual Intrajet (Guarany), com os inseticidas até o ponto de escorrimento. Os inseticidas e as concentrações utilizadas foram thiamethoxam (25 ppm), thiacloprid (48 ppm) e imidacloprid (35 ppm), valores correspondentes à concentração recomendada para cultura do citros. Três mudas foram pulverizadas com cada



inseticida e outras três, foram pulverizadas com água destilada para servirem como controle. Amostras de folhas foram coletadas com 1, 3, 7, 14 e 21 dias após o tratamento (DAT). Seis folhas foram coletadas de cada tratamento nos dias de avaliação. Um disco (3,3 cm de diâmetro) foi feito de cada folha, com auxílio de um vazador. Dois discos foram colocados dentro de uma placa de Petri. Cinco fêmeas com até 48 h foram selecionadas aleatoriamente da criação e transferidas para as placas. Para a alimentação dos parasitóides, um pequeno pedaço de fita crepe foi colado no disco de folha com uma gotícula de mel, favorecendo assim a exploração da folha pelo parasitóide e garantido o contato do mesmo com o resíduo. Cada repetição foi constituída de uma placa, num total de nove placas por concentração.

Os bioensaios foram mantidos em câmara climatizada à temperatura de  $25 \pm 1^\circ\text{C}$ , umidade relativa de  $70 \pm 10\%$  e fotofase de 14 h. A avaliação da mortalidade foi realizada 24 h após o início do experimento.

Os dados de porcentagem de mortalidade ( $y$ ) de cada tratamento foram transformados por  $\text{arc sen}(\sqrt{y/100})$  e submetidos a uma análise de variância e teste Tukey para a comparação das médias dos tratamentos em cada dia de avaliação. As análises foram realizadas com o programa estatístico SAS System for Windows versão 9.1. O nível de significância dos testes foi de  $\alpha = 0,05$ .

## **2.3 Resultados e discussão**

### **2.3.1 Caracterização da suscetibilidade de *D. citri* aos inseticidas neonicotinóides**

Os resultados da caracterização da suscetibilidade de *D. citri* ao inseticida thiamethoxam estão na Tabela 1 e Figura 3. A  $CL_{50}$  (IC 95%) estimada para a linhagem S foi de 2,59 (2,10 – 3,17)  $\mu\text{g}$  de thiamethoxam/ml de água [I.A. (ppm)] e coeficiente angular ( $\pm$  erro padrão da média) de 1,84 ( $\pm 0,11$ ).

Tabela 1. Resultados da análise de Probit para a caracterização toxicológica da linhagem suscetível de referência (S) de *D. citri* a thiamethoxam, thiacloprid e imidacloprid

Inseticidas	n <sup>a</sup>	Coefficiente Angular ± erro padrão	CL <sub>50</sub> (µg I.A./ml) (IC 95%)	χ <sup>2</sup>	g.l. <sup>b</sup>
thiamethoxam	1196	1,84 ± 0,11	2,59 (2,10 – 3,17)	3,45	3
thiacloprid	1174	2,63 ± 0,13	43,33 (35,66 – 53,17)	5,50	3
imidacloprid	893	2,76 ± 0,17	10,56 (8,27 - 13,63)	8,11	3

<sup>a</sup> Número de insetos testados

<sup>b</sup> Graus de liberdade

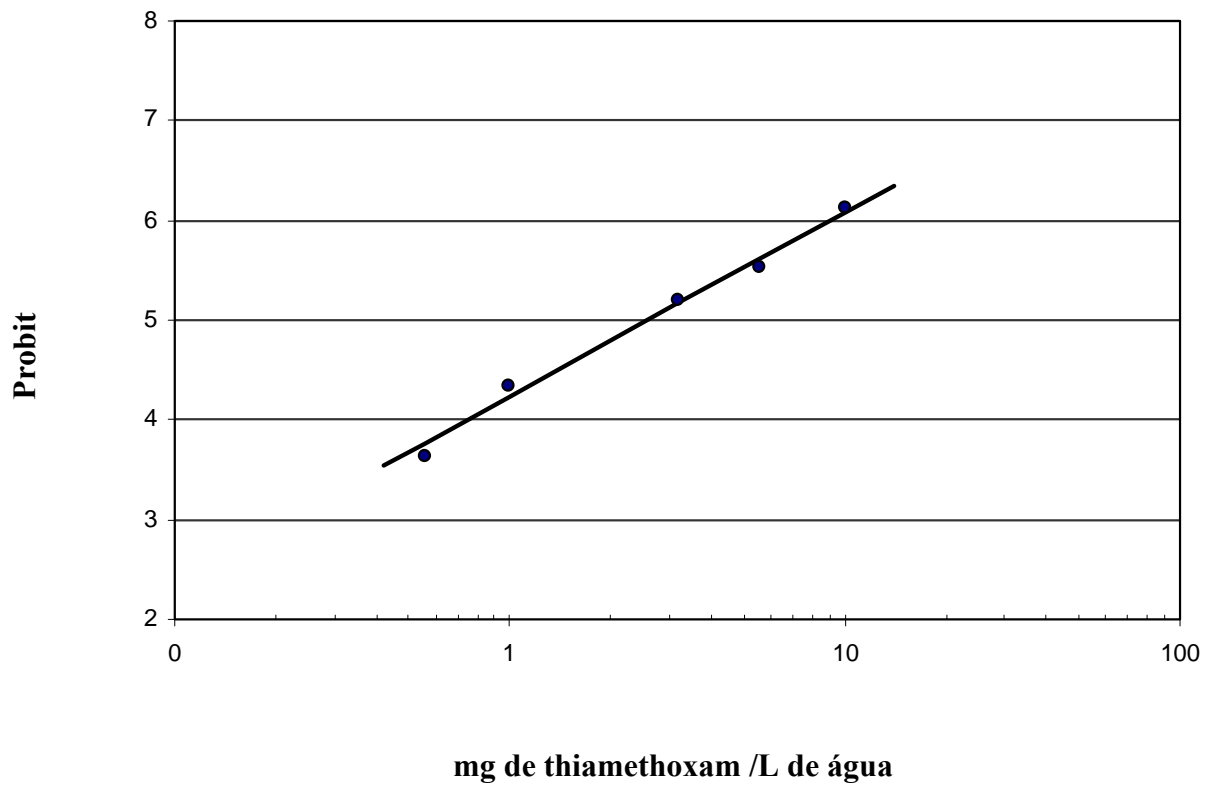


Figura 3 - Caracterização toxicológica da linhagem suscetível de *D. citri* a thiamethoxam

Os resultados da caracterização da suscetibilidade de *D. citri* ao inseticida thiacloprid estão na Tabela 1 e Figura 4. A  $CL_{50}$  (IC 95%) estimada para a linhagem S foi de 43,33 (35,66 – 53,17) mg de thiacloprid/L de água [I.A. (ppm)] e coeficiente angular ( $\pm$  erro padrão da média) de 2,63 ( $\pm$  0,13).

