

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

Efeitos subletais de inseticidas em *Tamarixia radiata*

Gabriel Oliveira Matsumoto

Trabalho de conclusão de curso apresentado como parte dos requisitos para obtenção do título de Engenheira Agrônoma

**Piracicaba
Ano 2018**

Gabriel Oliveira Matsumoto

Efeitos subletais de inseticidas em *Tamarixia radiata*

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

Trabalho de conclusão de curso apresentado como parte dos requisitos para obtenção do título de Engenheira Agrônoma

**Piracicaba
Ano 2018**

RESUMO	4
1 INTRODUÇÃO	5
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	7
3 MATERIAL E MÉTODOS	12
3.1 Criação de manutenção de <i>D. citri</i> Kumayama, 1908 (Hemiptera: Liviidae)....	13
3.2 Criação de manutenção de <i>T. radiata</i>	13
3.3 Efeito de inseticidas sobre a capacidade de parasitismo e emergência da <i>T. radiata</i>	14
3.4 Efeito de inseticidas sobre pupas da <i>T. radiata</i>	16
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	17
4.1 Efeito de inseticidas sobre a capacidade de parasitismo e emergência da <i>T. radiata</i>	17
4.2 Efeito de inseticidas sobre pupas de <i>Tamarixia radiata</i>	20
REFERÊNCIAS	25

RESUMO

Efeitos subletais de inseticidas em *Tamarixia radiata*

No histórico da citricultura brasileira pode-se citar diversos desafios, principalmente, aqueles associados a doenças as quais resultaram em graves problemas e causaram impactos severos ao setor, como o Vírus da Tristeza dos Citros, Clorose Variegada dos Citros e o Huanglongbing (HLB), sendo esta última, a mais severa, atacando praticamente todas as cultivares comerciais conhecidas atualmente. Sabe-se que o HLB, ou comumente conhecido por greening, está associado a presença da bactéria *Candidatus Liberibacter* spp. nos tecidos da planta infectada. Atualmente, três espécies desta bactéria já foram identificadas, sendo estas: *Ca. Liberibacter americanus*, *Ca. Liberibacter asiaticus* e *Ca. Liberibacter africanus*. O HLB possui diversas formas de disseminação, podendo ser levada de um local para outro por meio do transporte de plantas hospedeiras, tanto citros, como ornamentais, enxertia com material contaminado e através de insetos vetores como o psílideo dos citros *Diaphorina citri* Kuwayama, 1908 (Hemiptera: Liviidae). Muitas técnicas de manejo já foram testadas com o intuito de controlar o HLB como a aplicação de antibióticos e manejo nutricional das plantas com aplicação de micronutrientes a fim de diminuir suscetibilidade e avanço da doença, porém, sem significativo sucesso. Dentre os insetos benéficos capazes de controlar a *D. citri* tem-se *Tamarixia radiata* (Waterston, 1922) (Hymenoptera: Eulophidae) considerada como a espécie mais eficiente neste manejo. Por fim, o intuito deste projeto foi avaliar a toxicidade e possíveis efeitos subletais do SIVANTO®prime em diferentes concentrações e estágios de desenvolvimento da *T. radiata*, aferindo a sua utilização em no manejo integrado de pragas para a cultura dos citros. Com a análise dos dados obtidos foi possível observar que o produto SIVANTO®prime, na dosagem de 8 g i.a.100L⁻¹, não se demonstrou nocivo ao parasitoide *T. radiata*, em nenhuma de suas fases de desenvolvimento testadas, adulto ou pupa. Portanto, tais resultados sugerem que este inseticida é uma boa escolha para um manejo integrado de pragas em citros visando controle do psílideo *D. citri*.

Palavras-chave: flupyradifurone; parasitoide; manejo integrado de pragas; controle biológico; citros

1 INTRODUÇÃO

O Brasil é o terceiro maior produtor de frutas do mundo, ficando atrás apenas da China e Índia, respectivamente, sendo que o país possui grande participação no comércio mundial, tanto na exportação de frutas processadas como frescas. Dentre estas frutas temos os citros, compreendendo laranjas, limas e limões, como importantes destaques na fruticultura brasileira (SEBRAE, 2015). Apenas a exportação de limas e limões, representa uma receita de 90 milhões de dólares para o Brasil (HORTIFRUTI BRASIL, 2018) somados aos US\$ 1,556 bilhão provenientes da exportação de suco de laranja resultantes da safra 2017/18 (CitrusBR, 2018) confirmam a importância deste setor na economia brasileira.

No entanto, historicamente muitas doenças já abalaram a citricultura, resultando na busca por novas estratégias a fim de que se mantenha a viabilidade deste setor. Segundo Bové (2006), de todas as doenças que atingem as plantas cítricas, o Huanglongbing (HLB) é, definitivamente, a pior, uma vez que a mesma não possui métodos curativos. A disseminação desta doença no Brasil está associada ao seu vetor *Diaphorina citri* Kuwayama, 1908 (Hemiptera: Liviidae) e, dessa maneira, as medidas de controle visam a redução populacional deste inseto.

Nesta busca por opções de manejo eficientes, técnicas de manejo integrado de pragas, já conhecidos e utilizados na citricultura, ampliaram-se também para o controle do psílídeo. Neste conceito, temos a utilização do controle químico como um componente desta estratégia de manejo, mas este, por meio da utilização de inseticidas seletivos de modo que haja a menor interferência possível no controle biológico, seja de ocorrência natural ou pela introdução de outros insetos, modificando o meio (STERN et al., 1959).

Diante a estes fatos, é de extrema importância a identificação e estudo de possíveis inseticidas a serem utilizados em um sistema de manejo integrado de pragas em citros, permitindo, assim, a rotação de ingredientes ativos, aumentar as opções dos produtores ao comprarem estes produtos e, por último mas não menos importante, gerar conhecimento, podendo aplicar-se o mesmo conceito para pragas semelhantes em demais culturas.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

O Brasil é o maior produtor de laranjas do mundo, ocupando também a segunda posição no cenário mundial de produção de citros (FAO, 2016). Segundo IBGE (2018), o país possui uma área de cerca de 700 mil de hectares, dos quais, o principal estado produtor é São Paulo, seguido da Bahia e Sergipe. O setor citrícola é bem estruturado, se expandiu e se consolidou pelo desenvolvimento de tecnologias por órgãos governamentais, levando esta indústria a patamares de importância mundial (NEVES et al., 2010). Na safra 2016/17, no cinturão citrícola de São Paulo e Triângulo Mineiro foram processadas cerca de 202 milhões de caixas de laranja de 40,8kg, com um rendimento industrial no processamento destas frutas 5.2% maior em relação à safra anterior (CitrusBR, 2017). Atualmente, na safra recém-fechada, houve também um grande aumento nas exportações de suco de laranja, o qual com um crescimento de 29%, destacou-se como o maior volume embarcado já registrado. Este crescimento esteve associado a drástica restrição da produção citrícola no estado americano da Flórida, principal concorrente do Brasil no mercado de suco de laranja.

