

DANIEL DE LIMA ALVAREZ

**SUSCETIBILIDADE DE POPULAÇÕES DE *Bemisia tabaci* (GENNADIUS)
BIÓTIPO Q (HEMIPTERA: ALEYRODIDAE) A INSETICIDAS**

Botucatu

2019

DANIEL DE LIMA ALVAREZ

**SUSCETIBILIDADE DE POPULAÇÕES DE *Bemisia tabaci* (GENNADIUS)
BIÓTIPO Q (HEMIPTERA: ALEYRODIDAE) A INSETICIDAS**

Dissertação apresentada a Faculdade de Ciências Agronômicas da Unesp Campus de Botucatu, para obtenção do título de Mestre em Agronomia – Proteção de Plantas.

Orientadora: Dra. Regiane Cristina Oliveira de Freitas Bueno

Coorientadora: Dra. Cristiane Müller

Botucatu

2019

A473s Alvarez, Daniel de Lima
Suscetibilidade de populações de Bemisia tabaci
(Gennadius) biótipo Q (Hemiptera: Aleyrodidae) a inseticidas /
Daniel de Lima Alvarez. -- Botucatu, 2019
57 p. : tabs.

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista
(Unesp), Faculdade de Ciências Agrônomicas, Botucatu
Orientadora: Regiane Cristina Oliveira de Freitas Bueno
Coorientadora: Cristiane Müller

1. Bemisia tabaci. 2. Mediterranean. 3. Suscetibilidade. 4.
Endossimbiontes. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca da
Faculdade de Ciências Agrônomicas, Botucatu. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

Título: "SUSCETIBILIDADE DE POPULAÇÕES DE *Bemisia tabaci* (GENNADIUS) BIÓTIPO Q (HEMIPTERA: ALEYRODIDAE) A INSETICIDAS"

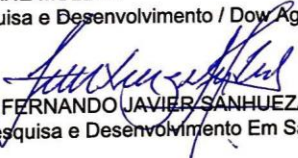
AUTOR: DANIEL DE LIMA ALVAREZ

ORIENTADORA: REGIANE CRISTINA OLIVEIRA DE FREITAS BUENO

COORIENTADORA: CRISTIANE MÜLLER

Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de Mestre em AGRONOMIA (PROTEÇÃO DE PLANTAS), pela Comissão Examinadora:


Dr^a. CRISTIANE MÜLLER
Depto. Pesquisa e Desenvolvimento / Dow AgroScience Industrial Ltda


Pesquisador FERNANDO JAVIER SANHUEZA SALAS
Centro de Pesquisa e Desenvolvimento Em Sanidade Vegetal / APTA / Instituto Biológico - Sao Paulo, SP


Pós-Doutoranda SIMONE SILVA VIEIRA
AGRIMIP / Faculdade de Ciências Agronomicas/Unesp Botucatu

Botucatu, 30 de julho de 2019.

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais Carmen Ligia Spicciati de Lima Alvarez e José Luis Guisantes Alvarez e ao meu irmão Fábio de Lima Alvarez, por todo apoio e pelo amor incondicional recebido em todo o período de minha vida.

A minha namorada Marcela Azmus de Oliveira, por todo carinho, amor e apoio em todos os momentos, sempre se fazendo presente em minha trajetória.

A todos os membros de minha família que de alguma maneira possam ter impactado de forma positiva em minha formação como pessoa.

Aos familiares de minha namorada, por todo apoio e carinho.

A minha orientadora Prof. Dr. Regiane Cristina Oliveira de Freitas Bueno, por todos os ensinamentos e conselhos, pelas oportunidades, pela amizade, por sempre acreditar em meu potencial e torcer por mim.

A minha Co-orientadora Dr. Cristiane Müller, por sempre se fazer presente, por todo apoio fornecido, pelo aprendizado, pela amizade e pela confiança depositada em mim.

A todos os membros e amigos do AGRIMIP, por dividirem grandes momentos juntos, pelos ensinamentos, pelo carinho, amizade e tudo mais.

A Profa. Dra. Renate Krause-Sakate e sua equipe, por todo auxílio prestado, por todo conhecimento fornecido e pela parceria.

A todos os docentes do programa de Pós-graduação em Agronomia: Proteção de Plantas, por todos os ensinamentos

A todos os funcionários da FCA/UNESP – Campus Botucatu, especialmente os do Departamento de Proteção Vegetal, por todo auxílio.

A todos os meus amigos que de alguma maneira me ajudaram com a parceria, risadas e distrações.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela bolsa de estudos concedida.

A FAPESP número de processo 2017/21588-7, Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP).

A Corteva Agriscience por todo apoio fornecido para o desenvolvimento dos trabalhos durante esse período.

A todas as pessoas que não foram citadas, mas de alguma maneira contribuíram para meu crescimento pessoal e profissional.

RESUMO

Bemisia tabaci Gennadius (Hemiptera: Aleyrodidae) faz parte de um grupo de espécies crípticas que são conhecidas globalmente por sua capacidade de adaptação em diferentes plantas hospedeiras e causarem severos danos aos mais diversos cultivos, sendo responsáveis pela transmissão de diversos tipos de vírus de plantas. Dentro desse grupo de espécies crípticas encontra-se o biótipo Q ou Mediterranean (MED), cuja principal característica é a menor suscetibilidade a alguns ingredientes ativos, e essas características podem estar ligadas a diversos fatores, como aspectos genéticos bem como, composição de endossimbiontes secundários. Diante do recente relato de invasão dessa espécie exótica no Brasil, e como a principal forma de manejo utilizada para essa espécie é o controle químico, ainda não se tem informações suficientes a respeito das concentrações letais de inseticidas no país. O estudo buscou traçar curvas de suscetibilidade para os principais ingredientes ativos utilizados para o controle de *B. tabaci*. O trabalho em questão foi dividido em dois capítulos, em que no primeiro foram realizados testes em adultos, e no segundo os testes foram realizados para a ninfa do inseto. No primeiro capítulo, foram testados em três populações diferentes os ingredientes ativos, acetamiprido, ciantranilprole, imidacloprido, tiametoxam e sulfoxaflor. Além disso, também foi realizado a identificação dos endossimbiontes secundários para cada população. Foi observado que para alguns ingredientes ativos a suscetibilidade entre populações variou, assim como os seus endossimbiontes. No segundo capítulo, os mesmos testes foram realizados para a fase imatura do inseto, em que os ingredientes ativos testados foram, acefato, acetamiprido, bifentrina, ciantranilprole, diafentiurom, espiromesifeno, imidacloprido, pimezotina, piriproxyfen, sulfoxaflor e tiametoxam. Os endossimbiontes secundários também foram identificados. Para as populações testadas também houve variação de suscetibilidade e dos endossimbiontes. A partir dos resultados obtidos nos 2 capítulos, o trabalho realizado busca entender a relação dos diferentes níveis de suscetibilidade das populações testadas associado com a presença ou ausência de endossimbiontes secundários.

Palavras-chave: *Bemisia tabaci*, Mediterranean, suscetibilidade, endossimbiontes

ABSTRACT

Bemisia tabaci Gennadius (Hemiptera: Aleyrodidae), is part of a group of cryptic species worldwide known for its adaptation to different hosts and cause severe damages in many crops, responsible for transmitting many plant virus. As a part of these cryptic species group, is the biotype Q or Mediterranean (MED), which the main characteristic of it is the lower susceptibility to some active ingredients, and these characteristics can be related to many factors, like genetic aspects as well as its secondary endosymbionts composition. Since the recent report of this exotic species invasion in Brazil, and the main strategy used to manage this species is the chemical control, still there is no further information about lethal concentrations in this country. This research looked for establish dose-response curves for the main active ingredients used to manage *B. tabaci*. The study was divided in two chapters, in which the first one the tests were made in adults and, in the second one, the tests were made in the immature stage of the insect. In the first chapter, three populations were tested, and the active ingredients used were, acetamiprid, cyantraniliprole, imidacloprid, thiametoxam and sulfoxaflor. Besides that, the identification of secondary endosymbionts for each population was done. It was observed that for some active ingredients the susceptibility of the populations varied, as well as its endosymbionts. In the second chapter, the same tests were made for the immature stage of the insect, and the active ingredients tested were, acephate, acetamiprid, bifenthrin, cyantraniliprole, diafenthiuron, spiromesifen, imidacloprid, pymetrozine, pyriproxyfen, sulfoxaflor and thiametoxam. The secondary endosymbionts were also identified. For the tested populations, its susceptibility and endosymbionts also varied.