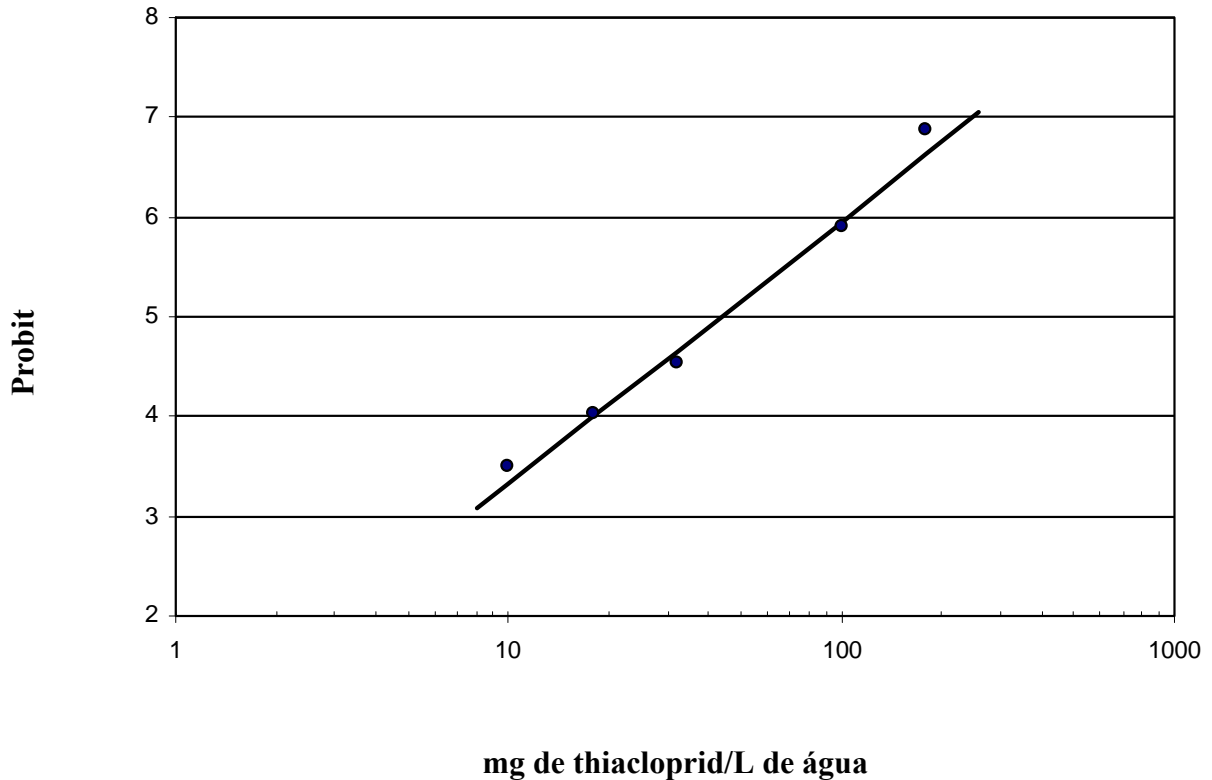


Figura 4 - Caracterização toxicológica da linhagem suscetível de *D. citri* a thiacloprid

Os resultados da caracterização da suscetibilidade de *D. citri* ao inseticida imidacloprid estão na Tabela 1 e Figura 5. A  $CL_{50}$  (IC 95%) estimada para a linhagem S foi de 10,56 (8,27 - 13,63) mg de imidacloprid/L de água [I.A. (ppm)] e coeficiente angular ( $\pm$  erro padrão da média) de 2,76 ( $\pm$  0,17).

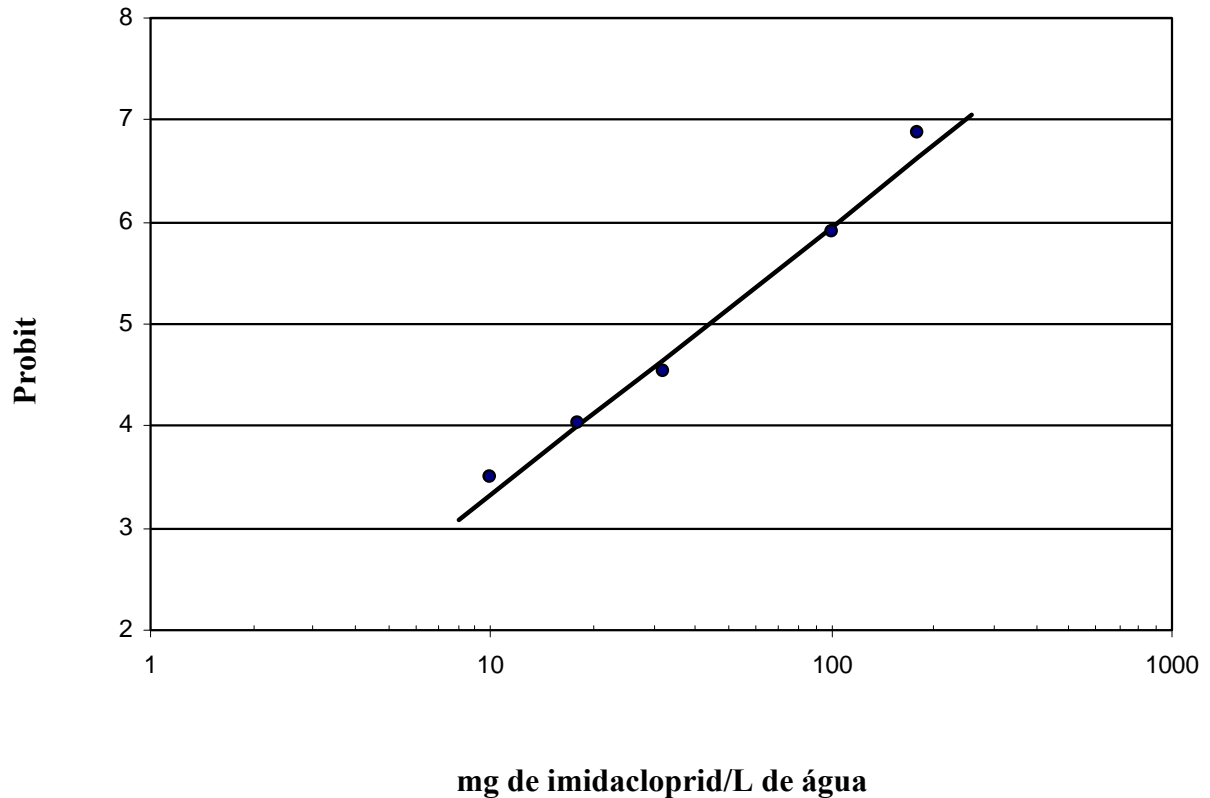


Figura 5 - Caracterização toxicológica da linhagem suscetível de *D. citri* a imidacloprid

O inseticida thiamethoxam foi o mais tóxico para a linhagem suscetível entre os três produtos testados. A estimativa da  $CL_{50}$  desse inseticida foi de 2,59 mg de ingrediente ativo/L de água, enquanto que os valores obtidos para thiacloprid e imidacloprid foram 43,33 e 10,56 mg de ingrediente ativo/L de água respectivamente. Essa alta toxicidade dos inseticidas neonicotinóides às pragas também foi demonstrada por Gorman et al. (2001) que avaliaram a suscetibilidade de *Trialeurodes vaporariorum* ao inseticida imidacloprid e o valor da  $CL_{50}$  da população suscetível estimado foi de 5,3 mg de ingrediente ativo/L. Visando avaliar a suscetibilidade de uma população de laboratório de *Bemisia tabaci* ao inseticida imidacloprid, Cahil et al. (1996) estimaram a  $CL_{50}$  em 1,7 mg de ingrediente ativo/ L.

As concentrações diagnósticas, baseadas nas  $CL_{95}$ , definidas para o monitoramento da suscetibilidade de populações de *D.citri* aos inseticidas thiamethoxam, thiacloprid e imidacloprid foram 20,3 mg de i.a./L de água, 183,0 mg de i.a./L de água e 41,6 mg de i.a./L, respectivamente.

### 2.3.2 Monitoramento da suscetibilidade de populações de *Diaphorina citri* a inseticidas neonicotinóides

Diferenças significativas na suscetibilidade de populações de *D. citri* coletadas em pomares comerciais de citros foram verificadas aos inseticidas thiamethoxam, thiacloprid e imidacloprid (Tabela 2 e Figura 6). Para thiamethoxam, a sobrevivência estimada para as populações de *D. citri* testadas na concentração diagnóstica variou entre 5,5 e 16% e a população Barretos diferiu das demais, apresentando a maior sobrevivência ( $F = 17,40$ ; g.l. = 3, 16;  $P < 0,0001$ ). Para thiacloprid, a sobrevivência variou entre 4,5 e 22,5% e todas as populações foram significativamente diferentes entre si ( $F = 51,95$ ; g.l. = 3, 16;  $P < 0,0001$ ) e para imidacloprid entre 4 e 14% ( $F = 17,08$ ; g.l. = 3, 16, 72;  $P < 0,0001$ ).