No entanto, no histórico da citricultura brasileira pode-se citar diversos desafios, principalmente, aqueles associados a doenças as quais resultaram em graves problemas e causaram impactos severos ao setor, como o Vírus da Tristeza dos Citros, Clorose Variegada dos Citros e o Huanglongbing (HLB) (CRISTOFANI et al., 2005). Segundo Bové (2006), dentre todas as doenças que afetam a cultura dos citros, o HLB é a mais severa, atacando praticamente todas as cultivares comerciais conhecidas atualmente. Além disso, segundo mesmo autor, esta doença não possui métodos curativos. Sabe-se que o HLB, ou comumente conhecido por greening, está associado a presença da bactéria *Candidatus Liberibacter* spp. nos tecidos da planta infectada. Atualmente, três espécies desta bactéria já foram identificadas, sendo estas: *Ca. Liberibacter americanus*, *Ca. Liberibacter asiaticus* e *Ca. Liberibacter africanus*. A primeira constatação desta doença em territórios brasileiros foi em 2004, no município de Araraquara, interior do estado de São Paulo (COLLETA-FILHO et al., 2004), sendo que das espécies até então identificadas apenas a *Ca. Liberibacter africanus* ainda não foi diagnosticada no Brasil.

O HLB possui diversas formas de disseminação, podendo ser levada de um local para outro por meio do transporte de plantas hospedeiras, tanto citros, como ornamentais (BASSANEZI et al., 2010), enxertia com material contaminado e através de insetos vetores (DE GRAÇA, 1991). Existem diversos insetos capazes de atuar como vetores sendo os de maior importância: *Trioza erytreae* (Del Guercio, 1918) (Hemiptera: Triozidae), *Diaphorina citri* Kuwayama, 1908 (Hemiptera: Liviidae) e *Cacopsylla citrisuga* (Yang & Li, 1984) (Hemiptera: Psyllidae). Quanto a este último, possui distribuição restrita ao território da China, onde atua como transmissor da bactéria *Ca. Liberibacter asiaticus* (CEN et al. 2012).

Segundo Halbert et al. (2004), o psílideo *D. citri*, é mais adaptado a regiões de clima quente, enquanto o *T. erytreae* a clima mais amenos. Desta forma, o *D. citri* é o inseto com maior distribuição no globo terrestre, sendo responsável pela disseminação do HLB em diversas regiões produtoras no mundo. Por outro lado, o *T. erytreae*, possui importância restrita ao continente africano.

O psílideo dos citros, *D. citri*, é bem pequeno, sendo que na sua fase adulta, mede de 2 a 3 mm de comprimento. Além do mais, quando perturbados, saltam pequenas distâncias. A identificação deste inseto é facilitada devido ao seu comportamento enquanto o mesmo está em repouso, pois ele flexiona o primeiro par de pernas, formando um ângulo agudo de 45° (FERNÁNDEZ; MIRANDA, 2005). Existe dimorfismo sexual, sendo o aparato sexual a parte do corpo do inseto que permite tal distinção, uma vez que o macho possui abdômen menor e mais pontiagudo que a fêmea. Quanto a sua fase jovem, este inseto possui cinco ínstaras ninfais, os quais são praticamente imóveis, fixando-se as plantas, alimentando-se, enquanto secreta uma substância semelhante ao "honeydew" (GOMES-TORRES, 2009).

É importante ressaltar que a ocorrência tanto de adultos como ninfas está sempre associada a ramos e brotações novas, as quais são utilizadas não somente para alimentação deste insetos, mas também são preferidas pelas fêmeas adultas para oviposição, de modo que escassez destes brotos jovens é limitante para o aumento populacional deste inseto (PARRA et al., 2010). Contudo, a alimentação deste inseto, tanto na fase de ninfa como adulta, pode se dar em folhas maduras, uma vez que haja indisponibilidade de brotações na planta em que se encontram. Além da disponibilidade de material para alimentação destes insetos, outros fatores podem influenciar na dinâmica populacional desta espécie. Segundo

Gomez-Torres (2009), a sobrevivência da *D. citri* possui forte correlação com a umidade relativa do ar – UR, de forma que a melhor desempenho e desenvolvimento deste inseto foi observado para valores de UR acima de 50%. A temperatura e o hospedeiro do qual a psílídeo se alimenta também podem influir no seu ciclo de vida. Estudos realizados por Nakata (2006) utilizando *Murraya paniculata* como hospedeiro e o intervalo de temperatura de 15 a 32,5 °C, indicaram que o desenvolvimento deste inseto acelerou com o aumento da temperatura até 30 °C. Passado este limite, houve uma grande mortalidade de ninfas atingindo taxas superiores a 80%.

Quanto aos danos causados pelo psílídeo, estes podem ocorrer de forma direta resultando em brotações engruvinhadas e retorcidas, enrolamento de folhas novas e em estágios mais críticos, quando a alimentação se dá por sucessivas picadas, pode haver morte da gema apical ou quedas das folhas do ponteiro (GALLO et al., 2002). O crescimento da fumagina devido a excreção do honeydew proveniente da alimentação das ninfas é um dano indireto, pois este fungo diminui a capacidade fotossintética da planta visto que a superfície das folhas se encontra externamente cobertas (CHIEN; CHU, 1996). Apesar de todos os possíveis danos causados por este inseto, o maior impacto ainda é sua atuação como vetor na disseminação das bactérias associadas ao HLB. Os prejuízos causados nos pomares cítricos são tão catastróficos que estudos realizados por Oliveira et al. (2013) indicam que caso haja a introdução desta doença associada ao psílídeo no estado da Bahia, em uma projeção de vinte anos, o setor citrícola baiano pode sofrer prejuízos que superam 1,8 bilhão de reais em um cenário no qual medidas de controle não sejam aplicadas. Põe-se em evidência que o vetor pode adquirir ou inocular o patógeno em curtos períodos de tempo, 15 a 30 minutos já são suficientes para a transmissão, apesar da eficiência deste processo aumentar de acordo com o aumento do tempo em que o inseto se alimenta (CAPOOR; RAO; WISWANATH, 1974).