Keywords: *Bemisia tabaci*, Mediterranean, susceptibility, endosymbionts

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 1

Table 1 – Populations of <i>B. tabaci</i> MED collected in Brazil.....	21
Table 2 – LC ₅₀ and LC ₉₀ values in different populations of <i>Bemisia tabaci</i> MED for the insecticidal molecules sulfoxaflor, imidacloprid, acetamiprid, thiamethoxam and cyantraniliprole.....	25
Table 3 – LC ₅₀ and LC ₉₀ values for the cryptic species <i>Bemisia tabaci</i> MED collected in Brazil.....	26
Table 4 – Group of secondary endosymbionts found in populations of <i>B. tabaci</i> MED.....	27

CAPÍTULO 2

Tabela 1 – Origem geográfica das populações coletadas no Brasil.....	40
Tabela 2 – CL ₅₀ e CL ₉₀ para ninfas de 2° instar de diferentes populações de <i>Bemisia tabaci</i> MED para as moléculas inseticidas.....	44
Tabela 3 – CL ₅₀ e CL ₉₀ para ninfas de 2° instar da espécie crítica <i>Bemisia tabaci</i> MED coletada no Brasil.....	45
Tabela 4 – Percentual de indivíduos de <i>B.tabaci</i> MED contendo endossimbiontes secundários nas populações testadas.....	46

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO GERAL	15
CAPÍTULO 1 - SUSCEPTIBILITY OF <i>Bemisia tabaci</i> GENNADIUS (HEMIPTERA: ALEYRODIDAE) MEDITERRANEAN (MED) POPULATIONS TO INSECTICIDES IN BRAZIL	18
1.1 INTRODUCTION.....	20
1.2 MATERIALS AND METHODS.....	21
1.2.1 <i>Bemisia tabaci</i> sampling and maintenance.....	21
1.2.2 Identification of <i>B. tabaci</i> cryptic species.....	21
1.2.3 Bioassay in adults.....	22
1.2.4 Identification of the group of endosymbionts.....	23
1.2.5 Statistical analysis.....	23
1.3 RESULTS.....	23
1.3.1 Tests with insecticides.....	23
1.3.2 Secondary endosymbionts.....	27
1.4 DISCUSSION.....	27
REFERENCES.....	31
CAPÍTULO 2 - SUSCETIBILIDADE DE NINFAS DE POPULAÇÕES <i>Bemisia tabaci</i> Gennadius (Hemiptera: Aleyrodidae) MEDITERRANEAN A INSETICIDAS	37
2.1 INTRODUÇÃO.....	39
2.2 MATERIAL E MÉTODOS.....	40
2.2.1 Coleta de insetos e plantas.....	40
2.2.2 Identificação da espécie críptica de <i>B. tabaci</i>	41
2.2.3 Identificação do grupo de endossimbiontes.....	41
2.2.4 Tratamentos.....	41
2.2.5 Teste com ninfas.....	42
2.3 RESULTADOS.....	42
2.4 DISCUSSÃO.....	46
REFERÊNCIAS.....	50

CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	53
REFERÊNCIAS.....	55

INTRODUÇÃO GERAL

A mosca-branca, *Bemisia tabaci* (Gennadius) (Hemiptera: Aleyrodidae), é uma das pragas de maior potencial destrutivo nas lavouras ao redor do mundo, responsável por danos causados pela alimentação, excreção de *honeydew*, transmissão de mais de 100 tipos de vírus (OLIVEIRA et al., 2001; JONES, 2003; BROWN et al., 2015), e possui ampla distribuição em todos os continentes, com exceção dos polos (BYRNE; BELLOWS Jr., 1991; DE BARRO et al., 2011). Entre os vírus transmitidos, destacam-se os begomovirus, predominantemente transmitidos por *Bemisia* sp., sendo relatadas mais de 300 espécies (KING et al., 2011; INOUE-NAGATA; LIMA; GILBERTSON, 2016).

Atualmente, refere-se a *B. tabaci* como um complexo de espécies crípticas que, apesar de serem morfológicamente indistinguíveis, podem apresentar características biológicas, genéticas e ecológicas distintas (DINSDALE et al., 2010; XU; DE BARRO; LIU, 2010; DE BARRO et al., 2011; KANAKALA; GHANIM, 2015). É uma espécie polífaga e ocorre em aproximadamente 700 espécies monocotiledôneas e dicotiledôneas e, no Brasil, é responsável por perdas de até 100% em culturas como, pepino, repolho, pimentão, tomate e jiló (LOURENÇÃO; SAKATE; VALLE, 2014). Além das olerícolas, surtos populacionais são registrados em grandes culturas como algodão, feijão e mais recentemente soja. Esse aumento da população está relacionado a grande área de plantio desses cultivos, que são excelentes hospedeiros da praga, além de que, a capacidade de colonização desse inseto também em hospedeiros alternativos possibilita o processo conhecido como ponte verde, em que estes migram de plantas nativas para as lavouras de cultivo, muitas vezes ocasionando a transmissão de vírus de plantas de pouca importância econômica para cultivos de grande valor (NAVAS-CASTILLO; FIALLO-OLIVÉ; SÁNCHEZ-CAMPOS, 2011)

Os adultos desse complexo são relativamente pequenos, com tamanho variado de um a três milímetros de comprimento com coloração do corpo normalmente amarelada, os pares de asas são membranosos e cobertos por uma cera branca e, na maioria, os adultos possuem antenas com sete segmentos (MARTIN; MIFSUD; RAPISARDA, 2000; GILL, 1990). Apesar do fato das fêmeas serem maiores que os machos, a principal diferença para caracterizá-los é a genitália (LIMA; LARA, 2001).

Por serem insetos da Ordem Hemiptera apresentam aparelho sugador labial com rostro dividido em quatro segmentos. O desenvolvimento do inseto passa pelas fases de ovo, ninfa e adultos, ou seja, são considerados insetos hemimetábolos e, no estágio de ninfa passam por 4 ínstaras até chegarem na fase adulta. No primeiro ínstar medem aproximadamente de 0,24 a 0,27 milímetros e forma elíptica (EICHELKRAUT; CARDONA, 1989) e são móveis no primeiro estágio e sésseis nos demais.

O tempo de duração do ciclo de vida da *B. tabaci* está diretamente relacionado a temperatura do ambiente (BROWN; BIRD, 1992; MOLINARI et al., 2007). Em uma temperatura de 25 °C e uma UR de 65% em tomate o período da fase do ovo até a emergência do adulto durou em média 22 dias (SALAS; MENDONZA, 1995). Outro fator que pode influenciar diretamente no desenvolvimento da *B. tabaci* é a espécie do hospedeiro ou até mesmo as variedades dentro da mesma espécie de planta hospedeira (FANCELLI et al., 2003; JIAO et al., 2012).

O primeiro relato de mosca-branca no Brasil foi em 1923 na Bahia (BONDAR, 1928) e, posteriormente, nos Estados de São Paulo e Santa Catarina (SILVA et al., 1968), e no Paraná em plantas de algodão (COSTA; COSTA; SAUER, 1973). Atualmente, existem quatro biótipos diferentes, entre eles os nativos New world 1 (NW1) e New world 2 (NW2) (MARUBAYSHI et al., 2013) além das espécies exóticas biótipo B ou Middle East-Asia Minor 1 (MEAM1), e o mais recente biótipo Q ou Mediterranean (MED) (BARBOSA et al., 2015; MORAES et al., 2017).

Em geral, o controle de *B. tabaci* é feito por meio da aplicação de inseticidas químicos e, em muitas vezes, essas aplicações são executadas com o intuito de prevenir infestações (PALUMBO; HOROWITZ; PRABHAKER, 2001). Os principais grupos químicos de inseticidas usados no controle de *B. tabaci* MEAM1 são os do grupo dos neonicotinoides (acetamiprido, clothianidin, imidacloprido, tiacloprido, tiametoxam), reguladores de crescimento (buprofezin, pyriproxyfen), inibidores da acetil CoA carboxilase (espiromesifeno) e diamidas (ciantraniliprole) (CZEPAK et al., 2009).