Tabela 2 – Porcentagem de sobrevivência  $\pm$  erro padrão da média de populações de *Diaphorina citri* coletadas em pomares de citros no bioensaio de concentração diagnóstica para thiamethoxam (20,3 mg i.a./L), thiacloprid (183,0 mg i.a./L) e imidacloprid (41,6 mg i.a./L) ( $n^* = 200$ )

População	Sobrevivência (%)		
	thiamethoxam	thiacloprid	imidacloprid
Suscetível	5,5 $\pm$ 2,6b	4,5 $\pm$ 1,6d	4,0 $\pm$ 1,8c
Anhembi	8,5 $\pm$ 1,2b	14,5 $\pm$ 2,6b	9,0 $\pm$ 2,2ab
Barretos	16,0 $\pm$ 2,2a	22,5 $\pm$ 1,0a	14,0 $\pm$ 1,8a
Pirassununga	7,0 $\pm$ 1,6b	9,0 $\pm$ 1,8c	6,5 $\pm$ 2,8bc

\* Número de insetos testados

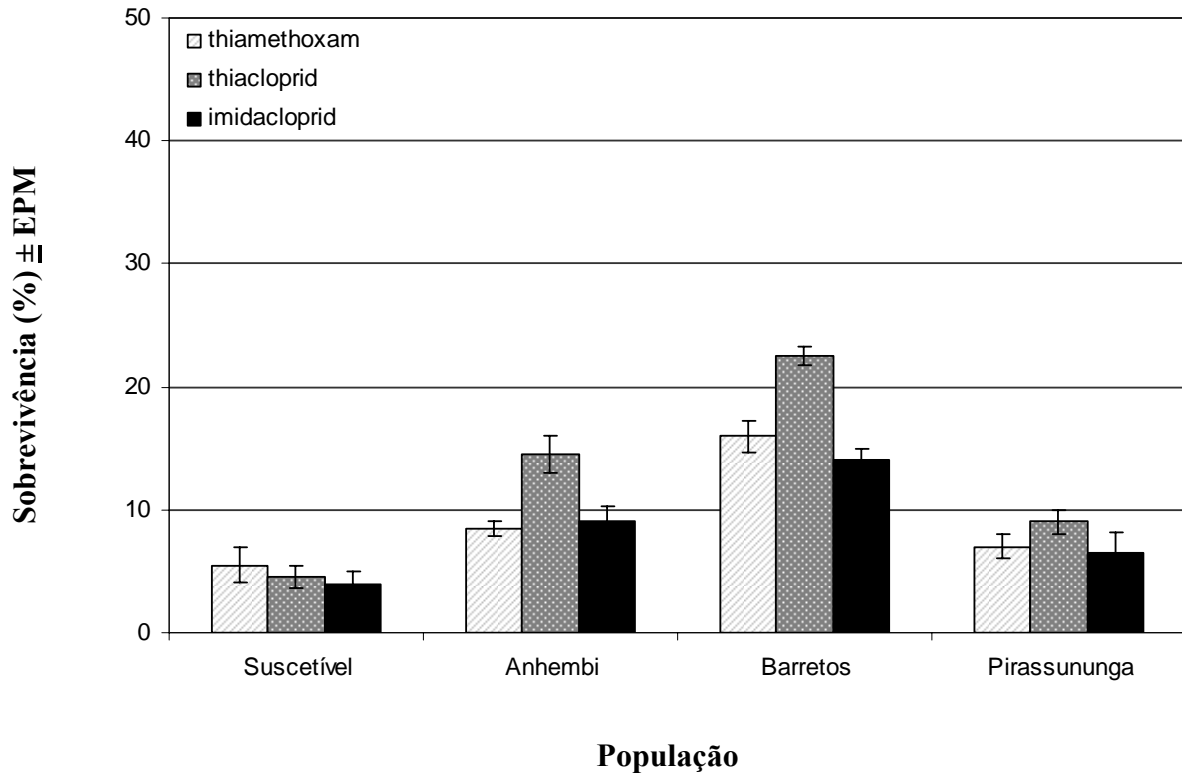


Figura 6 – Porcentagem de sobrevivência ( $\pm$  erro padrão da média) de populações de *Diaphorina citri* no bioensaio de concentrações diagnósticas para thiamethoxam (20,3 mg i.a./L), thiacloprid (183,0 mg i.a./L) e imidacloprid (41,6 mg i.a./L)

A população Barretos apresentou uma maior sobrevivência nas concentrações diagnósticas para todos os inseticidas neonicotinóides testadas, quando comparada a outras populações avaliadas, evidenciando uma maior variabilidade na suscetibilidade dessa população. Entretanto, a concentração diagnóstica é apenas um indicativo preliminar na variação da suscetibilidade, uma medida quantitativa completa só é possível pela caracterização da curva de concentração-resposta. Em contraste com os resultados apresentados, Nauen e Elbert (2003) avaliaram o monitoramento de 16 populações de *Myzus persicae*, de diferentes países da Europa, a imidacloprid, utilizando bioensaios com a concentração diagnóstica e não encontraram indícios de variabilidade uma vez que a mortalidade foi superior a 80% em todas as populações testadas. Gorman et al. (2001) também não evidenciaram indícios de variação na suscetibilidade de populações de *Trialeurodes vaporariorum* a imidacloprid, uma vez que a  $CL_{50}$  da população

suscetível foi estimada em 5,3 mg de ingrediente ativo/L e os valores das demais populações testadas variaram entre 3,0 a 8,6 mg de ingrediente ativo/L, devido à sobreposição dos intervalos de confiança estimados para as CL<sub>50S</sub> não houve diferença entre as populações. Entretanto, Cahil et al. (1996) monitorando a suscetibilidade de populações de *Bemisia tabaci* coletadas em diferentes regiões da Espanha, com bioensaio utilizando a concentração diagnóstica de 16 ppm, observaram uma mortalidade significativamente menor em 10 populações de *B. tabaci* em relação à população suscetível de referência.

### **2.3.3 Avaliação dos efeitos letais e subletais de inseticidas neonicotinóides sobre o parasitóide *T. radiata***

#### **2.3.3.1 Teste de contato direto**

Para o teste de contato direto com adultos do parasitóide, todos os tratamentos foram tóxicos e significativamente diferentes do controle (água) ( $F = \infty$ ; g.l. = 3, 56;  $P < 0,0001$ ) na concentração equivalente à da concentração recomendada e também a 10% da concentração recomendada dos inseticidas neonicotinóides testados ( $F = 195,95$ ; g.l. = 3, 56;  $P < 0,0001$ ) (Tabela 3). Essa alta toxicidade de neonicotinóides sobre agentes de controle biológico também foi mostrada por Brunner et al. (2001), que avaliaram o impacto de vários inseticidas aplicados diretamente sobre os parasitóides *Colpoclypeus florus* e *Trichogramma platneri* e demonstraram a alta toxicidade de imidacloprid utilizado na recomendação comercial.

Prabiiaker et al.(2007) estudaram o impacto de sete inseticidas foliares sobre a fase adulta dos parasitóides *Aphytis melinus* (Hymenoptera: Aphelinidae), *Gonatocerus ashmeadi* (Hymenoptera: Mymaridae), *Eretmocerus eremicus* (Hymenoptera: Aphelinidae) e *Encarsia formosa* (Hymenoptera: Aphelinidae) e observaram uma alta toxicidade do inseticida neonicotinóide acetamiprid sobre esses parasitóides.

Wang et al. (2007) avaliaram o impacto de quatorze inseticidas sobre o parasitóide de ovos *Anagrus nilaparvatae* (Pang et Wang) (Hymenoptera: Mymanidae) e o teste de contato direto do inseticida com a fase adulta do parasitóide, resultou numa escala de toxicidade desses

produtos. Imidacloprid e thiamethoxam se encontram na segunda e quarta posição dos inseticidas mais tóxicos, respectivamente. Rill et al. (2007) também verificaram uma alta mortalidade de *Aphlys melinus* DeBach (Hymenoptera: Aphelinidae) expostos na fase adulta ao inseticida acetamiprid.

Tabela 3 – Porcentagem de mortalidade de fêmeas ( $\pm$  erro padrão da média) de *T. radiata* após 24 h da pulverização de inseticidas neonicotionóides sobre fêmeas adultas do parasitóide

Tratamentos	Concentração recomendada (ppm)	Mortalidade Média(%)	
		10% da concentração recomendada	100% da concentração recomendada
<b>thiamethoxam</b>	25,0	96,0 $\pm$ 2,1a	100,0a
<b>thiacloprid</b>	48,0	89,3 $\pm$ 3,3a	100,0a
<b>imidacloprid</b>	35,0	94,7 $\pm$ 3,1a	100,0a
<b>testemunha</b>	-	0b	0b

### 2.3.3.2 Adultos expostos a resíduos frescos em superfícies de vidro

Na avaliação da mortalidade de fêmeas adultas de *T. radiata* expostas ao resíduo dos inseticidas no vidro, os tratamentos foram significativamente diferentes ( $F = 53,51$ ; g.l. = 3, 20;  $P < 0,0001$ ). A porcentagem de mortalidade em todos os tratamentos foi baixa, o que permitiu a avaliação de outros parâmetros (Tabela 4).