Muitas técnicas de manejo já foram testadas com o intuito de controlar o HLB como a aplicação de antibióticos (BOVÉ, 2006) e manejo nutricional das plantas com aplicação de micronutrientes a fim de diminuir suscetibilidade e avanço da doença (XIA et al., 2011), porém, sem significativo sucesso. Ademais, não existe nenhum relato de plantas cítricas resistentes e por este motivo, para o manejo desta doença, adota-se como medidas a serem tomadas: a utilização de mudas saudáveis, ou

seja, livres do patógeno, eliminação de plantas sintomáticas e, por fim, controle do vetor (YAMAMOTO et al., 2014). Quanto a esta última medida de controle, tem-se como uma das estratégias o manejo integrado de pragas, visando equilíbrio entre a população dos insetos praga e seus inimigos naturais. Tendo em vista este conceito, a utilização de inseticidas seletivos é uma prática viável e muito eficiente a fim de que se mantenha a população da praga abaixo do nível de dano econômico com o menor impacto possível sob os insetos benéficos (YAMAMOTO et al., 1992).

Dentre os insetos benéficos capazes de controlar a *D. citri* tem-se *Tamarixia radiata* (Waterston, 1922) (Hymenoptera: Eulophidae) considerada como a espécie mais eficiente neste manejo. Trata-se de um ectoparasitoide idiobionte nativo da Índia (CHIEN, 1995). Os adultos desta espécie são ainda menores que os de *D. citri*, medindo, em média, apenas de 0.92 a 1.04mm de comprimento. Este parasitoide também apresenta dimorfismo sexual, permitindo a fácil diferenciação entre os sexos, uma vez que os machos são, de modo geral, menores, possuem as antenas mais longas cobertas com pilosidades, abdômen estreito e de coloração escura. As fêmeas, por sua vez, são maiores, com antenas curtas e sem pelos, além de possuir um abdômen largo e com o ovipositor evidente (ONAGBOLA et al., 2009).

Existem diversos fatores que podem influir na taxa de parasitismo da *T. radiata*. Primeiramente, este parasitoide possui preferência a parasitar ninfas de quarto e quinto instares com relatos de taxa de parasitismo podendo chegar a 88,75%, além de uma possível predação de instares inferiores e ovos, conforme Gomez-Torres (2009). Ao se combinar ambas formas de controle exercidas por este heminóptero, CHIEN e CHU (1996) constataram que uma fêmea seria capaz de eliminar 500 ninfas de *D. citri*, ao longo de toda sua vida. Durante o processo do parasitismo, a fêmea de *T. radiata* coloca um ou dois ovos na face ventral da ninfa do psilídeo, mas apenas uma destas larvas se desenvolverá, alimentando-se da hemolinfa da ninfa e, conseqüentemente, matando-a. Passada esta etapa, o inseto, a fim de que possa pupar em segurança, fixa os restos do ninfa a qual ele se alimentou na planta. Por fim, ao atingir a fase adulta, o parasitoide perfura a região anterior da ninfa, formando um orifício típico de sua emergência (PARRA et al., 2017). Outros fatores que também influem no desenvolvimento deste inseto são a UR a qual quando equivalente a 70% propicia um ambiente favorável para maiores taxas de parasitismo e emergência. A temperatura ambiente por volta de 25 a 30 °C

também provou ser uma condição favorável para o desenvolvimento e incremento populacional deste parasitoide (GÓMEZ-TORRES et al., 2012).

Como tratado anteriormente, a *T. radiata* possui um grande potencial de utilização em um programa de manejo integrado de pragas voltado para o controle do HLB e de seu vetor *D. citri*. Conforme observado por Diniz (2013), após oito liberações de 400 indivíduos de *T. radiata* por hectare em diversas localidades do estado de São Paulo, observou-se um aumento de até 8,76 vezes na taxa de parasitismo deste inseto e ainda ocasionou em uma redução de até 88.8% no número de ninfas do psilídeo. A eficiência deste agente de controle biológico foi ainda confirmada pela redução de até 78% do número de psilídeos adultos capturados em armadilhas amarelas após liberação de *T. radiata* em algumas regiões como Itapetininga – SP.

Em 2015, a Bayer AG lançou um novo inseticida nomeado “SIVANTO®prime”. Trata-se de um pesticida pertencente a uma nova classe química, butenolide, altamente eficiente contra insetos sugadores. Seu ingrediente ativo, flupyradifurone, assim como a classe dos neonicotinoides, atua como um agonista de receptores nicotínicos de acetilcolina, porém é estruturalmente diferente de outros agonistas já conhecidos e descritos (Figura 1). Esta molécula ao se ligar com as suas proteínas receptores induz a despolarização da corrente iônica e, conseqüentemente, supraexcitação da célula nervosa, além disso, diferentemente das acetilcolinas, o flupyradifurone não é inativado através por meio da enzima acetilcolinesterase, resultando na desordem do sistema nervoso dos insetos expostos a esta molécula e, por fim, sua morte (NAUEN et al., 2014). Segundo Hesselbach (2018), apenas concentrações muito altas, acima da dosagem recomendada deste produto comercial, são capazes de gerar distúrbios negativos em abelhas (*Apis mellifera*) apontando que o uso correto deste produto é seguro à estes sensíveis insetos.



Figura 1. A esquerda observa-se a estrutura molecular do flupyradifurone, da classe química dos butenolide e a direita, trata-se do imidacloprid, ingrediente ativo comum em inseticidas da classe dos neonicotinoides.

Os desenvolvedores desta molécula afirmam que se trata de um produto que se distribui de maneira translaminar, ou seja, é capaz de atingir a face oposta da folha a qual teve contato com o inseticida. Além disso, uma vez absorvido, é translocado via xilema e se redistribui pelas demais partes da planta.