Dentro do complexo de espécies *B. tabaci*, MED e MEAM1 são conhecidos pela agressividade e capacidade destrutiva (DINSDALE et al., 2010). Esses dois biótipos invadiram aproximadamente 60 países, sendo responsáveis por grandes perdas nas lavouras por onde passaram (DE BARRO et al., 2011; WAN; YANG, 2016). A partir de sua chegada na China em 2003 (CHU et al., 2006), a *B. tabaci* MED ao longo de quatro

anos, além de se estabelecer no país, se tornou a espécie críptica dominante na região (PAN et al., 2015).

A *B. tabaci* MED, também apresenta menor susceptibilidade a algumas moléculas utilizadas no controle químico desta praga. Em comparação com uma linhagem de *B. tabaci* MEAM1 todas as outras linhagens de mosca-branca MED apresentaram algum grau de resistência as moléculas inseticidas imidacloprid, nitenpyram, tiametoxam, somente não sendo resistentes as moléculas dinotefuran e sulfoxaflor (WANG et al., 2016). Um dos fatores que podem estar relacionados a diferença de suscetibilidade é a composição de endossimbiontes secundários encontrados nas populações de mosca-branca, que também são importantes para a sobrevivência, adaptação, transmissão viral (KONTSEDALOV et al., 2008; AHMED et al., 2009; CHU et al., 2011; FUJIWARA et al., 2015; PINHEIRO et al., 2015).

No cenário atual boa parte da preocupação é com o manejo dessa recente espécie críptica introduzida no país, principalmente em relação ao controle químico, e isso se deve, como citado anteriormente, devido ao fato de que MED apresenta uma menor suscetibilidade a moléculas inseticidas de forma geral. Diante disso, o trabalho foi dividido em dois capítulos, em que no primeiro intitulado "Susceptibility of *Bemisia tabaci* Gennadius (Hemiptera: Aleyrodidae) Mediterranean (MED) populations to insecticides in Brazil" foi redigido em inglês de acordo com as normas da revista Journal of Pest Science, se refere a suscetibilidade de adultos de *B. tabaci* MED a algumas moléculas inseticidas, e o no segundo capítulo intitulado "Susceptibilidade de ninfas de populações *Bemisia tabaci* Gennadius (Hemiptera: Aleyrodidae) Mediterranean a inseticidas", redigido de acordo com as normas da universidade, os testes foram realizados com as ninfas.

CAPÍTULO 1

Susceptibility of *Bemisia tabaci* Gennadius (Hemiptera: Aleyrodidae) Mediterranean (MED) populations to insecticides in Brazil

Daniel de Lima Alvarez^{1*}, Cristiane Müller², Leonardo Libardi Miraldo¹, Lucas Moraes Santos¹, Marcelo Mocheti², Luís Fernando Maranhão Watanabe¹, Renate Krause-Sakate¹, Regiane Cristina Oliveira de Freitas Bueno¹

¹ Faculdade de Ciências Agronômicas. Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (UNESP), Fazenda Experimental Lageado, Avenida Universitária, nº 3780, 18610-034, Altos do Paraíso, Botucatu, SP, Brasil

² Corteva Agriscience. Rodovia Engenheiro João Tosello, 71, Mogi Mirim, SP, Brasil

***Corresponding author:** Daniel de Lima Alvarez, **e-mail:** daniel-alvarez92@hotmail.com, **telephone number:** 55 (19) 994441414

ABSTRACT

Bemisia tabaci comprises a group of cryptic species that are widely known for their enormous potential to damage or destroy crops. Among these cryptic species, Mediterranean has been indicated in the literature as the most tolerant to some insecticides and endosymbionts may play a role on this ability. Thus, the recent report of this species in Brazil represents a possible threat to the control of this pest. Of the tested populations, the LC₅₀ and LC₉₀ (mg ai L⁻¹) were as follows: 124.53 and 732.76 for sulfoxaflor; 303.85 and 3,157.8 for imidacloprid; 31.10 and 181.12 for acetamiprid; 507.19 and 1,307.64 for thiamethoxam; 12.20 and 77.66 for cyantraniliprole. The evaluated endosymbionts and their frequency of occurrence also differed across all tested populations: 100% *Hamiltonella*, 10% *Rickettsia*, 10% *Wolbachia* and 10% *Arsenophonus* in Holambra; 90% *Rickettsia* in Cerqueira César; and 90% *Rickettsia*, 100% *Wolbachia* and 80% *Arsenophonus* in the Vitoriana population. With the results, it is possible to understand that to manage *B. tabaci* Mediterranean in Brazil, it is important to understand the characteristics of each population, such as the susceptibility to insecticides molecules as well as the set of endosymbionts present in the individuals, considering that they can be extremely heterogeneous.

Keywords: endosymbionts, insecticide, Mediterranean, susceptibility, whitefly

1.1 INTRODUCTION

Bemisia tabaci (Gennadius), popularly known as the whitefly, comprises a group of morphologically indistinguishable cryptic species that are distributed around the globe and are responsible for damage to various types of crops including high value ornamental, and vegetable crops (De Barro et al. 2011). Among the cryptic species that have already been described, *B. tabaci* Middle East-Asia Minor 1 (MEAM1) and Mediterranean (MED) stand out because they are more invasive and aggressive (Dinsdale et al. 2010). In Brazil, *B. tabaci* was first reported in 1923 in the state of Bahia (Bondar 1929) and has been observed in other states of the country over the years (Silva et al. 1968; Costa et al. 1973).

The cryptic species already found in Brazil include the native species New world 1 (NW1) and New world 2 (NW2) (Marubayashi et al. 2013) in addition to the cryptic species MEAM1, which was introduced into the state of São Paulo in the early 1990s and is responsible for increasing the population of the species in the country (Lourenção and Nagai, 1994). Moreover, the cryptic species *B. tabaci* MED has also recently been reported in the country, representing a new threat to agricultural production, mainly due to the characteristic polyphagous behavior of the species and its known ability to transmit plant virus (Barbosa et al. 2015; Moraes et al. 2017).

Found in more than 60 countries around the globe and dominating whitefly populations (MEAM1) in China (De Barro et al. 2011; Pan et al. 2015; Wan and Yang 2016), the arrival and establishment of *B. tabaci* MED in Brazil may represent a high agricultural risk, particularly in terms of the control tactics used for this species. Among the populations in China, *B. tabaci* MED has less susceptibility to chemical insecticides compared to MEAM1 including to neonicotinoids, cyantraniliprole and pyriproxyfen (Wang et al. 2017; Zheng et al. 2017; Wang et al. 2018). In Israel, it was observed that the continuous use of insecticides in cotton favored *B. tabaci* MED, resulting in replacement of MEAM1 in the fields (Horowitz and Ishaaya 2014).

Therefore, this study seeks to determine the susceptibility of populations of *B. tabaci* MED to the main products used in Brazil to control of *B. tabaci*, representing the first data on this species in the country. This study also will characterize the microsymbionts associated with these populations to determine if these relationships contribute to insecticide sensitivity.

1.2 MATERIAL AND METHODS

1.2.1 *Bemisia tabaci* sampling and maintenance

Populations of *B. tabaci* were all collected from agricultural production areas for pepper (*Capsicum annuum* L.) and hibiscus (*Hibiscus* spp.) in the São Paulo municipalities of Holambra (HL), Cerqueira César (CC) and Vitoriana (VT), in 2017 (Table 1). The collected individuals (minimum of 1,000) were housed in 45x45x55-cm anti-aphid polyester cages and reared on scarlet eggplant, pepper, cotton and hibiscus plants in an controlled environment at 26°C±2°C, 70±10% relative humidity and a 14-hour photophase. Adults from each population were randomly sampled and placed in 1.5-ml Eppendorf tubes containing 95% ethanol and stored at -20°C for subsequent identification by molecular methods.