Tabela 4 – Porcentagem de mortalidade ( $\pm$  erro padrão da média) de *T. radiata* após 24 h de exposição de fêmeas adultas do parasitóide sobre resíduos de inseticidas neonicotinóides em placas de vidro

<b>Tratamentos</b>	<b>Concentração recomendada (ppm)</b>	<b>Mortalidade Média (%)</b>
<b>thiamethoxam</b>	25,0	15,6 $\pm$ 2,2a
<b>thiacloprid</b>	48,0	8,9 $\pm$ 1,4b
<b>imidacloprid</b>	35,0	10,0 $\pm$ 1,5ab
<b>testemunha</b>	-	0c

As porcentagens de parasitismo das fêmeas adultas de *T. radiata* expostas ao resíduo dos inseticidas nos diferentes tratamentos foram significativamente diferentes com valores variando de 23,33% a 40,67% ( $F = 6,60$ ; g.l. = 3, 56;  $P = 0,0007$ ). Thiamethoxam foi o tratamento que mais influenciou negativamente, apresentando uma redução de 42,6% na capacidade de parasitismo (Tabela 5). Entretanto, Rocha e Carvalho (2004) utilizando a mesma metodologia de bioensaio concluíram que imidacloprid, metoxifenozone, abamectina, acefato e esfenvalerato foram os mais prejudiciais ao parasitismo de *Trichogramma pretiosum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) causando reduções superiores a 80%. Matos (2008) também observou uma redução na capacidade de parasitismo de 93,6% de fêmeas de *Trichogramma atopovirilia* expostas ao resíduo de imidacloprid.

Os tratamentos não influenciaram significativamente as porcentagens de emergência ( $F = 0,22$ ; g.l. = 3, 56;  $P = 0,8851$ ) (Tabela 6). Diferentemente desse resultado, uma ação intermediária à emergência de *T. pretiosum* quando expostos a resíduos de imidacloprid e metoxifenozone foi relatada por Rocha e Carvalho (2004), os tratamentos com esses inseticidas apresentaram 70% de emergência, diferentes significativamente do tratamento mais tóxico (abamectina) que apresentou 45,7% de emergência. Entretanto, Matos (2008) relatou resultado semelhante aos apresentados nesse trabalho, verificando que o inseticida imidacloprid não influenciou a emergência de adultos da geração  $F_1$ .

Tabela 5 – Porcentagem de parasitismo ( $\pm$  erro padrão da média) e porcentagem de redução no parasitismo de *T. radiata* após exposição a resíduos de inseticidas neonicotinóides em placas de vidro

<b>Tratamentos</b>	<b>%parasitismo</b>	<b>Redução parasitismo(%)</b>
<b>thiamethoxam</b>	23,3 $\pm$ 3,5b	42,6
<b>thiacloprid</b>	36,7 $\pm$ 2,5a	9,8
<b>imidacloprid</b>	30,0 $\pm$ 1,9ab	26,2
<b>testemunha</b>	40,7 $\pm$ 3,6a	-

Não foram verificadas diferenças significativas entre os tratamentos para os parâmetros longevidade de macho ( $F = 2,47$ ; g.l. = 3, 56;  $P = 0,0716$ ), longevidade de fêmea ( $F = 0,07$ ; g.l. = 3, 56;  $P = 0,9758$ ) e a razão sexual ( $F = 0,04$ ; g.l. = 3, 36;  $P = 0,9890$ ) (Tabela 6). A longevidade média das fêmeas encontrada nos tratamentos foi de 23 dias e a longevidade dos machos foi de 16 dias. Fauvergue e Quilici (1991) estudando alguns parâmetros da biologia de *T. radiata* encontraram valores muito próximos, sendo 25 dias para fêmeas e 17 dias para machos à temperatura de 25 °C.

Tabela 6 – Porcentagem de emergência, longevidade e razão sexual ( $\pm$  erro padrão da média) dos descendentes de *T. radiata* exposta a resíduos de inseticidas neonicotinóides em placas de vidro

<b>Tratamentos</b>	<b>%emergência</b>	<b>Longevidade Fêmea (dias)</b>	<b>Longevidade Macho (dias)</b>	<b>Razão sexual (n)*</b>
<b>thiamethoxam</b>	96,7 $\pm$ 2,3	23,3 $\pm$ 0,29	15,7 $\pm$ 0,30	0,56 $\pm$ 0,08 (34)
<b>thiacloprid</b>	97,0 $\pm$ 2,1	23,2 $\pm$ 0,33	16,3 $\pm$ 0,33	0,55 $\pm$ 0,04 (52)
<b>imidacloprid</b>	94,4 $\pm$ 3,0	23,3 $\pm$ 0,39	15,5 $\pm$ 0,31	0,52 $\pm$ 0,06 (42)
<b>testemunha</b>	97,3 $\pm$ 1,8	23,4 $\pm$ 0,25	16,5 $\pm$ 0,31	0,53 $\pm$ 0,06 (59)

\* Número de insetos testados

### 2.3.3.3 Teste de toxicidade em pupas

Os inseticidas testados não influenciaram significativamente a porcentagem de emergência nas três concentrações testadas quando aplicados sobre o parasitóide na fase de pupa, provavelmente pela barreira formada com os restos do hospedeiro que protegem o inseto nessa fase ( $F = 1,53$ ; g.l. = 3, 36;  $P = 0,2243$ ) ( $F = 1,27$ ; g.l. = 3, 36;  $P = 0,2983$ ) ( $F = 1,38$ ; g.l. = 3, 36;  $P = 0,2648$ ) (Tabela 7). Entretanto, a mortalidade avaliada 24 h após a emergência mostrou uma alta toxicidade dos inseticidas (mortalidade superior a 90%) ao parasitóide na concentração recomendada e a 50% da concentração recomendada, provavelmente em função do contato de *T. radiata* com os resíduos do produto (Tabela 8). Houve diferenças significativas entre os tratamentos quando utilizados na concentração recomendada ( $F = 602,96$ ; g.l. = 3, 36;  $P < 0,0001$ ) e a 50% da concentração recomendada ( $F = 260,44$ ; g.l. = 3, 36;  $P < 0,0001$ ). No bioensaio a 10% da recomendação comercial dos produtos, a mortalidade foi baixa, sendo 8,38% de mortalidade o maior valor, no tratamento imidacloprid, houve diferenças significativas entre os tratamentos ( $F = 4,93$ ; g.l. = 3, 36;  $P = 0,0057$ ) (Tabela 8). Devido à baixa mortalidade nessa concentração, outros parâmetros como a longevidade, a razão sexual e a capacidade de parasitismo puderam ser avaliados, além da porcentagem de emergência, longevidade e razão sexual da geração  $F_1$ .

Tabela 7 – Porcentagem de emergência ( $\pm$  erro padrão da média) de *T. radiata* expostas a inseticidas neonicotinóides na fase de pupa

Tratamentos	C.R*. (ppm)	% emergência		
		100% da C.R.	50% da C. R.	10% C. R.
<b>thiamethoxam</b>	25,0	92,9 $\pm$ 2,1	93,5 $\pm$ 2,2	93,8 $\pm$ 2,1
<b>thiacloprid</b>	48,0	94,0 $\pm$ 2,02	95,4 $\pm$ 1,9	95,4 $\pm$ 1,9
<b>imidacloprid</b>	35,0	92,6 $\pm$ 2,0	94,7 $\pm$ 2,1	95,4 $\pm$ 1,9
<b>testemunha</b>	-	97,6 $\pm$ 1,6	98,6 $\pm$ 1,4	98,9 $\pm$ 1,1

\*C.R. = concentração recomendada

Tabela 8 – Porcentagem de mortalidade ( $\pm$  erro padrão da média) de *T. radiata* expostas a inseticidas neonicotinóides na fase de pupa

Tratamentos	C.R. (ppm)	% mortalidade		
		100% da C.R.	50% da C. R.	10% C. R.
<b>thiamethoxam</b>	25,0	100,0a	98,6 $\pm$ 1,4a	8,0 $\pm$ 2,2a
<b>thiacloprid</b>	48,0	100,0a	93,7 $\pm$ 2,1a	6,3 $\pm$ 0,2ab
<b>imidacloprid</b>	35,0	100,0a	96,2 $\pm$ 1,9a	8,8 $\pm$ 2,7a
<b>testemunha</b>	-	4,9 $\pm$ 2,0b	0b	0b

\*C.R. = concentração recomendada

Assim como no presente trabalho, Rill et al. (2007) verificaram que não houve efeito significativo no desenvolvimento do parasitóide *A. melinus* tratados com acetamiprid na fase de pupa, provavelmente porque os estágios imaturos desse ectoparasitóide estão sob a proteção dos restos de seu hospedeiro. Bastos et al. (2006) avaliando o efeito de agroquímicos na emergência de *T. pretiosum* quando aplicados sobre o a fase de pupa desse parasitóide em dois diferentes hospedeiros, verificaram a influência do inseticida thiacloprid na emergência do inseto proveniente de ovos de *E. kuehniella* reduzindo em 50% a emergência, mas não verificou influência em insetos provenientes de ovos de *S. cerealella*.