A escolha do estudo do SIVANTO®prime se deu pelo fato de ser um produto eficiente no controle do psilídeo dos citros, *D. citri*. De acordo com Chen et al. (2017), insetos desta espécie expostos a dosagem subletal de flupyradifurone, diminuíram o número de ovos postos, alimentação e estabelecimento em plantas hospedeiras. Ainda, os desenvolvedores desta molécula garantem o sucesso do controle desta praga, utilizando-se as dosagens recomendadas.

Por fim, o intuito deste projeto é avaliar a toxicidade e possíveis efeitos subletais do SIVANTO®prime em diferentes concentrações e estágios de desenvolvimento da *T. radiata*, aferindo a sua utilização em no manejo integrado de pragas para a cultura dos citros.

3 MATERIAL E MÉTODOS

Ambos bioensaios e criação dos insetos *D. citri* e *T. radiata* foram realizados nos laboratórios de Manejo Integrado de Pragas e Biologia de Insetos, pertencentes ao Departamento de Entomologia e Acarologia da ESALQ/USP, em Piracicaba/SP.

3.1 Criação de manutenção de *D. citri* Kumayama, 1908 (Hemiptera: Liviidae)

A técnica de criação foi adaptada de Gomez-Torres (2009), sendo utilizadas plantas de *Murraya paniculata* (L.) Jack (murta), pelo fato desta espécie ser o hospedeiro preferencial de *D. citri* para alimentação e oviposição (AUBERT, 1987).

As gaiolas de 45 x 45 x 60 cm utilizadas na criação foram mantidas em casa de vegetação. Seis murtas de aproximadamente 30 cm, contendo brotações novas foram adicionadas a cada gaiola. Para postura, foram liberados 300 adultos de *D. citri* por um período de sete dias. Passado este tempo os adultos serão removidos com auxílio de sugadores, manual ou automático, e as plantas desta vez com ovos, continuaram no mesmo local para desenvolvimento dos insetos.

3.2 Criação de manutenção de *T. radiata*

Para a criação do parasitoide *T. radiata* foram oferecidas plantas de murta infestadas com ninfas de 4^o e 5^o ínstar de *D. citri* totalizando 12 plantas por gaiola de 50 x 50 x 90 cm. Em média, oferecia-se 1000 ninfas por gaiola, as quais eram mantidas sob condições controladas de 25 °C, umidade relativa de 70% e fotofase de 14 h.

Além disso, em cada gaiola foram liberados espécimes de *T. radiata* em uma proporção mínima de 1 parasitoide para cada 10 ninfas, alimentadas com uma mistura de mel e pólen em uma proporção de 2:1, oferecidas na parte superior da gaiola com auxílio de um palito de churrasco (Figura 2).

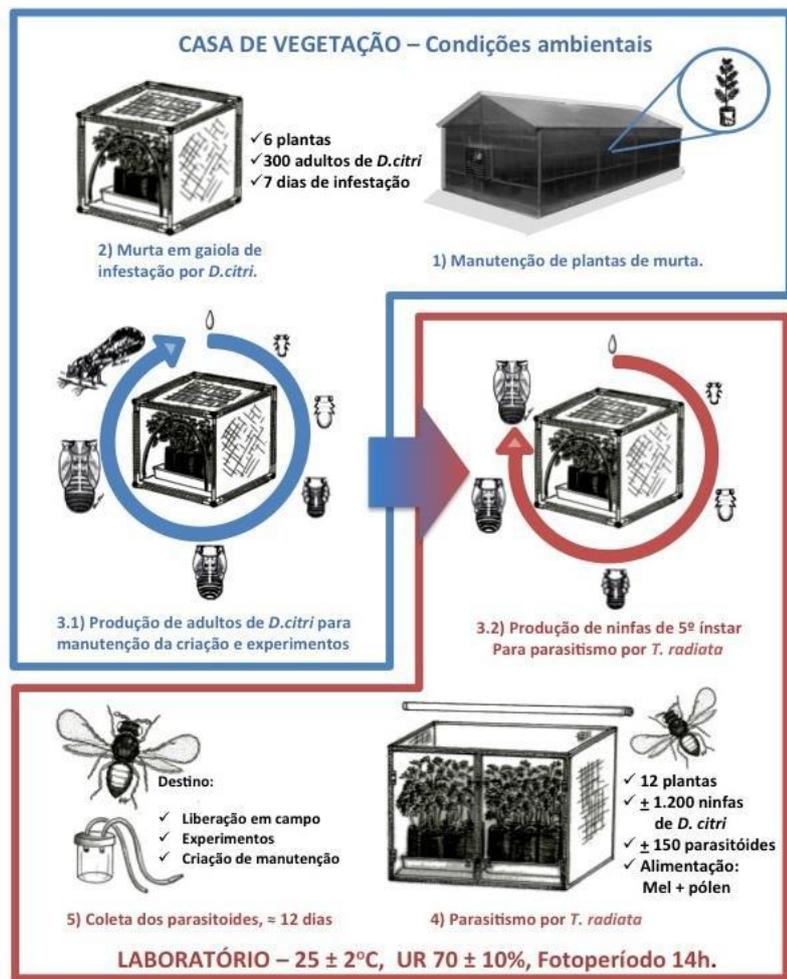


Figura 2 – Representação esquema de criação de *D. citri* e *T. radiata* em casa-de-vegetação e laboratório. Retirado de Alves (2012).

3.3 Efeito de inseticidas sobre a capacidade de parasitismo e emergência da *T. radiata*

Para a realização dos experimentos foram testados os inseticidas, com suas concentrações e ingrediente ativo, indicados na Tabela 1.

Tabela 1. Concentração dos inseticidas a serem testados nos experimentos de toxicidade aguda e efeitos lubletais em *Tamarixia radiata*.