Table 1. Populations of *B. tabaci* MED collected in Brazil

Line	Location	Coordinates	Date	Host
CC	Cerqueira César	23°00'10.1"S 49°09'38.9"W	August 2017	<i>Capsicum annuum</i>
HL	Holambra	22° 37' 59"S 47° 03' 20"W	July 2017	<i>Hibiscus</i> spp.
VT	Vitoriana	22°46'42.5"S 48°24'19.3"W	November 2017	<i>Capsicum annuum</i>

1.2.2 Identification of *B. tabaci* cryptic species

Samples from each population were subjected to mitochondrial cytochrome oxidase I (mtCOI) gene analysis, and DNA was extracted from 10 individuals from each collected population using the Chelex protocol (Walsh et al. 1991). Samples were subjected to a PCR with the gene primers C1-J-2195 and TL2-N-3014 (Simon et al. 1994), which was performed on a final volume of 50 µl (50 mM MgCl₂, 2.5 mM dNTP and 1 µM oligonucleotides final concentration) using 0.5 units of Taq polymerase. The reaction conditions were 1 cycle of 5 minutes at 94°C, 30 seconds at 94°C, 45 seconds at 45°C and 1 minute at 72°C (35 cycles) with a final extension of 10 minutes at 72°C. Subsequently, restriction fragment length polymorphism (RFLP) analysis of the amplicons (Bosco et al. 2006) allowed the MEAM1, MED, NW1 and NW2 species to be differentiated. A total of 5 µl of each PCR (880 bp) was used, which was digested

by 1 unit of TaqI at 65°C for 2 hours in a final volume of 15 µl. The digested DNA was observed on 1% electrophoresis gel stained with ethidium bromide. To confirm the species, 1 insect from each population was purified using the QIAquick Gel Extraction Kit (Qiagen, Hilden, Germany) and sent to be directly sequenced by the Sanger method (without cloning) at Macrogen, South Korea. Sequenced nucleotides were analyzed and compared to each other and with other whitefly sequences deposited in GenBank using the Blast-n tool (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/blast>).

1.2.3 Bioassay in adults

To perform the susceptibility tests, the chosen commercial products were Closer 240 SC (sulfoxaflor 240 g ai L⁻¹), Provado 200 SC (imidacloprid 200 g ai L⁻¹), Mospilan 200 SP (acetamiprid 200 g ai L⁻¹), Actara 250 WG (thiamethoxam 250 g ai L⁻¹) and Benevia 100 OD (cyantraniliprole 100 g ai L⁻¹). The insecticides were tested according to the method proposed by Müller *et al.* (2018), by which flat-bottom tubes with diameters of 2.5 cm were filled at the base with phenolic foam to the same diameter and 1.5 cm in height; deionized water was then added to moisten the foam to the point of waterlogging but without free water on the surface. The tubes were labeled and separated according to pre-established concentrations. From a stock solution with a concentration of 1% active ingredient (ai) of commercial product, the respective concentrations were diluted according to the treatments. Each evaluated product was tested in 6 to 8 insecticide concentration (mg ai L⁻¹) and a control treatment (water). For each insecticide concentration, were tested second generation of laboratory (F2) unsexed insects were used.

Under controlled conditions and without contaminants, leaflets measuring 1 inch were collected from industry-type tomato plants, variety Candieiro, at the vegetative stage 30 days after transplanting. After collection, leaflets were immersed by treatment for 5 seconds and then removed to dry. After being dried, the leaflets were placed inside the flat-bottom tube with the petiole inserted into the moistened phenolic foam. With the aid of a sucker consisting of a glass Pasteur pipette suction device consisting of a 0.5-cm-diameter plastic tube sealed with *voile* fabric, for each concentration 10 repetitions with 5 adults aged between 24 and 48 hours were confined to each flat-bottom tube, which was then sealed by a 100% cotton black fabric secured by an elastic band. Insect mortality was evaluated at 24, 48 and 72 hours by counting live and dead insects.

1.2.4 Identification of the group of endosymbionts

The 10 individuals from each population for which cryptic species identification was made were also subjected to detection of the primary endosymbiont, namely, *Portiera aleyrodidarum* (Muyzer et al. 1996), and the 6 secondary endosymbionts, *Hamiltonella* (Zchori-Fein and Brown 2002), *Rickettsia* (Gottlieb et al. 2006), *Wolbachia* (Heddi et al. 1999), *Cardinium* (Weeks et al. 2003), *Arsenophonus* (Thao and Baumann 2004) and *Fristchea* (Everett et al. 2005), by using primers specific for these genera that amplify the regions of the 16S and 23S genes.

1.2.5 Statistical analysis

All insecticide data were subjected to Probit analysis using the program POLO PLUS (Leora Software, 2002) to obtain the dose-response curves for 72-hour LC₅₀ and LC₉₀ and X² (calculated chi-square). The X² value obtained by the program was compared to the pre-established X² table value, and when the observed value was higher or lower than the latter, the data were considered to fit the model. For each insecticide population, LC values were considered significantly different when their (95%) confidence intervals did not overlap. Relative toxicity of a population was calculated by dividing the LC₅₀ of the target population by the LC₅₀ of the most susceptible population (Chen et al. 2018).

1.3 RESULTS

1.3.1 Tests with insecticides

The lethal concentrations obtained for the tested products varied according to the tested insecticidal molecule and among the populations. There were significant differences in LC₅₀ values among the populations tested. For sulfoxaflor, the highest LC₅₀ value was obtained in the HL population (185.47), which was significantly different from CC (106.15) and VT (44.20) populations (Table 2). For the imidacloprid and cyantraniliprole there were no significant differences between populations tested. However, the CC population presented higher LC₅₀ value (539.87 and 17.41, respectively) when compared to the VT (180.68 and 9.23, respectively) and HL (248.62 and 10.08, respectively) populations (Table 2). For the acetamiprid, the lowest LC₅₀ value was observed in HL population (15.30), which was significantly different from CC (55.21) and VT (38.78) populations (Table 2). For thiamethoxam, the population

responses were significantly different from that of the other insecticides, where the VT population presented a higher LC₅₀ value (609.64) than the HL population (377.79) (Table 2). The opposite was observed for other products, where the susceptibility was higher in comparing to other populations.

The data collected for each population (Table 2) were pooled for an across-population probit analysis generating LC₅₀ and LC₉₀ values representing average *B.tabaci* (MED) susceptibility for each ingredient (Table 3).

Table 2. LC₅₀ and LC₉₀ values in different populations of *Bemisia tabaci* MED for the insecticidal molecules sulfoxaflor, imidacloprid, acetamiprid, thiamethoxam and cyantraniliprole.

Insecticide							
	Line	N	Slope (±SE)	LC ₅₀ (mg ai L ⁻¹) (95% FL)	LC ₉₀ (mg ai L ⁻¹) (95% FL)	X ² (df)	RT
Sulfoxaflor	CC	800	1.74 (0.18)	106.15 (76.49-135.58)b*	573.53 (453.88-779.50)	5.25 (5)	1.74
	HL	1100	1.77 (0.10)	185.47 (162.44-211.12)a	977.91 (802.30-1239.00)	11.87 (8)	1.00
	VT	900	1.30 (0.11)	44.20 (30.91-58.61)c	421.22 (326.95-573.35)	5.73 (6)	4.19
Imidacloprid	CC	900	1.29 (0.19)	539.87 (283.16-826.78)a	5277.00 (3007.00-15335.00)	12.10 (6)	1.00
	HL	800	4.33 (0.97)	248.62 (134.86-318.48)a	490.94 (385.49-855.38)	15.76 (5)	2.17
	VT	600	2.19 (0.24)	180.68 (74.91-284.72)a	683.93 (433,49-1888,98)	6.12 (3)	2.98
Acetamiprid	CC	800	2.03 (0.25)	55.21 (36.00-78.23)a	236.17 (155.99-462.44)	13.21 (5)	1.00
	HL	800	1.84 (0.19)	15.30 (11.53-19.00)b	75.66 (60.46-101.76)	4.69 (4)	3.60
	VT	700	1.88 (0.18)	38.78 (30.86-47.29)a	185.63 (142.84-263.97)	2.68 (4)	1.42
Cyantraniliprole	CC	900	1.70 (0.15)	17.41 (13.28-21.66)a	98.05 (78.73-128.80)	9.17 (6)	1.00
	HL	800	1.74 (0.19)	10.08 (6.87-13.24)a	54.93 (43.52-74.35)	3.89 (4)	1.72
	VT	700	1.52 (0.32)	9.23 (0.85-17.09)a	63.78 (35.38-527.29)	7.07 (3)	1.88
Thiamethoxam	HL	800	3.80 (0.37)	377.79 (330.84-423.81)b	820.75 (714.79-983.88)	6.08 (5)	1.61
	VT	700	3.10 (0.52)	609.64 (520.33-690.86)a	1576.00 (1250.00-2443.00)	4.55 (4)	1.00

SE: standard error

LC₅₀: lethal concentration of the active ingredient required to kill 50% of tested individuals.