Os inseticidas não influenciaram significativamente a longevidade e a razão sexual do parasitóide, quando expostos a esses produtos na fase de pupa, utilizando-se 10% da recomendação comercial (Tabela 9). Entretanto, a avaliação do efeito dos inseticidas em parâmetros biológicos como longevidade e razão sexual são de extrema importância, uma vez que esses parâmetros podem ser alterados em consequência da exposição a doses subletais (CROFT, 1990). Rosenheim e Hoy (1988) demonstraram que alguns inseticidas interferiram na longevidade e razão sexual de *Aphytus melinus* expostos a doses subletais. Dimethoate, malathion, methidation e chlorpyrifos reduziram o número de descendentes por fêmea em até 90% e essa redução na progênie foi atribuída ao impacto desses organofosforados na longevidade dos adultos. Esses inseticidas causaram reduções na longevidade entre 73-85%. Esse trabalho também mostrou o impacto do inseticida chlorpyrifos na razão sexual, aumentando significativamente o número de machos na progênie. O mecanismo de ação do chlorpyrifos na razão sexual da progênie não é bem claro, e pode ser por um efeito na viabilidade do esperma

armazenado, por um comportamento materno de controle primário da razão sexual ou uma mortalidade específica do sexo durante o desenvolvimento da progênie, são as possíveis possibilidades apresentadas pelos autores.

Tabela 9 – Longevidade e razão sexual ( $\pm$  erro padrão da média) de *T. radiata* exposta a 10% da concentração recomendada de inseticidas neonicotinóides na fase de pupa

Tratamentos	Concentração recomendada(ppm)	Longevidade Fêmea (dias)*	Longevidade Macho (dias)*	Razão sexual*
<b>thiamethoxam</b>	2,5	23,9 $\pm$ 0,34	15,5 $\pm$ 0,31	0,55 $\pm$ 0,03
<b>thiacloprid</b>	4,8	23,9 $\pm$ 0,37	15,2 $\pm$ 0,42	0,53 $\pm$ 0,03
<b>imidacloprid</b>	3,5	23,5 $\pm$ 0,32	14,9 $\pm$ 0,19	0,54 $\pm$ 0,04
<b>testemunha</b>	-	23,5 $\pm$ 0,36	15,7 $\pm$ 0,37	0,53 $\pm$ 0,03

\* Longevidade fêmea (F = 0,45; g.l. = 3, 56; P = 0,7177)  
 Longevidade macho (F = 1,24; g.l. = 3, 56; P = 0,3025)  
 Razão sexual (F = 0,04; g.l. = 3, 36; P = 0,9890)

A porcentagem de parasitismo foi afetada pelo thiamethoxam. Por outro lado, os tratamentos com thiacloprid e imidacloprid não influenciaram a porcentagem de parasitismo (Tabela 10). Todos os parâmetros avaliados para a geração F<sub>1</sub> não sofreram influência dos tratamentos, e os efeitos prejudiciais restringiram-se aos indivíduos da geração maternal. Assim como nesse trabalho, Matos (2008) também não verificou o efeito do inseticida imidacloprid na capacidade de parasitismo de *Trichogramma atopovirilia* provenientes de ovos dos hospedeiros *Anagasta kuehniella* e *Gymnandrosoma aurantianum* tratados em diferentes fases da vida do parasitóide.

Não houve efeito dos tratamentos na porcentagem de emergência da geração F<sub>1</sub> de indivíduos tratados na fase de pupa de *T. radiata* (Tabela 10). O inseticida imidacloprid também não influenciou a emergência dos descendentes de *T. atopovirilia* em dois hospedeiros tratados em diferentes fases imaturas da vida do parasitóide (MATOS, 2008).

Tabela 10 – Porcentagem de parasitismo da geração maternal e porcentagem de emergência ( $\pm$  erro padrão da média) da geração F<sub>1</sub> a partir de *T. radiata* expostas a 10% da concentração recomendada de inseticidas neonicotinóides na fase de pupa

<b>Tratamentos</b>	<b>%parasitismo*</b>	<b>%emergência*</b>
<b>thiamethoxam</b>	31,0 $\pm$ 3,14b	93,0 $\pm$ 3,59
<b>thiacloprid</b>	39,0 $\pm$ 2,33ab	91,7 $\pm$ 5,69
<b>imidacloprid</b>	35,0 $\pm$ 2,69ab	95,0 $\pm$ 3,33
<b>testemunha</b>	43,0 $\pm$ 3,0a	95,5 $\pm$ 3,02

\*%parasitismo (F = 3,45; g.l. = 3, 36; P = 0,0264)

%emergência (F = 0,11; g.l. = 3, 36; P = 0,9531)

Assim como no teste de toxicidade residual em adultos, a longevidade dos adultos e a razão sexual dos descendentes não sofreram influências dos tratamentos e valores muito próximos foram encontrados, para esses parâmetros, nesses dois testes (Tabela 11). A influência de inseticidas em parâmetros como a longevidade média e a razão sexual também foram estudadas por Krespi et al. (1991) para o parasitóide *Aphidius uzbekistanicus* (Hymenoptera: Aphididae). Nesse trabalho os autores observaram um decréscimo na longevidade média desse inseto quando expostos aos inseticidas deltamethrin,  $\lambda$ -cyhalothrin e dimethoate em diferentes fases do seu desenvolvimento. Esses inseticidas também influenciaram a razão sexual da geração F<sub>1</sub> desse inseto. Deltamethrin reduziu a porcentagem média de fêmeas descendentes de parasitóides expostos ao inseticida na fase adulta (por 10 min e 1 h) e  $\lambda$ -cyhalothrin reduziu essa porcentagem, quando os adultos foram expostos ao produto por uma hora.

Tabela 11 – Longevidade e razão sexual ( $\pm$  erro padrão da média) da geração F<sub>1</sub> a partir de *T. radiata* expostas a 10% da concentração recomendada de inseticidas neonicotinóides na fase de pupa

Tratamentos	Longevidade (fêmea)*	Longevidade (macho)*	Razão sexual*
<b>thiamethoxam</b>	23,6 $\pm$ 0,31	15,8 $\pm$ 0,33	0,50 $\pm$ 0,09
<b>thiacloprid</b>	23,3 $\pm$ 0,33	15,6 $\pm$ 0,30	0,55 $\pm$ 0,06
<b>imidacloprid</b>	23,3 $\pm$ 0,26	16,0 $\pm$ 0,33	0,54 $\pm$ 0,05
<b>testemunha</b>	23,1 $\pm$ 0,31	16,3 $\pm$ 0,30	0,57 $\pm$ 0,04

\*Longevidade fêmea (F = 0,46; g.l. = 3, 36; P = 0,7142)

Longevidade macho (F = 0,89; g.l. = 3, 36; P = 0,4560)

Razão sexual (F = 0,21; g.l. = 3, 36; P = 0,8892)

#### 2.3.3.4 Teste de persistência dos inseticidas nos adultos de *T. radiata*

O inseticida thiamethoxam apresentou uma maior toxicidade residual entre os três inseticidas testados, causando 88,9% de mortalidade aos 7 dias após o tratamento, e enquanto que 100% dos insetos foram mortos quando expostos sobre resíduos de 1 dia. Thiacloprid e imidacloprid também mostraram uma alta toxicidade residual para *T. radiata* com mortalidade de 66,7 e 44,4 respectivamente aos 7 dias após o tratamento. A toxicidade residual de thiametoxam, thiacloprid e imidacloprid em mudas de citros a adultos de *T. radiata* foi relativamente elevada e de pelo menos 14 dias (Tabela 11, Figura 5). Trabalhos similares de persistência devem ser realizados em condições de campo para a definição do período de tempo necessário para liberações de *T. radiata* após uma pulverização com um determinado inseticida.

Estudos de toxicidade residual, realizados por Wang et al. (2007), também demonstraram uma alta toxicidade residual de inseticidas neonicotinóides sobre o parasitóide *Anagrus nilaparvatae*. Nesse estudo imidacloprid foi o inseticida que apresentou a maior toxicidade residual entre 11 inseticidas testados, causando 80,7% de mortalidade aos 7 dias de tratamento. Thiamethoxam também demonstrou uma grande toxicidade residual causando mortalidade de 66,8% dos insetos nesse mesmo período. Entretanto, Brunner et al. (2001) demonstraram uma baixa toxicidade residual de imidacloprid a *C. florus* e Hewa-Kapuge et al. (2003) consideraram imidacloprid relativamente seguro para *Trichogramma n. brassicae*.

Diferenças no substrato das culturas e na sensibilidade das espécies podem ter contribuído para as discrepâncias entre esses resultados.