Tratamento	Ingrediente Ativo	Classe Química	Concentração (g i.a. 100 L ⁻¹)
SIVANTO®prime	Flupyradifurone	Butenolide	5
SIVANTO®prime	Flupyradifurone	Butenolide	6
SIVANTO®prime	Flupyradifurone	Butenolide	7
SIVANTO®prime	Flupyradifurone	Butenolide	8
Lorsban® 480 BR	Chlorpyrifos	Organofosforado	72
Provado	Imidacloprid	Neonicotinoide	4
Controle	-	-	-

Utilizou-se discos foliares de 4,0 cm de diâmetro de laranja 'Valência' cultivadas em casa de vegetação, submetidos a pulverização em de Potter de 2 mL de solução destes inseticidas sob 15 PSI correspondente a uma deposição de 1,5 a 2,0 mg.cm⁻². Os discos foliares foram alocados em placas contendo mistura geleificada de ágar-água a 2,5%, para evitar ressecamento das folhas. Posteriormente, uma fêmea de *T. radiata* com 24 h de idade foi acionada a estas placas de Petri e fechadas com tecido *voil* para evitar a fuga dos insetos e a tampa com furo de 2,5 cm para trocas gasosas. Além disso, foi oferecida uma gotícula da mesma mistura de mel-pólen usada na criação destes insetos sob uma fita adesiva de 2 x 2 mm colada na superfície da folha.

Foram oferecidas cerca de 10 ninfas de 4^o e 5^o ínstaes, transferidas com o auxílio de um pincel fino de cerdas firmes, colocando-as em plantas de murta plantas, de aproximadamente 15 cm, em tubetes de 50 mL com substrato. As mudas foram alocadas em copos plásticos de 400 mL furados na base do diâmetro dos tubos e encaixados sob outro, o qual, por sua vez, continha água para manutenção da planta. O copo superior foi fechado com uma tampa com furo aproximadamente 5 cm de diâmetro para trocas gasosas e tecido *voil* evitando a fuga dos insetos.

Uma fêmea de *T. radiata* que sobreviveu 24 h após contato com o inseticida foi transferida para copos com plantas de murta infestadas por ninfas para parasitismo, permanecendo neste recipiente por 48 h. Após este período, as fêmeas

encontradas foram coletadas individualmente, foi oferecida a mistura de mel e pólen e avaliar-se-á a longevidade das mesmas.

Nove dias após o contato entre o parasitoide e as ninfas de *D. citri*, foram avaliadas as taxas de parasitismo e emergência dos parasitoides.

O delineamento utilizado foi inteiramente casualizado e os dados foram analisados de forma que, primeiramente, removeu-se possíveis outliers em cada um dos tratamentos e, em seguida foram submetidos ao teste de Krustal-Wallis a 0,05 de significância, o qual permite analisar amostras de tamanhos diferentes.

3.4 Efeito de inseticidas sobre pupas da *T. radiata*

Para a obtenção de pupas do parasitoide, plantas de murta provenientes da criação de *D. citri* contendo ninfas, preferencialmente entre 4° e 5° instar foram selecionadas, e estimou-se o número de indivíduos presentes nestas mudas. Em seguida, liberou-se os parasitoides na proporção de 1 para cada 10 ninfas, permanecendo em contato com o hospedeiro por 48 h. Após este período, os parasitoides foram capturados e descartados. Nove dias após o contato hospedeiro-parasitoide, ramos contendo ninfas as quais encontravam-se mumificadas foram cortados e submetidos à pulverização com auxílio de borrifadores até atingirem o ponto de escorrimento. Feito isto, os ramos foram alocados em placas de Petri (com 6 cm de diâmetro) contendo um algodão o qual era diariamente umedecido, evitando o ressecamento dos ramos. O bioensaio foi mantido sob condições controladas de temperatura à 25 °C, umidade relativa do ar de 60% e fotoperíodo de 14 h. Foram realizadas avaliações diárias de emergência dos parasitoides até a interrupção das mesmas.

Este experimento foi constituído de três repetições, sendo estas o tratamento controle (água destilada) e soluções dos inseticidas SIVANTO®prime e Lorsban® 480 BR (Tabela 2).

A análise estatística foi similar ao experimento anterior, sendo o delineamento utilizado o inteiramente casualizado, retirando-se possíveis outliers em cada um dos tratamentos e, posteriormente, os dados foram submetidos ao teste de Krustal-Wallis a 0,05 de significância.

Tabela 2. Nome comercial, ingrediente ativo e concentração dos inseticidas testados nos experimentos de efeito da aplicação de inseticidas em pupas de *Tamarixia radiata*.

Tratamento	Ingrediente Ativo	Classe Química	Concentração (g i.a. 100 L ⁻¹)
SIVANTO®prime	Flupyradifurone	Butenolide	8
Lorsban® 480 BR	Chlorpyrifos	Organofosforado	72
Controle	-	-	-

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Efeito de inseticidas sobre a capacidade de parasitismo e emergência da *T. radiata*

Primeiramente, foi avaliada a interferência do inseticida na capacidade de parasitismo do parasitoide, sendo esta calculada pela razão entre ninfas de *D. citri* oferecidas e o número de ninfas parasitadas alguns dias após o contato parasitoide-hospedeiro. Neste experimento foi possível observar que apesar do aumento da dosagem do ingrediente ativo flupyradifurone, não houve diferença estatística quando comparados estes tratamentos ao controle. Um comportamento similar pode ser observado pelo imidacloprid, o qual também não diferiu do tratamento em que apenas água destilada foi pulverizada (Tabela 3).

Tabela 3. Redução nas taxas de parasitismo e emergência de *T. radiata*, após ser exposta aos inseticidas listadas em suas devidas concentrações.

Tratamento	Ingrediente Ativo	Concentração (g i.a. 100 L ⁻¹)	Parasitismo (%)	Emergência (%)
SIVANTO®prime	Flupyradifurone	5	20,00±8,16 b	91,67±16,67 ab
SIVANTO®prime	Flupyradifurone	6	58,24±7,51 a	92,67±10,11 ab
SIVANTO®prime	Flupyradifurone	7	53,61±19,45 a	89,58±13,37 ab
,SIVANTO®prime	Flupyradifurone	8	56,00±25,10 a	74,11±33,42 b
Provado	Imidacloprid	4	53,60 ± 24,48 a	83,17±18,34 b
Lorsban ® 480 BR	Chlorpyrifos	72	0,00 b	0,00 c
Controle	-	-	72,46 ± 22,18 a	98,14±4,53 a

Ainda que não se tenha notado nenhuma diferença estatística entre os tratamentos de diferentes dosagens do inseticida SIVANTO®prime e o controle, é importante ressaltar que por meio da observação dos dados obtidos, a aplicação de inseticidas reduziu a taxa de parasitismo e que quando comparadas as médias dos tratamentos, observa-se uma redução de aproximadamente 30% dos tratamentos nos quais foram aplicados o produto químico.