LC₉₀: lethal concentration of the active ingredient required to kill 90% of tested individuals.

95% FL: confidence interval.

X²: test of linearity of the dose-response curves.

* For each insecticide population, different letters means that 95% confidence intervals did not overlap the confidence intervals (95%).

RT: relative toxicity to a population calculated based on LC₅₀

Table 3. LC₅₀ and LC₉₀ values for the cryptic species *Bemisia tabaci* MED collected in Brazil.

Insecticide	LC ₅₀ (mg ai L ⁻¹) (95% FL)	LC ₉₀ (mg ai L ⁻¹) (95% FL)	Slope (±SE)	X ² (df)
Sulfoxaflor	124.53 (82.01-170.66)	732.76 (517.67-1203.24)	1.66 (0.08)	48.33 (9)
Imidacloprid	303.85 (120.02-533.62)	3157.80 (1604.80-12969.00)	1.26 (0.08)	86.1 (10)
Acetamiprid	31.10 (21.80-41.12)	181.12 (127.74-303.88)	1.67 (0.09)	26.27 (7)
Cyantraniliprole	12.20 (5.25-19.48)	77.66 (50.31-159.45)	1.59 (0.09)	50.31 (7)
Thiamethoxam	507.19 (400.70-606.40)	1307.64 (1006.69-2184.17)	3.11 (0.31)	10.66 (5)

SE: standard error.

LC₅₀: lethal concentration of the active ingredient required to kill 50% of tested individuals.

LC₉₀: lethal concentration of the active ingredient required to kill 90% of tested individuals.

95% FL: confidence interval.

X²: test of the linearity of the dose-response curves.

1.3.2 Secondary endosymbionts

All populations contained the primary endosymbiont. The secondary endosymbiont composition in each *B. tabaci* population differed. In the CC population, 90% of the tested individuals had a single type of endosymbiont, *Rickettsia*. For VT, *Wolbachia* predominated (100%) followed by *Rickettsia* (90%) and *Arsenophonus* (80%) (Table 4). For HL, 100% contained *Hamiltonella*, 10% *Rickettsia*, 10% *Wolbachia* and 10% *Arsenophonus* (Table 4).

Table 4. Group of secondary endosymbionts found in populations of *B. tabaci* MED.

Population	Endosymbionts (%)					
	<i>Hamiltonella</i>	<i>Rickettsia</i>	<i>Wolbachia</i>	<i>Cardinium</i>	<i>Arsenophonus</i>	<i>Fristchea</i>
CC	0	90	0	0	0	0
HL	100	10	10	0	10	0
VT	0	90	100	0	80	0

1.4 DISCUSSION

The adult bioassay technique used to assess *B. tabaci* MED mortality to insecticides was considered to be an effective technique because it imitates typical *B. tabaci* feeding on the abaxial surface the leaflet (Simmons 1994). LC₅₀ values found in this study differs from those obtained through leaf disc bioassay due to the methodological differences where leaflet method mimics better the field environment (Wang et al. 2017). In general, *B. tabaci* MED adults evaluated in leaf disc bioassays show higher mortality to insecticides than the bioassay method used in this research when exposed to the same concentration (Müller et al. 2018).

The slope results obtained from the different populations as a response from the different products tested validates the sampling process, because the values obtained from the slopes indicates genetic heterogeneity in all the populations. Although the cryptic species *B. tabaci* MED was recently recorded in Brazil, and it is still difficult to collect a high number of populations in different locations due to the fact that this cryptic species is not highly dispersed, the population response was similar for most insecticides and characterized by slopes with very similar values showing that the results obtained from each tested molecule were provided from populations composed by heterogeneous individuals, which represents the natural variability observed in the nature.

For neonicotinoids, LC₅₀ values were similar to thiamethoxam and imidacloprid and lower for acetamiprid (Table 2). This trend is similar to observed for *B. tabaci* MEAM1 based on commercial effective field-use rates. Furthermore, a lower LC₅₀ for acetamiprid than thiamethoxam was also seen for *B. tabaci* MED in China populations, and these data might show the same tendency in Brazil, but still needs to be validated with a higher number of studies with Brazilian populations indicating the difference between the first and second generation neonicotinoids (Chen et al. 2018).

In the case of the LC₅₀ value for the imidacloprid, the CC, HL and VT populations did not differ significantly since the confidence intervals for the lethal concentration overlapped, reinforcing similar susceptibility between these populations (Table 2). Moreover, the slope presented by HL was greater than 2.0, indicating that this population was more homogeneous genetically in terms of the response to the increased concentration of imidacloprid, when compared with the others. This homogeneity may be associated with the intense use of this molecule in field management adopted to control this pest (Nauen and Denholm 2005) since this is one of the most commercialized active ingredients in Brazil (Ibama 2017).

In the case of the thiamethoxam, the tested populations (HL and VT) exhibited a steep slope (Table 2), suggesting certain homogeneity in response to the concentrations of the tested molecule. In addition, the confidence intervals also differed significantly.

For the acetamiprid, HL population showed statistically significant differences between LC₅₀s. and similar variability in response has also been reported for *B. tabaci* MED populations from China (Chen et al. 2018).

For Sulfoxaflor, the lethal concentrations were statistically different among the three populations, indicating differences in susceptibility (Table 2). However, the maximum variation observed was 4.2 times, as in this case the active ingredient is not commercial yet what support that the variation is not result of difference on product exposition intensity.

The response of the tested populations to the insecticide cyantraniliprole was homogeneous among the populations and did not differ statistically (Table 2). The values for LC obtained for this compound were smaller when compared to the other products. Moreover, there has been no reported cross-resistance to others chemical groups such as neonicotinoids used for *B. tabaci* management (Grávalos et al. 2015), playing an important role for proactive insect resistance management programs.

Among the results obtained for the three populations, a higher LC was observed for all the molecules tested in the CC population when compared to the VT and HL populations (Table 2), with the exception of sulfoxaflor.

The first hypothesis refers to the natural genetic diversity that occurs between individuals from different populations and the natural ability on insecticides tolerance. A study showed that different populations of *B. tabaci* MED from southern Europe with no previous field exposure to cyantraniliprole, when exposed to this molecule in laboratory, showed susceptibility variations, which was correlated with natural variation of the populations (Grávalos et al. 2014). The genetic variability expressed by populations from different sites is also demonstrated with adults of *B. tabaci* MED of four different populations collected in China, these insects were exposed to sulfoxaflor, cyantraniliprole, thiamethoxam, acetamiprid and others molecules, presenting different levels of susceptibility (Chen et al. 2018).

The second hypothesis refers to a possible selection of resistant individuals due to the intense use of these insecticides in the area over time. A resistance monitoring study for *B. tabaci* MED in China, showed that the intense use of cyantraniliprole, resulted in the selection of a resistant *B. tabaci* MED population in a period of two years when compared to the susceptible strain tested (Wang et al. 2018).

A third hypothesis refers to the possible response of the set of secondary endosymbionts since the CC population presents *Rickettsia* in only 90% of the tested individuals. Studies have shown the great importance of these bacteria to survival, adaptation, viral transmission and tolerance to insecticidal molecules (Kontsedalov et al. 2008; Ahmed et al. 2009; Chu et al. 2011; Fujiwara et al. 2015; Pinheiro et al. 2015). The relationship of secondary endosymbionts to the lower susceptibility of *B. tabaci* MED has been demonstrated in studies that have reported the influence that the combination and density of the set of the endosymbionts *Rickettsia*, *Wolbachia* and *Arsenophonus* can exert on the susceptibility of the pest to insecticidal molecules such as thiamethoxam, acetamiprid and imidacloprid (Ghanim and Kontsedalov 2009). The *Rickettsia* endosymbiont, which was isolated at higher frequencies, is also correlated with a lower susceptibility to the imidacloprid, acetamiprid, and thiamethoxam molecules (Kontsedalov et al. 2008). However, further controlled studies would be needed to further understand this relationship.