Tabela 11 – Porcentagem de mortalidade ( $\pm$  erro padrão da média) de *T. radiata* expostas a diferentes idades de resíduos de inseticidas neonicotinóides em folhas de citros

Tratamentos	Mortalidade Média (%)				
	1 DAT	3 DAT	7 DAT	14 DAT	21 DAT
<b>thiamethoxam</b>	100,0a	100a	88,9 $\pm$ 4,8a	44,4 $\pm$ 5,5ab	0
<b>thiacloprid</b>	100,0a	95,6 $\pm$ 2,9ab	66,7 $\pm$ 3,3b	48,9 $\pm$ 3,5a	4,4 $\pm$ 2,94
<b>imidacloprid</b>	88,9 $\pm$ 3,5b	86,7 $\pm$ 4,7b	44,4 $\pm$ 4,4c	33,3 $\pm$ 3,3b	0
<b>testemunha</b>	0c	0c	0d	0c	0

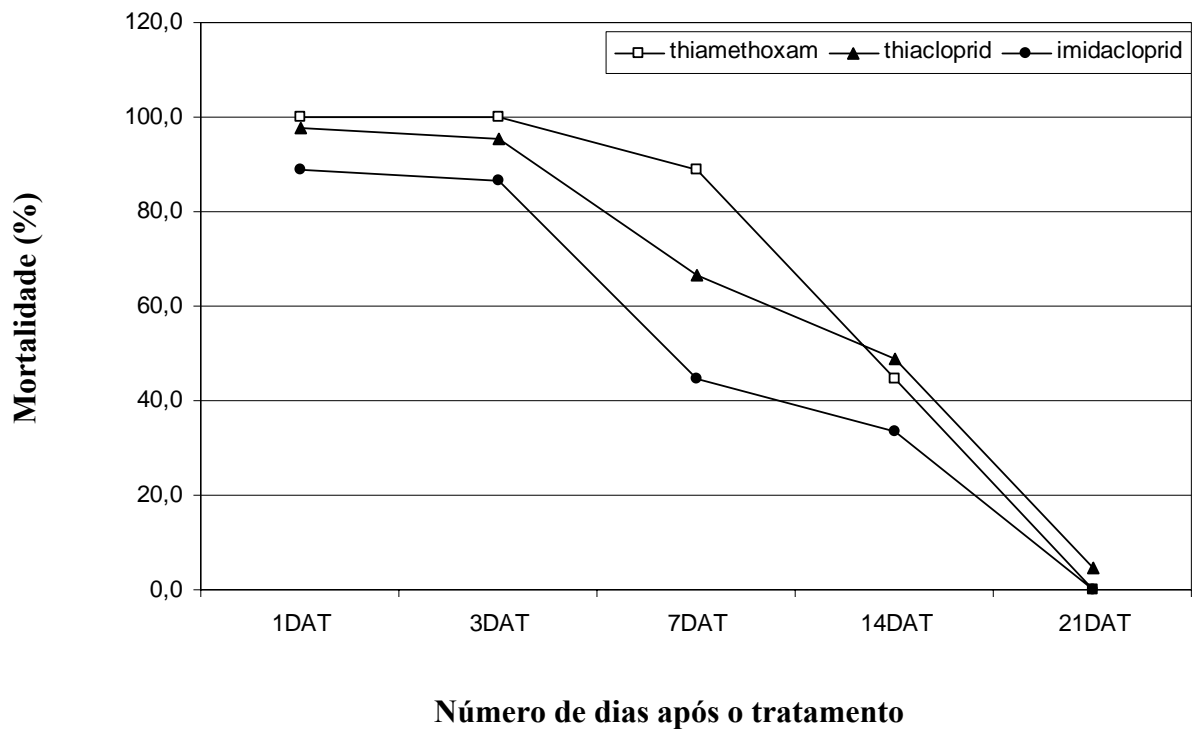


Figura 5 – Porcentagem de mortalidade de *T. radiata* expostas a diferentes idades de resíduos de inseticidas neonicotinóides em mudas de citros



## 2.4 Considerações finais

A descoberta dos inseticidas neonicotinóides foi um marco nas pesquisas com inseticidas durante as três últimas décadas. Eles foram introduzidos no mercado na década de 90 e representam a classe que mais cresceu no mercado desde a comercialização dos piretróides e representam um dos grupos mais utilizados para o controle de insetos sugadores de diversas culturas (NAUEN; BRETSCHEIDER, 2002).

Na citricultura quatro moléculas (acetamiprid, imidacloprid, thiacloprid e thiamethoxam) são registradas e bastante utilizadas para o controle das principais pragas (*Diaphorina citri*, *Oncometopia facialis*, *Orthezia praelonga*, *Phyllocnistis citrella* entre outras). Os neonicotinóides se apresentam em diversas formulações e são indicados em aplicações via solo, tronco e foliar.

No presente estudo, thiamethoxam, thiacloprid e imidacloprid se mostraram bastante tóxicos a *D. citri* conforme os resultados demonstrados na caracterização da suscetibilidade dessa praga a esses produtos, sendo thiamethoxam o mais ativo contra essa praga. A avaliação de três populações de campo de diferentes regiões citrícolas do Estado de São Paulo mostrou uma variabilidade quanto à suscetibilidade de *D. citri* a esses inseticidas. Sendo a população de Barretos, a que apresentou uma maior sobrevivência a todos os agroquímicos testados. Entretanto, como essa avaliação foi feita com bioensaio utilizando a concentração diagnóstica, e ela é somente um indicativo da variabilidade, sendo necessário realizar estudos de pressão de seleção em condições de laboratório para comprovar a evolução da resistência.

Os testes de laboratório são o primeiro passo na avaliação do potencial de risco de um pesticida para a fauna de artrópodes não-alvos. O organismo-teste deve ser confinado em um resíduo seco e fresco do produto, sob condições que reflitam o mais elevado nível de contato possível para ser experimentado no campo. A combinação de todos os tipos de experimentos com o organismo benéfico completaria o conhecimento do impacto do pesticida para a espécie (DEGRANDE, et al., 2002). Com base nos resultados obtidos nos testes realizados com os inseticidas neonicotinóides e o inimigo natural *T. radiata* podemos ressaltar a alta toxicidade desse grupo de produtos quando em contato com esse organismo. Essa alta toxicidade foi demonstrada no teste de contato direto do inseticida com o adulto de *T. radiata*, no qual os valores de porcentagem de mortalidade foram superiores a 89%, para todos os produtos nas duas

concentrações testadas (10% e 100% da concentração recomendada dos agroquímicos para a cultura do citros). A mortalidade também foi bastante alta com valores acima de 93%, quando esse parasitóide foi exposto a esses inseticidas na fase de pupa, nos tratamentos que utilizaram 50 e 100% da concentração recomendada, provavelmente em função do contato do parasitóide com os resíduos dos inseticidas após a emergência. No entanto, no bioensaio com 10% da concentração recomendada, a mortalidade foi baixa e os tratamentos não apresentaram efeitos subletais nos parâmetros: porcentagem de emergência, longevidade e razão sexual. Os efeitos subletais desses inseticidas se restringiram à geração maternal, com efeito sobre a porcentagem de parasitismo de *T. radiata*, que sofreu redução no tratamento thiamethoxam. Esse mesmo resultado foi observado no bioensaio em que os adultos foram expostos a resíduos frescos dos inseticidas em superfícies de vidro.

Considerando a alta toxicidade de thiamethoxam, thiacloprid e imidacloprid para *D. citri* e seu impacto sobre *T. radiata*, a utilização desses inseticidas em programas de manejo integrado de pragas deve ser avaliada de maneira criteriosa. Uma alternativa para preservar o uso desse grupo químico na citricultura, pode estar relacionada com a forma de aplicação, priorizando as aplicações via tronco ou solo, pois dessa forma o parasitóide estaria sendo menos exposto a esses agroquímicos. Embora a toxicidade possa ser avaliada em laboratório, só é possível medir o real efeito do agroquímico em campo, onde ocorrem as condições normais de abrigo, proteção, alternativas de escape, alimentação e sobrevivência da espécie (STEVENSON; WALTERS, 1983).

Esse estudo contribuiu para a avaliação da compatibilidade do controle químico e biológico de *D. citri* na implementação do manejo integrado de pragas na cultura do citros. Os inseticidas neonicotinóides avaliados mostraram alta toxicidade a *D. citri*. A detecção de variabilidade significativa na suscetibilidade a esses inseticidas em populações de *D. citri* indica a necessidade de trabalhos de monitoramento da resistência para preservar a vida útil desse grupo de inseticida. Além disso, o efeito de inseticidas neonicotinóides sobre os agentes de controle biológico devem ser avaliados sob muitos aspectos a curto e longo prazo, incluindo o impacto desses em aspectos fisiológicos (desenvolvimento, fecundidade, imunidade etc) e comportamentais (mobilidade, orientação, comportamento de alimentação e oviposição etc), além da realização de testes de semi-campo e campo.