Estudos realizados por Colares et al. (2017), com o intuito de justificar a viabilidade do produto Sivanto em um sistema de manejo integrado de pragas em cana de açúcar, indicaram a toxicidade do ingrediente ativo, flupyradifurone. Tal toxicidade diferiu de acordo com o modo de exposição da molécula à joaninha *Hippodamia convergens* Guerin-Meneville (Coleoptera: Coccinellidae), utilizados como controle biológico. Os resultados deste experimento demonstraram que houve 35% de mortalidade de adultos após a ingestão da presa contaminada com este ingrediente ativo, enquanto as aplicações deste inseticida sob larvas de quarto instar de *H. convergens* resultou em 90% de mortalidade. No entanto, a dosagem do produto utilizada neste experimento foi posteriormente reduzida pela metade em sua bula e, além disso, notou-se que esta molécula mesmo causando efeitos maléficis ao inseto utilizado como controle biológico, a nocividade não foi tão intensa, em outras palavras, os efeitos não foram tão tóxicos como outros agonistas de receptores nicotínicos de acetilcolina, portanto, este produto foi classificado compatível com o um programa de manejo integrado de pragas na cultura da cana de açúcar.

Sabe-se que flupyradifurone compartilha diversas semelhanças com produtos químicos da classe dos neonicotinoides, uma vez que ambos são altamente solúveis em água, inseticidas sistêmicos e persistem moderadamente no ambiente, com um tempo de meia-vida de cinco meses (Bayer, 2013). Um trabalho relacionado a mensuração da toxidez de flupyradifurone em insetos, teve como objeto de estudo abelhas melíferas (*Apis mellifera carnica*). Segundo Hesselbach (2018), este tipo de abelhas sofre efeitos negativos quando expostas a inseticidas do grupo dos neonicotinoides, afetando a cognição e longevidade destes insetos. Visto que o grupo butenolide, o qual pertence flupyradifurone, possui o mesmo modo de ação que os neonicotinoides, o estudo desta autora, visou alimentar estas abelhas com diferentes dosagens de flupyradifurone e avaliar os possíveis danos à estes sensíveis insetos. Por fim, conclui-se que apenas a utilização deste composto químico em dosagens extremamente altas e que naturalmente as abelhas não serão expostas podem causar efeitos nocivos quanto a performance cognitiva e processo de aprendizados destes insetos, assegurando a viabilidade do uso correto deste ingrediente ativo. Entretanto, segundo Beloti et al. (2015) o qual também testou a toxicidade de inseticidas em *T. radiata*, porém, realizou seus ensaios com o ingrediente ativo imidacloprid, pertencente a classe dos neonicotinoides, constatou mortalidade superior a 75% ao expor adultos deste inseto ao inseticida, comprovando a sua toxidez contra este agente de controle biológico. Resultados similares foram obtidos por Hall e Nguyen (2010) ao testarem este mesmo composto, no entanto, estes autores verificaram uma toxidez ainda mais elevada, atingindo 90% de mortalidade dos adultos expostos a este inseticida.

Por fim, o agroquímico Lorsban® 480 BR, contendo o ingrediente ativo chlorpyrifos, demonstrou-se muito tóxico, de forma que nenhuma das fêmeas as quais tiveram contato com os resíduos do inseticida sobreviveram para que se realiza-se as análises subsequentes. Resultados similares foram obtidos por Beloti et al. (2015) o qual também notou mortalidade de 100% dos parasitoides *T. radiata* que tiveram contato com resíduos deste inseticida. Hall e Nguyen (2010) ao exporem este mesmo parasitoide em contato com inseticidas do grupo chlorpyrifos, também obtiveram taxas de mortalidade elevadas superando 95%, confirmando a suscetibilidade deste inseto a este grupo químico.

Quanto a porcentagem de emergência, foi possível detectar não somente diferenças entre os tratamentos de diferentes inseticidas, mas também

entre as diferentes dosagens de um mesmo produto. O agroquímico SIVANTO®prime na dosagem de 8 g i.a. 100 L⁻¹, assim como o Provado, apresentou significativa redução na porcentagem de emergência em relação aos tratamentos com este mesmo produto em dosagem menores. Em relação ao controle, o tratamento com a maior concentração de flupyradifurone apresentou uma redução de 32,4%, o que sugere uma possível interferência no desenvolvimento do parasitoide.

4.2 Efeito de inseticidas sobre pupas de *Tamarixia radiata*

Cerca de oito dias após a aplicação de inseticidas sob as pupas de *D. citri*, contendo pupas do parasitoide *T. radiata*, foi possível avaliar o efeito destes agroquímicos na emergência do parasitoide em questão. Como esperado, o tratamento controle, água, não sofreu interferência quanto ao desenvolvimento dos insetos, já os inseticidas testados diferiram estatisticamente do tratamento controle. O produto Lorsban ® 480 BR, ocasionou em 100% de mortalidade de *T. radiata* (Tabela 4), além disso, durante a avaliação deste produto, foi possível observar que muito parasitoides completaram seu desenvolvimento até a fase adulta, mas no momento da emergência, propriamente dita, foram expostos ao inseticida, por meio de ingestão, resultando a morte do inseto (Figura 2).

Tabela 4. Avaliação da interferência na emergência do parasitoide *Tamarixia radiata* após ser submetida a aplicação de inseticidas durante sua fase pupal.

Tratamento	Ingrediente Ativo	Concentração (g i.a. 100 L ⁻¹)	Emergência (%)	Longevidade	
				Macho	Fêmea
Controle	-	-	91,55±7,44 a	15,33±10,3 a	14,6±8,36a
SIVANTO®prime	Flupyradifurone	8	90,18 ±10,9 a	17,14±9,61 a	11,2±6,26a
Lorsban ® 480 BR	Chlorpyrifos	4	0,00 b	-	-



Figura 2. A esquerda, adulto de *Tamarixia radiata* morto após ingestão de resíduos de chlorpyrifos ao realizar orifício de emergência na pupa de *Diaphorina citri*. A direita, visão inferior do adulto morto de *T. radiata*, após contato com chlorpyrifos.

Os resultados obtidos para o ingrediente ativo chlorpyrifos foram muito semelhantes aos observados por Beloti et al. (2015), o qual ao aplicar este mesmo grupo químico em *T. radiata*, na fase de pupa, observou uma taxa de emergência de aproximadamente 18%, sendo este o ingrediente ativo mais tóxico relatado pelo autor em ambas fases de desenvolvimento do parasitoide, adulto e pupa.