There is also a possibility that the hypothesis for each product tested in each different population can vary, indicating that each population can present a unique response for the tested insecticides.

Studies conducted in other localities where *B. tabaci* MED occurs have reported a large difference in susceptibility to insecticides among the *B. tabaci* cryptic species MEAM1 and MED. In general, *B. tabaci* MED shows higher tolerance to insecticidal molecules, such as growth regulators (pyriproxyfen), cyantraniliprole and neonicotinoids, but the susceptibility to them can often vary to the detriment of several factors that individually affect each field population (Yao et al. 2017; Dângelo et al. 2018; Wang et al. 2018). Additionally, the lower insecticide susceptibility of *B. tabaci* MED compared to MEAM1 may be related to biological factors, such as differences in the digestive system of each cryptic species; enhanced expression of genes involved in insecticide metabolism has been reported for *B. tabaci* MED (Ye et al. 2014) in addition to other enzymatic differences (He et al. 2018).

Now that *B. tabaci* MED has been confirmed in Brazil, IPM programs should be applied in order to maintain populations below the action/control levels. Based on the scenario in China, excessive insecticide application to control *B. tabaci* MEAM1 has led to an increase in the invasive MED population, which has become dominant in cucumber, pepper, eggplant, melon, tomato and cotton fields (Zheng et al. 2017).

Still exists other concern based on the fact that a great part of the ornamental fields established in the country are related from commercial relationships between Brazil and Europe so invasive populations can possibly carry certain frequency of genes related to resistance mechanisms, for example, *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) populations recently reported in Brazil showed high resistance to the pyrethroids fenvalerate and deltamethrin, carrying the CYP337B3 gene which is responsible for control failures (Durigan et al. 2017). However, when the LC₅₀ are compared between studies from other countries is noted a low variability, which suggest that in Brazil there is no resistance selection process for the tested populations yet.

Different studies must be carried out, especially in the IPM perspective, which means studies of biology of *B. tabaci* MED in different hosts, endosymbionts, biological control, selectivity, field managing and others, in orders to support a deep understanding of *Bemisia tabaci* MED on different crop scenarios and regions supporting good practices in the field.

ACKNOWLEDGEMENTS

I would like to thank all the authors who contributed to this work as well as my colleagues Bruno Rossito De Marchi and Vinicius Henrique Bello for their assistance, Dr. Juliano Farias for the advices in this paper and also the Corteva Agriscience company and Brazilian Agency for the Improvement of Higher Education (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES) for their support of this study.

This study was financed in part by the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES)- Finance Code 001

Acknowledgement to FAPESP process number 2017/21588-7, Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP).

REFERENCES

- Ahmed MZ, Shatters RG, Ren SX, Jin GH, Mandour NS, Qiu BL (2009) Genetic distinctions among the Mediterranean and Chinese populations of *Bemisia tabaci* Q biotype and their endosymbiont *Wolbachia* populations. *Journal of Applied Entomology*, 133(9-10), 733-741.
- Barbosa LDF, Yuki VA, Marubayashi JM, De Marchi BR, Perini FL, et al (2015) First report of *Bemisia tabaci* Mediterranean (Q biotype) species in Brazil. *Pest management science*, 71(4), 501-504.
- Bondar G (1929) Aleyrodidos do Brasil (2a contribuição). *Boletim do Laboratório de Patologia Vegetal do Estado da Bahia (Salvador)* 5:1-17.
- Bosco D, Loria A, Sartor C, Cenis JL (2006) PCR-RFLP identification of *Bemisia tabaci* biotypes in the Mediterranean Basin. *Phytoparasitica*, 34(3), 243
- Chen JC, Wang ZH, Cao LJ, Gong YJ, Hoffmann AA, Wei SJ (2018) Toxicity of seven insecticides to different developmental stages of the whitefly *Bemisia tabaci* MED (Hemiptera: Aleyrodidae) in multiple field populations of China. *Ecotoxicology*, 27(6), 742-751.
- Chu D, Gao CS, De Barro P, Zhang YJ, Wan FH, Khan IA (2011) Further insights into the strange role of bacterial endosymbionts in whitefly, *Bemisia tabaci*: Comparison of secondary symbionts from biotypes B and Q in China. *Bulletin of entomological research*, 101(4), 477-486.

Costa AS, Costa CL, Sauer HFG (1973) Surto de mosca-branca em culturas do Paraná e São Paulo. *Anais Sociedade Entomológica do Brasil*, 2, 20-30.

Dângelo RAC, Michereff-Filho M, Campos MR, Da Silva PS, Guedes RNC (2018) Insecticide resistance and control failure likelihood of the whitefly *Bemisia tabaci* (MEAM1; B biotype): a Neotropical scenario. *Annals of Applied Biology*, 172(1), 88-99.

De Barro P, Liu SS, Boykin L, Dinsdale A (2011) "*Bemisia tabaci*: a statement of species status." *Annual review of entomology* 56: 1-19.

Dinsdale A, Cook L, Riginos C, Buckley YM, De Barro P (2010) Refined global analysis of *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Sternorrhyncha: Aleyrodoidea: Aleyrodidae) mitochondrial cytochrome oxidase 1 to identify species level genetic boundaries. *Annals of the Entomological Society of America*, 103(2), 196-208.

Durigan MR, Corrêa AS, Pereira RM, Leite NA, Amado D, De Sousa DR, Omoto C (2017) High frequency of CYP337B3 gene associated with control failures of *Helicoverpa armigera* with pyrethroid insecticides in Brazil. *Pesticide biochemistry and physiology*, 143, 73-80.

Everett KD, Thao M, Horn M, Dyszynski GE, Baumann P (2005) Novel chlamydiae in whiteflies and scale insects: endosymbionts 'Candidatus *Fritschea bemisiae*' strain Falk and 'Candidatus *Fritschea eriococci*' strain Elm. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 55(4), 1581-1587.

Fujiwara A, Maekawa K, Tsuchida T (2015) Genetic groups and endosymbiotic microbiota of the *Bemisia tabaci* species complex in Japanese agricultural sites. *Journal of Applied Entomology*, 139(1-2), 55-66.

Ghanim M AND Kontsedalov S (2009) Susceptibility to insecticides in the Q biotype of *Bemisia tabaci* is correlated with bacterial symbiont densities. *Pest Management Science: formerly Pesticide Science*, 65(9), 939-942.

Gottlieb Y, Ghanim M, Chiel E, Gerling D, Portnoy V, Steinberg S, et al (2006) Identification and localization of a *Rickettsia* sp. in *Bemisia tabaci* (Homoptera: Aleyrodidae). *Applied and Environmental Microbiology*, 72(5), 3646-3652.

- Grávalos C, Fernández E, Belando A, Moreno I, Ros C, Bielza P (2014) Cross-resistance and baseline susceptibility of Mediterranean strains of *Bemisia tabaci* to cyantraniliprole. *Pest management science*, 71(7), 1030-1036.
- He C, Xie W, Yang X, Wang SL, Wu QJ, Zhang YJ (2018) Identification of glutathione S-transferases in *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) and evidence that GSTd7 helps explain the difference in insecticide susceptibility between *B. tabaci* Middle East-Minor Asia 1 and Mediterranean. *Insect molecular biology*, 27(1), 22-35.
- Heddi A, Grenier AM, Khatchadourian C, Charles H, Nardon P (1999) Four intracellular genomes direct weevil biology: nuclear, mitochondrial, principal endosymbiont, and Wolbachia. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 96(12), 6814-6819.
- Horowitz AR, Ishaaya I (2014) Dynamics of biotypes B and Q of the whitefly *Bemisia tabaci* and its impact on insecticide resistance. *Pest management science*, 70(10), 1568-1572.
- Ibama, Boletim (2017). <http://ibama.gov.br/agrotoxicos/relatorios-de-comercializacao-de-agrotoxicos#boletinsanuais>. [accessed 3 October 2018]
- Kontsedalov S, Zchori-Fein E, Chiel E, Gottlieb Y, Inbar M, Ghanim M (2008) The presence of *Rickettsia* is associated with increased susceptibility of *Bemisia tabaci* (Homoptera: Aleyrodidae) to insecticides. *Pest Management Science: formerly Pesticide Science*, 64(8), 789-792.
- Leora Software (2002) POLO-Plus 1.0 Probit and Logit Analysis. LeOra Software, Petaluma.
- Lourenção AL, Nagai H (1994) Outbreaks of *Bemisia tabaci* in the São Paulo state, Brazil. *Bragantia*, 53(1), 53-59.
- Marubayashi JM, Yuki VA, Rocha KCG, Mituti T, Pelegrinotti FM, et al (2013) At least two indigenous species of the *Bemisia tabaci* complex are present in Brazil. *Journal of Applied Entomology*, 137(1-2), 113-121.
- Moraes LA, Marubayashi JM, Yuki VA, Ghanim M, Bello VH, et al (2017) New invasion of *Bemisia tabaci* Mediterranean species in Brazil associated to ornamental plants. *Phytoparasitica*, 45(4), 517-525.