### 3 CONCLUSÕES

Thiametoxam apresenta maior toxicidade para adultos de *Diaphorina citri* entre os neonicotinóides testados, seguidos por imidacloprid e thiacloprid em bioensaio de contato residual;

Há variabilidade na suscetibilidade de populações de *D.citri* a thiamethoxam, thiacloprid e imidacloprid;

Thiametoxam, thiacloprid e imidacloprid são altamente tóxicos a adultos e pupas de *Tamarixia radiata* em bioensaio de contato direto;

Os efeitos subletais de thiametoxam, thiacloprid e imidacloprid a 10% da concentração recomendada sobre a fase de pupa de *T. radiata* causa redução significativa na porcentagem de parasitismo apenas com thiamethoxam. A porcentagem de emergência, longevidade e razão sexual não são afetadas com nenhum inseticida testado;

A toxicidade residual de thiametoxam, thiacloprid e imidacloprid em folhas de mudas de citros é relativamente elevada para adultos de *T. radiata* e com persistência de pelo menos 14 dias.

## REFERÊNCIAS

AUBERT, B. *Trioza erythrae* Del guercio and *diaphorina citri* Kuwayama (Homoptera: Psylloidea), the two vectors of Citrus “greening” Disease: Biological aspects and possible control strategies. **Fruits**, Paris, v. 42, n. 3, p. 149-162, 1987.

BARBER, M.D.; MOORES G.D.; TATCHELL, G.M.; VICE, W.E.; DENHOLM, I. Insecticide resistance in the currant-lettuce aphid, *Nasonovia ribisnigri* (Hemiptera: Aphididae) in the UK. **Bulletin of Entomological Research**, Farnham Royal, v. 89, p. 17-23, 1999.

BASTOS, C.S.; ALMEIDA, R.P.; SUINAGA, F. Selectivity of pesticides used on cotton (*Gossypium hirsutum*) to *Trichogramma pretiosum* reared on two laboratory-reared hosts. **Pest Management Science**, Sussex, v. 62, p. 91-98, 2006.

BRUNNER, J.F.; DUNLEY, J.E.; DOER, M.D.; BEERS, E.H. Effect of Pesticides on *Colpoclypeus florus* (Hymenoptera: Eulophidae) and *Trichogramma platneri* (Hymenoptera: Trichogrammatidae), Parasitoids of Leafrollers in Washington. **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v. 94, n. 5, p. 1075-1084, 2001.

CAHILL, M.; GORMAN, K.; DAY, S.; DENHOLM, I.; ELBERT, A.; NAUEN, R. Baseline determination and detection of resistance to imidacloprid in *Bemisia tabaci* (Homoptera : Aleyrodidae). **Bulletin of Entomological Research**, Farnham Royal, v. 86, p. 343-349, 1996.

CORDERO, R.J.; BLOOMQUIST, J.R.; KUHAR, T.P. Susceptibility of two diamondback moth parasitoids, *Diadegma insulare* (Cresson) (Hymenoptera: Ichneumonidae) and *Oomyzus sokolowskii* (Kuedjumov) (Hymenoptera: Eulophidae), to selected commercial insecticides. **Biological Control**, Orlando, v. 42, p. 48-54, 2007.

COSTA LIMA, A M. **Insetos do Brasil**; Rio de Janeiro: Escola Nacional de Agronomia., 1942. 101p. (Série didática, 3 : Homoptera)

CROFT, B.A. **Arthropod biological control agents and pesticides**. New York: Wiley Interscience, 1990. 723p.

DEGRANDE, E.; REIS, P.R.; CARVALHO, G.A.; BELARMINO, L.C. Metodologia para avaliar o impacto de pesticidas sobre inimigos naturais. In: PARRA, J.R.P.; BOTELHO, P.S.M.;

CÔRREA-FERREIRA, B.S.; BENTO, J.M.S. **Controle biológico no Brasil: Parasitóides e Predadores**. São Paulo: Manole, 2002. cap. 5 p. 71-93.

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

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

ÉTTIENE, J.; QUILICI, S.; MARINAL, D.; FRANCK, A. Biological control of *Diaphorina citri* (Hemiptera: Psyllidae) in Guadeloupe by imported *Tamarixia radiata* (Hymenoptera: Eulophidae). **Fruits**, Paris, v. 56, p. 307-315, 2001.

FAUVERGUE, X.; QUILICI, S. Etude de certains paramètres de la biologie de *Tamarixia radiata* (Waterston, 1922) (Hymenoptera: Eulophidae), ectoparasitoïde primaire de *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae), vecteur asiatique du greening des agrumes. **Fruits**, Paris, v. 46, n. 2, p. 179-185, 1991.

FUNDECITRUS. “greening”: Nova doença na citricultura paulista. Fundo de Defesa da Citricultura. Disponível em  
<<http://www.fundecitrus.com.br/doencas/“greening”>  
.html>. Acesso em: 15 jan. 2006.

GEORGHIOU, G.P. Management of resistance in arthropods. In: GEORGHIOU, G.P.; SAITO, T. (Ed.) **Pest resistance to pesticides**. New York: Plenum, 1983. p.769-792.

GORMAN, K.; HEWITT, F.; DENHOLM, I.; DEVINE, G. J. New developments in insecticide resistance in the glasshouse whitefly (*Trialeurodes vaporariorum*) and the two-spotted spider mite (*Tetranychus urticae*) in the UK. **Pest Management Science**, Sussex, v. 58, p. 123-130, 2001.

GRAFTON-CARDWEEL, E.E., GODFREY, K.E., ROGERS, M.E., CHILDERS, C.C., STANSLY, P.A. **AsianCitrusPsyllid**. Disponível em: <<http://citrusent.uckac.edu/psyllid/psyllidbrochureAug05.pdf>>, Acesso em: 18 jan. 2006.

HALBERT, S. E.; MANJUNATH, K. L. Asian citrus psyllids (Hemiptera: Psyllidae) and “greening” disease of citrus: a literature review and assessment of risk in Florida. **Florida Entomologist**, Gainesville, v. 87, n. 3, p.330, 2004.

Disponível em: < <http://www.fcla.edu/FlaEnt/fe87p330.pdf> >. Acesso em: 15 fev. 2006.

HASSAN, S.A.; BIGLER, F.; BOGENSCHÜTZ, H.; BOLLER, E.; BRUN, J.; CHIVERTON, P.; EDWARDS, P.; MANSOUR, F.; NATON, E.; OOMEN, P.A.; OVERMEER, W.P.J.; POLGAR, L.; RIECKMANN, W.; SAMSOE-PETERSEN, L.; STÄUBLI, A.; STERK, G.; TAVARES, K.; TUSET, J.J.; VIGGIANI, G.; VIVAS, A.G. Results of the fourth joint pesticide testing programme carried out by the IOBC/WPRS – Working group “Pesticides and Beneficial Organisms”. **Journal Applied Entomology**, Berlin, v. 105, n. 4, p. 321-329, Aug. 1988.

HASSAN, S.A.; BIGLER, F.; BOGENSCHÜTZ, H.; BOLLER, E.; BRUN, J.; CALIS, J.N.M.; COREMANS-PELSENEER, J.; DUSO, C.; GROVE, A.; HEIMBACH, U.; HELYER, N.; HOKKANEN, H.; LEWIS, G.B.; MANSOUR, F.; MORETH, L.; POLGAR, L.; SAMSOE-PETERSEN, L.; SAUPHANOR, B.; STÄUBLI, A.; STERK, G.; VAINIO, A.; VANDEVIERE, M.; VIGGIANI, G.; VOGT, H. Results of the sixth joint pesticide testing programme of the IOBC/WPRS – Working group “Pesticide and Beneficial Organisms”. **Entomophaga**, Paris, v. 39, n. 1, p. 107-109, Jan. 1994.

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

HEWA-KAPUGE, S.; McDOUGALL, S.; HOFFMANN, A.A. Effects of methoxyfenozide, indoxacarb, and other insecticides on the beneficial egg parasitoid *Trichogramma nr: brassicae* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) under laboratory and field conditions. **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v. 96, n. 4, p. 1083-1090, 2003.

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

HOROWITZ, A. R., KONTSEDALOV, S., ISHAAYA, I. Dynamics of resistance to the neonicotinoids acetamiprid and thiamethoxam in *Bemisia tabaci* (Homoptera: Aleyrodidae). **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v. 97, n. 6, p. 2051-2056, 2004.