Quanto ao flupyradifurone, este não apresentou impacto no desenvolvimento do inseto, uma vez que não foi possível verificar nenhuma diferença entre taxas de emergências deste tratamento e do controle. Este resultado nos permite afirmar que, pelo menos, durante durante a fase pupal, este inseticida é inofensivo a este agente de controle biológico. Entretanto, isto não pode ser generalizado a todos insetos. Estudos realizados com abelhas melíferas asiáticas (*Apis cerana*), mostraram que larvas desta espécie submetidas a 0,033 µg/larva/dia de flupyradifurone durante seis dias, reduziu a capacidade de aprendizado olfativo e memória em 74% e 48%, enquanto o adulto desta mesma espécie, submetido a 0.066 µg/adulto/dia do mesmo ingrediente ativo e pelo mesmo período de tempo, sofreu reduções na capacidade de aprendizado olfativo e memória em 48 e 22%, respectivamente (TAN et al., 2017). Apesar dos resultados, o autor também ressaltou a nocividade menos acentuada ao se comparar o flupyradifurone com neonicotinoides que compartilham do mesmo modo de ação, concluindo que este inseticida deve ser melhor estudado e visto.

Por fim, a longevidade dos insetos expostos ao agroquímico não foi afetada, sugerindo, mais uma vez a eficácia do produto em uma estratégia de manejo integrado de pragas para citros.

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O produto SIVANTO®prime não é nocivo ao parasitoide *Tamarixia radiata*, de modo que ao se expor os adultos a resíduos do flupyradifurone, não se observa interferência na capacidade de parasitismo e uma redução de 32,4% na emergência destes parasitoides submetidos a dose de 8 g i.a.100L⁻¹.

Além disso, o estágio pupal deste parasitoide não sofre nenhuma interferência em seu desenvolvimento, ao ser exposto a maior concentração de 8 g i.a.100L⁻¹.

Tais resultados sugerem que este inseticida é uma boa escolha para um manejo integrado de pragas em citros visando controle do psíldeo *D. citri*.

REFERÊNCIAS

- ALVES, G.R. Relações tritróficas: variedades de citros x *Diaphorina citri* Kuwayama, 1908 (Hemiptera: Psyllidae) x *Tamarixia radiata* (Waterston, 1922) (Hymenoptera: Eulophidae). 2012. 69 p. Dissertação (Mestrado em Entomologia) - Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo. Piracicaba, 2012.
- AUBERT, B. *Trioza erytrae* del Guercio and *Diaphorina citri* Kuwayama (Homoptera: Psyllidae), the two vectors of citrus greening disease: Biological aspects and possible control strategies. *Fruits*, Paris, n. 42, p. 149-162, 1987.
- BAYER. Flupyradifurone: technical information. 2013. Disponível em: <https://www.sivanto.bayer.com/doc/Technical-Information-SIVANTO.pdf>. Acesso em 31/10/2018.
- BELOTI, V.H.; ALVES G.R.; ARAÚJO D.F.D.; PICOLI M.M.; MORAL R.A.; DEMÉTRIO C.G.B.; YAMAMOTO, P.T. Lethal and sublethal effects of insecticides used on citrus, on the ectoparasitoid *Tamarixia radiata*. *PLoS ONE* 10: p1–14. 2015.
- BESSANEZI, R.B.; LOPES, S.A.; BELASQUE JÚNIOR, J.; SPÓSITO, M.B.; YAMAMOTO, P.T.; MIRANDA, M.P.; TEIXEIRA, D.C.; WULFF, N.A. Epidemiologia do Huanglongbing e suas implicações para o manejo da doença. 2010.
- BOVÉ, J.M. Huanglongbing: a destructive, newly emerging century old disease of citrus. *Journal of Plant Pathology*, v. 88, p. 7-37, 2006.
- CAPOOR, S.P.; RAO, D.G.; VISWANATH, S.M. Greening disease of citrus in the Deccan Trap Country and its relationship with the vector, *Diaphorina citri* Kuwayama. *In* Conference of the International Citrus Virology. Riverside, CA, University of California. 1974.
- CEN, Y.; ZHANG, L.; XIA, Y.; GUO, J.; DENG, X.; ZHOU, W.; SEQUEIRA, R.; GAO, J.; WANG, Z.; YUE, J.; GAO, Y. Detection of “*Candidatus Liberibacter Asiaticus*” in *Cacopsylla (Psylla) citrisuga* (Hemiptera: Psyllidae). *Florida Entomologist*, v. 95, P. 304-311. 2012.
- CHEN, X. D., SEO, M., STELINSKI, L. L. Behavioral and hermetic effects of the butanolide insecticide, flupyradifurone, on Asian citrus psyllid, *Diaphorina citri*. *Crop Protection*. v.98. p.102-107. 2017.
- CHIEN, C. C. The role of parasitoids in the pest management of citrus psyllid. *In*: Symposium: Research and Development of Citrus in Taiwan. Proceedings. Taichung. 1995.

CHIEN, C.C. The role of parasitoids in the pest management of citrus psyllid. In: SYMPOSIUM: RESEARCH AND DEVELOPMENT OF CITRUS IN TAIWAN, 1995, Taichung. Proceedings... Taichung, 1995. p. 245-261.

CHIEN, C.C.; CHU, Y.I. Biological control of citrus psyllid, *Diaphorina citri* in Taiwan. Biological pest control in systems of integrated pest management. Food and Fertilizer Technology Center, Taipei, n. 47, p. 93-104, 1996.

CHIEN, C.C.; CHU, Y.I. Biological control of citrus psyllid, *Diaphorina citri* in Taiwan. Biological pest control in systems of integrated pest management. Food and Fertilizer Technology Center, Taipei, n. 47, p. 93-104, 1996.

CITRUSBR. Compromisso de transparência. 2017. Disponível em: http://www.citrusbr.com/download/RELEASE%20FECHAMENTO%20SAFRA%202017_PORTUGUES.pdf. Acesso em: 31/10/2018.

COLARES, F., MICHAUD, J.P., BAIN, C.L., TORRES, J.B. Relative Toxicity of two aphicides to *Hippodamia convergens* (Coleoptera: Coccinellidae): implications for integrated management of Sugarcane Aphid, *Melanaphis sacchari* (Hemiptera: Aphididae). Journal of Economic Entomology, v.110, p.52-58. 2017.