Müller C, Alvarez DL, Miraldo LL, Mocheti M, Santos LM, Santos ACS, Bueno RCOF (2018) Comparison of insecticide bioassay methods in sweet potato whitefly adults. *Arthropod Management Tests*, 43(1), 1-2.

Muyzer G, Hottentrager S, Teske A, Wawer C (1996) Denaturing gradient gel electrophoresis of PCR-amplified 16S rDNA - a new molecular approach to analyze the genetic diversity of mixed microbial communities. *Microbiology Ecology Management*, 3.4.4, 1–23.

Nauen R, Denholm I (2005) Resistance of insect pests to neonicotinoid insecticides: current status and future prospects. *Archives of Insect Biochemistry and Physiology: Published in Collaboration with the Entomological Society of America*, 58(4), 200-215.

Pan H, Preisser EL, Chu D, Wang S, Wu Q, et al (2015) Insecticides promote viral outbreaks by altering herbivore competition. *Ecological Applications*, 25(6), 1585-1595.

Pinheiro PV, Kliot A, Ghanim M, Cilia M (2015) Is there a role for symbiotic bacteria in plant virus transmission by insects?. *Current Opinion in Insect Science*, 8, 69-78.

Silva AGA, Gonçalves CR, Galvão DM, Gonçalves AJL, Gomes J, Silva MN, et al (1968) *Quarto catálogo dos insetos que vivem nas plantas do Brasil e Seus parasitos e predadores*. Rio de Janeiro: Ministério da Agricultura.

Simmons, AM (1994) Oviposition on vegetables by *Bemisia tabaci* (Homoptera: Aleyrodidae): temporal and leaf surface factors. *Environmental Entomology*, 23(2), 381-389.

Simon C, Frati F, Beckenbach A, Crespi B, Liu H, Flook P (1994) Evolution, weighting, and phylogenetic utility of mitochondrial gene sequences and a compilation of conserved polymerase chain reaction primers. *Annals of the entomological Society of America*, 87(6), 651-701.

Thao ML, BAUMANN P (2004) Evolutionary relationships of primary prokaryotic endosymbionts of whiteflies and their hosts. *Applied and Environmental Microbiology*, 70(6), 3401-3406.

- Walsh PS, Metzger DA, Higuchi R (1991) Chelex 100 as a medium for simple extraction of DNA for PCR-based typing from forensic material. *Biotechniques*, 10(4), 506-513.
- Wan FH, Yang NW (2016) Invasion and management of agricultural alien insects in China. *Annual review of entomology*, 61, 77-98.
- Wang R, Fang Y, Mu C, Qu C, Li F, Wang Z, Luo C (2018) Baseline susceptibility and cross-resistance of cycloxaprid, a novel cis-nitromethylene neonicotinoid insecticide, in *Bemisia tabaci* MED from China. *Crop Protection*, 110, 283-287.
- Wang R, Wang JD, Che WN, Luo C (2018) First report of field resistance to cyantraniliprole, a new anthranilic diamide insecticide, on *Bemisia tabaci* MED in China. *Journal of Integrative Agriculture*, 17(1), 158-163.
- Wang S, Zhang Y, Yang X, Xie W, Wu Q (2017) Resistance monitoring for eight insecticides on the sweetpotato whitefly (Hemiptera: Aleyrodidae) in China. *Journal of economic entomology*, 110(2), 660-666.
- Wang W, Wang S, Han G, Du Y, Wang J (2017) Lack of cross-resistance between neonicotinoids and sulfoxaflor in field strains of Q-biotype of whitefly, *Bemisia tabaci*, from Eastern China. *Pesticide biochemistry and physiology*, 136, 46-51.
- Weeks AR, Velten R, Stouthamer R (2003) Incidence of a new sex-ratio-distorting endosymbiotic bacterium among arthropods. *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences*, 270(1526), 1857-1865.
- Yao FL, Zheng Y, Huang XY, Ding XL, Zhao JW, et al (2017) Dynamics of *Bemisia tabaci* biotypes and insecticide resistance in Fujian province in China during 2005–2014. *Scientific reports*, 7, 40803.
- Ye XD, Su YL, Zhao QY, Xia WQ, Liu SS, Wang XW (2014) Transcriptomic analyses reveal the adaptive features and biological differences of guts from two invasive whitefly species. *BMC genomics*, 15(1), 370.
- Zchori-Fein E, Brown JK (2002) Diversity of prokaryotes associated with *Bemisia tabaci* (Gennadius) (Hemiptera: Aleyrodidae). *Annals of the Entomological Society of America*, 95(6), 711-718.

Zheng H, Xie W, Wang S, Wu Q, Zhou X, Zhang Y (2017) Dynamic monitoring (B versus Q) and further resistance status of Q-type *Bemisia tabaci* in China. *Crop protection*, 94, 115-122.

CAPÍTULO 2

SUSCETIBILIDADE DE NINFAS DE POPULAÇÕES *Bemisia tabaci* Gennadius (Hemiptera: Aleyrodidae) MEDITERRANEAN A INSETICIDAS

RESUMO

Bemisia tabaci Gennadius (Hemiptera: Aleyrodidae) compreende um grupo de espécies crípticas que se encontram distribuídas em diferentes regiões do globo, com exceção dos polos e são responsáveis por grandes perdas em diferentes culturas. Entre as espécies crípticas encontra-se a Mediterranean (MED), cuja principal característica desta espécie é a menor suscetibilidade a algumas moléculas inseticidas, e esta característica pode estar relacionada a endossimbiontes secundários. O recente relato da introdução desta espécie no Brasil pode significar uma ameaça aos mais diversos cultivos do país. Devido ao fato de alguns dos inseticidas somente atuarem na ninfa da mosca-branca, o estudo obteve as concentrações letais (CLs) de diferentes produtos para a fase imatura de *B. tabaci* MED em três populações distintas. As moléculas inseticidas testadas foram acefato, acetamiprido, bifentrina, ciantraniliprole, diafentiurom, espiromesifeno, imidacloprido, pimetozina, pyriproxyfen, sulfoxaflor e tiametoxam. Dentre as CL₅₀ obtidas para as populações testadas, somente foi observado diferença de suscetibilidade para as moléculas imidacloprido, tiametoxam, pyriproxyfen e diafentiurom. Em relação aos endossimbiontes secundários a frequência de indivíduos foi, para a população de São Pedro do Turvo: 80% *Hamiltonella* e 100% *Wolbachia*, para Holambra: 100% *Hamiltonella*, 10% *Rickettsia*, 10% *Wolbachia* e 10% *Arsenophonus*, e para Santa Isabel: 97% *Hamiltonella*. Diante dos resultados obtidos, é possível concluir que para o manejo de *B. tabaci* MED no Brasil é necessário o entendimento multidisciplinar desta espécie críptica, levando-se em conta também características como a composição de endossimbiontes secundários encontrado nos indivíduos.