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

KOGAN, M. Integrated pest management: Historical perspectives and contemporary developments. **Annual Review of Entomology**, Stanford, v.43, p.243-270, 1998.

KRESPI, L.; RABASSE, J.M.; DEDRYVER, C.A.; NENON, J. P. Effect of three insecticides on the life cycle of *Aphidius uzbekistanicus* Luz. (Hymenoptera: Aphidiidae). **Journal Applied Entomology**, Berlin, v. 111, p. 113-119, 1991.

LEORA SOFTWARE. **POLO-PC**: a user's guide to Probit Or Logit analysis. Berkeley, 1987. 20p.

LITTLE, EE. Behavioral toxicology: stimulating challenges for a growing discipline. **Environmental Toxicology and Chemistry**, New York, v. 9, p. 1-2, 1990.

LIU, Y.H.; TSAI, J.H. Effects of temperature on biology and life table parameters of the Asian citrus psyllid, *Diaphorina citri* Kuwayama (Homoptera: Psyllidae). **Annals of Applied Biology**, London, v.137, n. 3, p. 201-206, 2000.

MATOS, M.M. **Seletividade a *Trichogramma atopovirilia* Oatman & Platner, 1983 de agroquímicos utilizados na citricultura paulista para o controle do bicho-furão-dos-citros, *Gymnandrosoma aurantianum* Lima, 1927**. 2008. 54p. Dissertação (Mestrado em Entomologia) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2008.

MARTINEZ, A.L.; WALLACE, J.M. Citrus leaf mottle-yellows disease in the Philippines and transmission of the causal virus by a psyllid, *Diaphorina citri*. **Plant Disease Report**, Washington, v. 58, p. 692-695, 1967.

McFARLAND, C. D. AND M. A. HOY. . Survival of *Diaphorina citri* (Homoptera: Psyllidae), and its two parasitoids, *Tamarixia radiata* (Hymenoptera: Eulophidae) and *Diaphorencyrtus aligarhensis* (Hymenoptera: Encyrtidae) under different relative humidities and temperature regimes. **Florida Entomologist**, Gainesville, v. 84, p. 227-233, 2001. Disponível em: <<http://www.fcla.edu/FlaEnt/fe84p227.pdf>>. Acesso em: 07 fev. 2006.

MICHAUD, J.P., Biological control of Asian citrus psyllid, *Diaphorina citri* (Homoptera: Psyllidae), in Florida: a preliminary report. **Entomological News**, Philadelphia, v. 113, n. 3, p. 216–222, 2002.

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

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

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

NAUEN, R.; DENHOLM, I. Resistance of insect pests to neonicotinoid insecticides: Current status and future prospects. **Archives of insect biochemistry and physiology**, New York, v. 58, p. 200-215, 2005.

NAUEN, R.; BRETSCHEIDER, T. New modes of action of insecticides. **Pesticide Outlook**, United Kingdom, v.12, p. 241-245, 2002. Disponível em: <http://www.rsc.org/delivery/ArticleLinking/DisplayArticleForFree.cfm?doi=b211171n&JournalCode=PO>. Acesso em 8 fev. 2006.

NAUEN, R.; EBBINGHAUS-KINTSCHER, U.; ELBERT, A.; JESCHKE, P.; TIETJEN, K. Acetylcholine receptors as sites for developing neonicotinoid insecticides. In: Ishaaya, I. **Biochemical sites in insecticide action and resistance**. New York, 2001. p. 77-105

NAUEN, R.; ELBERT, A. European monitoring of resistance to insecticides in *Mizus persicae* and *Aphis gossypii* (Hemiptera: Aphididae) with special reference to imidacloprid. **Bulletin of Entomological Research**, Farnham Royal, v. 93, p. 47-54, 2003.

NINSIN, K. D.; TANAKA, T. Synergism and stability of acetamiprid resistance in a laboratory colony of *Plutella xylostella*. **Pest Management Science**, Sussex, v. 61, p.723–727, 2005.

PRABIJAKER, N., MORSE, J. G., CASTLE, S. J., NARANJO, S. E., IIENNEBERRY, T. J., TOSCANO, N. C. Toxicity of seven foliar insecticides to four insect parasitoids attacking citrus and cotton pests. **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v. 100, n. 40, p. 1053-1061, 2007.



RAGA, A.; BREDA JUNIOR, J. M.; SOUZA FILHO, M. F. de. Ação de inseticidas sobre a larva minadora *Phyllocnistis citrella* (Lep.: Gracillariidae) em tangor murcote. **Ecossistema**, Espírito Santo do Pinhal, v. 25: 2, p.157-159, 2000.

RAUCH, N.; NAUEN, R. Biochemical markers linked to neonicotinoid cross-resistance in *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae). **Archives of Insect Biochemistry and Physiology**, New York, v. 54, p. 165-172, 2003.

RILL, S. M., GRAFTON-CARDWELL, E. E., MORSE, J. G. Effects of two insect growth regulators and a neonicotinoid on various life stages of *Aphytis melinus* (Hymenoptera; Aphelinidae). **Biocontrol**, Dordrecht, 2007. Disponível em: <http://10.1007/s10526-007-9097-x>. Acesso em 12 jan.2008.

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

ROCHA, L.C.D.; CARVALHO, G.A. Adaptação da metodologia padrão da IOBC para estudos de seletividade com *Trichogramma pretiosum* Riley, 1879 (Hymenoptera: Trichogrammatidae) em condições de laboratório. **Acta Scientiarum**, Maringá, v. 26, n. 3 , p. 315-320, 2004.

ROSENHEIM, J.A.; HOY, M.A. Sublethal effects of pesticides on the parasitoid *Aphytis melinus* (Hymenoptera: Aphelinidae). **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v. 81, n. 2, p. 476-483, 1988.

SAS Institute Inc. SAS/STAT: user's guide, Version 9. SAS Institute Inc.: Cary, NC, 2000.

SCHULD, M., SCHMUCK, R. Effects of thiacloprid, a new chloronicotinyl insecticide, on the egg parasitoid *Trichogramma cacoeciae*. **Ecotoxicology**, Netherlands, v. 9, p. 197-205, 2000.

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

STEVENSON, J.H.; WALTERS, J.H.H. Evaluation of pesticides for use with biological control. **Agriculture, Ecosystems & Environment**, v.10, p. 201-215, 1983.

SYMINGTON, C. Lethal and sublethal effects of pesticides on the potato tuber moth, *Phthorimaea operculella* (Zeller) (Lepidoptera: Gelechiidae) and its parasitoid *Orgilus lepidus* Muesebeck (Hymenoptera: Braconidae). **Crop Protection**, Guildford, v. 22, p. 513-519, 2003.

TEIXEIRA, D.C.; SAILLARD, C.; EVEILLARD, S.; DANET, J. L.; DA COSTA, P. I.; AYRES, A. J.; BOVÉ, J. *Candidatus Liberibacter americanus*, associated with citrus huanglongbing (“greening” disease) in São Paulo State, Brazil. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, Reading, v. 55, p. 1857-1862, 2005.

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

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

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

TORRES, M.G.T.; NAVA, D.E.; GRAVENA, S.; COSTA, V.A.; PARRA, J.R.P. Registro de *Tamarixia radiate* (Waterston) (Hymenoptera: Eulophidae) em *Diaphorina citri* Kuwayama (Homoptera: Psyllidae) em São Paulo, Brasil. **Revista de Agricultura**, Piracicaba, p.112-117, 2006.

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

TSAI, J. H.; WANG, J. J.; LIU, Y. H. Sampling of *Diaphorina citri* (Homoptera: Psyllidae) on orange jessamine in Southern Florida. **Florida entomologist**, v.83, n.4, p. 446-459, 2000.

WANG, H.Y.; YANG, Y.; SU, J.Y.; SHEN, J.L.; GAO, C.F.; ZHU, Y.C. Assessment of the impact of insecticides on *Anagrus nilaparvate* (Pang et Wang) (Hymenoptera: Mymanidae), an egg parasitoid of the rice planthopper, *Nilaparvata lugens* (Homoptera: Delphacidae). **Crop Protection**, Guildford, 2007. In press. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.cropro.2007.08.004>. Acesso em 21 nov. 2007.

WATERSTON, J.; On the chalcidoid parasites of psyllids (Hemíptera: Homoptera). **Bulletin of Entomological Research**, Farnham Royal, v. 13, p. 41–58, 1922.

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

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

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

YAMAMOTO, P. T.; PRIA JUNIOR, W. D.; ROBERTO, S. R. et al. Controle químico da cigarrinha em citros. **Laranja**, Cordeirópolis, v. 23, n. 1, p.141-154, 2002.