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

CRISTOFANI, M.; NOVELLI, V. M.; PERIN, M. S.; OLIVEIRA, A. C.; OLIVEIRA, R. P.; BASTIANEL, M.; MACHADO, M.A. Programa de melhoramento de citros por hibridação controlada no centro apta citros “Sylvio Moreira”/IAC em 1997–2005. Laranja, Cordeirópolis, v. 26, n. 1, p. 121-134, 2005

DE GRAÇA, J.V. Citrus greening disease. Annual Review of Phytopathology, V. 29, P. 109-139. 1991.

DINIZ, A.J.F. Otimização da criação de *Diaphorina citri* Kuwayama, 1908 (Hemiptera: Liviidae) e de *Tamarixia radiata* (Waterston, 1922) (Hymenoptera: Eulophidae), visando a produção em larga escala do parasitoide e avaliação do seu estabelecimento em campo. Tese (Doutorado em Entomologia) - Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, p.128. 2013.

FAO. Citrus Fruit Statistics 2016. Disponível em: < <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC/visualize> > Acesso em: 01/jun/2018.

- GALLO, D.; NAKANO.; SILVERA NETO, S.; CARVALHO, R.P.L.; BATISTA, G.C.; BERTI FILHO, E.; PARRA, J.R.P.; ZUCCHI, R.A.; ALVES, S.B.; VENDRAMIM, J.D. Entomologia agrícola, Piracicaba: FEALQ. P. 920. 2002.
- GÓMEZ-TORRES, M. L., NAVA, D. E., PARRA, J.P.R., Life table of *Tamarixia radiata* (Hymenoptera: Eulophidae) on *Diaphorina citri* (Hemiptera: Psyllidae) at different temperatures. Journal of Economic Entomology. Lanham. v.105. p.338-343, 2012.
- GOMEZ-TORRES, M.L. Estudos bioecológicos de *Tamarixia radiata* (Waterston, 1922) (Hymenoptera: Eulophidae) para o controle de *Diaphorina citri* Kuwayama, 1907 (Hemiptera: Psyllidae). 2009. 138 p. Tese (Doutorado em Entomologia) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2009.
- HALBERT, S.E., MANJUNATH, K. L. Asian citrus psyllids (Sternorrhyncha: Psyllidae) and greening disease of citrus: a literature review and assessment of risk in Florida. Florida Entomologist. v.87. p. 330-353. 2004.
- HALL, D. G., NGUYEN, R. Toxicity of pesticides to *Tamarixia radiata*, a parasitoid of the Asian citrus psyllid. BioControl. v.55. p601-611. 2010.
- HESSELBACH, H.; SCHEINER, R. Effects of the novel pesticide flupyradifurone (Sivanto) on honeybee taste and cognition. Scientific Reports, 2018.
- IBGE. Disponível em: < <https://sidra.ibge.gov.br/tabela/1618>>. Acesso em: 31/mai/2018
- NAKATA, T. Temperature-dependent development of the citrus psyllid, *Diaphorina citri* (Homoptera: Psylloidea), and the predicted limit of this spread based on overwintering in the nymphal stage in temperature regions of Japan. Applied Entomology and Zoology. P. 383-387, 2006.
- NAUEN, R.; JESCHKE, P.; VELTEN, R.; BECK, M. E.; EBBINGHAUS-KINTSHCER, U.; THIELERT, W.; WOLFEL, K.; HASS, M.; KUNZ, K.; RAUPACH, G. Flupyradifurone: a brief profile of a new butenolide insecticide. Pest Management Science, v. 71, p. 791-884, 2014.
- NEVES, M. F.; TROMBIN, V. G.; MILAN, P.; LOPES, F. F.; CRESSONI, F.; KALAKI, R. O retrato da citricultura brasileira. p. 8-13, 2010.
- OLIVEIRA, J. M. C., NASCIMENTO, A. S., MIRANDA, S. H. G., BARBOSA, C. J., LARANJEIRAS, F. F. Estimativa dos impactos econômicos decorrentes de eventual

introdução do Huanglongbing (HLB) no Estado da Bahia. Revista Brasileira de Fruticultura, Jaboticabal – SP. v. 35. n. 3. p. 755-762. 2013.

ONAGBOLA, E. O., BOINA, D. R., HERMANN, S. L., STELINSKI, L. L. Antennal sensilla of *Tamarixia radiata* (Hymenoptera: Eulophidae), a parasitoid of *Diaphorina citri* (Hemiptera: Psyllidae). Annals of Entomological Society of America. v.102. p.523-531. 2009.

PARRA, J. R. P., DINIZ, A., VIEIRA, J. M., ALVEZ, G. R. Utilização do parasitoide *Tamarixia radiata* como componente do manejo integrado do huanlongbing. 2017.

PARRA, J.R.P.; LOPES, J.R.S.; GOMEZ-TORRES, M.L.; NAVA, D.E.; PAIVA, P.E.B. Bioecologia do vetor *Diaphorina citri* e transmissão de bactérias associadas ao Huanglongbing. Citrus Research and Technology, V. 31, P. 37-51, 2010.

SEBRAE. Agronegócio fruticultura. Boletim de inteligência. Outubro de 2015.

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

TAN, K., WANG. C., DONG, S., LI, X., NIEH, J. C., The pesticide flupyradifurone impairs olfactory learning in Asian honey bees (*Apis cerana*) exposed as larvae or as adults. Scientific Reports. 2017.

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

XIA, Y., OUYANG, G., SEQUEIRA, R. A., TAKEUCHI, Y., BAEZ, I. CHEN, J. A review of Huanlongbing (Citrus greening) management in Citrus using nutritional approaches in China. Plant Health Progress. 2011.

YAMAMOTO, P.T.; ALVES, G.R.; BELOTI, V.H. Manejo e controle do huanglongbing (HLB) dos cítricos. Investig. Agrar.; 16(2): p,69-82, 2014.

YAMAMOTO, P.T.; PINTO, A.S.; PAIVA, P.E.B.; GRAVENA, S. Seletividade de agrotóxicos aos inimigos naturais de pragas dos citros. Laranja, Cordeirópolis, v. 13, n. 2, p. 693-708, 1992.