Palavras-chave: Espécie críptica, Mediterranean, imatura, suscetibilidade, endossimbiontes

ABSTRACT

Bemisia tabaci Gennadius (Hemiptera: Aleyrodidae) comprises a group of cryptic species, found in many different regions of the globe, except for the poles and are responsible for damaging many crops. Among these cryptic species, exists the Mediterranean (MED), which its main characteristic is the lower susceptibility to some insecticides molecules, and this tolerance may be related to secondary endosymbionts. The recent report of the invasion of these cryptic species in Brazil, mean a possible threat to many crops inside the country. Because some insecticides only act in the nymphal stage of the whitefly, this study obtained the lethal concentrations (LCs) of different products for the immature stage of *B. tabaci* MED in three different populations. The insecticide molecules tested were acephate, acetamiprid, bifenthrin, cyantraniliprole, diafenthiuron, spiromesifen, imidacloprid, pymetrozine, pyriproxyfen, sulfoxaflor and thiametoxam. Of the LC₅₀ obtained for the tested populations, it was only observed difference of susceptibility for the imidacloprid, thiametoxam, pyriproxyfen and diafenthiuron molecules. For the secondary endosymbionts the frequency of individuals was, for São Pedro do Turvo population: 80% *Hamiltonella* and 100% *Wolbachia*, for Holambra: 100% *Hamiltonella*, 10% *Rickettsia*, 10% *Wolbachia* and 10% *Arsenophonus*, and for Santa Isabel: 97% *Hamiltonella*. With the results collected, it is possible to conclude that for the *B. tabaci* MED management in Brazil it is necessary a multidisciplinary understanding of these cryptic specie, considering characteristics like the secondary endosymbionts composition in the individuals.

Keywords: Cryptic species, Mediterranean, immature, susceptibility, endosymbionts

2.1 INTRODUÇÃO

Popularmente conhecida como mosca-branca, *Bemisia tabaci* Gennadius (Hemiptera: Aleyrodidae) compreende um complexo de mais de 40 espécies crípticas morfológicamente indistinguíveis, entre elas, as espécies denominadas Middle East-Asia Minor 1 (MEAM1) e Mediterranean (MED). Essas espécies são consideradas as mais agressivas, encontram-se espalhadas ao redor de quase todos os continentes do globo (DE BARRO et al., 2011; DINSDALE et al., 2010), são responsáveis por grandes perdas em diferentes tipos de cultivo devido ao dano direto que causam pela sucção da seiva da planta, bem como o dano indireto, causado pela transmissão dos mais diversos tipos de vírus (OLIVEIRA et al., 2001; JONES, 2003; BROWN et al., 2015), principalmente os do gênero *Begomovirus* (KING et al., 2011; INOUE-NAGATA; LIMA; GILBERTSON, 2016).

Atualmente, em lavouras de algumas regiões do mundo, é constatado que a *B. tabaci* MED ocupa o nicho em que anteriormente era ocupado pela espécie críptica MEAM1, principalmente em áreas que são expostas a uma grande pressão de inseticidas, em geral neonicotinoides e reguladores de crescimento (HOROWITZ; ISHAAYA 2014, WANG et al., 2017; ZHENG et al., 2017; WANG et al., 2018). A sobrevivência de MED diante da exposição a inseticidas, está relacionada a menor suscetibilidade dessa subespécie as moléculas, e pode ser resultante de diferentes fatores, como características genéticas dos indivíduos (YE et al., 2014; HE et al., 2018), bem como a composição de endossimbiontes secundários presentes (KONTSEDALOV et al., 2008; GHANIM; KONTSEDALOV, 2009) e o próprio manejo de inseticidas adotado na área em que a população da praga se encontra (WANG et al., 2018). Apesar disso, atualmente a principal tática de controle utilizada para o manejo dessa praga é o controle químico.

O difícil controle de *B. tabaci* é dado devido a diversos fatores, entre eles, a posição em que a praga se localizada na planta, que é, em geral, na parte abaxial da folha, o que dificulta que a mosca-branca seja atingida pela aplicação de produtos fitossanitários, principalmente os que tem ação através do contato. Outro fator que dificulta o manejo desse inseto é a sobreposição de gerações da praga durante todo o ciclo da cultura (PALUMBO et al., 2001). Além disso, a presença de diferenças enzimáticas dependendo do estágio de desenvolvimento da praga pode influenciar na suscetibilidade a moléculas inseticidas (YANG et al., 2013), bem como variação morfológica entre ovo, ninfa e adultos, que também influenciam o controle químico

desse inseto (JAMES, 2003; YANG et al., 2010). Sendo que, devido a dinâmica populacional de *B. tabaci*, o monitoramento dessa praga é dificultado, facilitando equívocos no momento de tomada de decisão para a entrada com alguma medida de controle para a praga (HOROWITZ, 1986).

Diante da recente entrada da espécie críptica MED no Brasil (BARBOSA et al., 2015; MORAES et al., 2017), e a carência de dados relacionados a suscetibilidade destas populações em relação as principais moléculas inseticidas utilizadas no controle, é evidente que estudos que gerem esses dados são necessários, e devido ao fato de que algumas das moléculas dos principais inseticidas utilizados para o controle dessa praga atuem na fase imatura da *B. tabaci*, o estudo em questão buscou gerar curvas de suscetibilidade para a fase imatura do inseto, servindo como subsídio para posteriores estudos, bem como o próprio posicionamento de controle da praga inserido em uma perspectiva de manejo integrado de pragas.

2.2 MATERIAL E MÉTODOS

2.2.1 Coleta de insetos e plantas

As populações foram coletadas em áreas de produção agrícola em diferentes hospedeiros no Estado de São Paulo nos municípios de São Pedro do Turvo (SPT), Holambra (HL) e Santa Isabel (SI) (Tabela1) e foram acondicionadas em gaiolas compostas por tela de poliéster anti-afídica de 45x45x55 centímetros e criadas em plantas de pimentão em ambiente climatizado a $26^{\circ}\pm 2^{\circ}\text{C}$, umidade relativa de $80\pm 10\%$ e fotofase de 14 horas. Adultos de cada população foram coletados aleatoriamente e colocados em tubos tipo Eppendorf® contendo etanol a 95% e armazenados a -20°C para análise.

Tabela 1 - Origem geográfica das populações coletadas no Brasil

População	Local	Coordenadas	Data	Hospedeiro
SPT	São Pedro do Turvo	22°47'10"S 49°51'17"W	Agosto 2018	<i>Capsicum annuum</i>
HL	Holambra	22° 37' 59"S 47° 03' 20"W	Julho 2017	<i>Hibiscus spp.</i>
SI	Santa Isabel	23° 22' 20"S 46° 10' 35"W	Agosto 2018	<i>Begonia spp.</i>

2.2.2 Identificação da espécie críptica de *B. tabaci*

Para a identificação dos indivíduos foi feita a análise do gene mitocondrial citocromo oxidase I (mtCOI). A princípio foi feita a extração individual do DNA de 10 indivíduos para cada população coletada, por meio do protocolo de Chelex (WALSH; METZGER; HIGUCHI, 1991). As amostras passaram por uma reação de PCR com os primers genéticos C1-J-2195 e TL2-N-3014 (SIMON et al., 1994). A reação de PCR foi efetuada em volume final de 50µl (concentração final MgCL2 50mM, dNTP 2,5mN, oligonucleotídeos a 1µM) utilizando-se 0,5 unidades de *Taq* polimerase. A reação ocorreu em um ciclo de 5 minutos a 94°C, 30 segundos a 94°C, 45 segundos a 45°C e 1 minuto a 72°C (35 ciclos) com extensão final de 10 minutos a 72°C. Posteriormente foi realizada análise de polimorfismo por RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism) dos amplicons (BOSCO et al., 2006) permitindo o diferenciar as espécies MEAM1, MED, NW1 e NW2. De cada PCR (880 bp) foram usados 5µl que foi digerido por uma unidade de *TaqI* à 65°C por 2 horas em volume final de 15µl. O DNA que foi digerido foi observado em gel de eletroforese a 1% corado com brometo de etídeo. Para confirmação da espécie, pelo menos um inseto de cada população foi purificado (QIAquick Gel Extraction Kit Qiagen) e enviado para ser sequenciado diretamente pelo método de Sanger (sem clonagem) na Macrogen, Coréia do Sul. Os nucleotídeos sequenciados foram analisados e comparados entre si e com outras sequencias de moscas-branca depositadas no GeneBank, através da ferramenta Blast-n (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/blast>).

2.2.3 Identificação do grupo de endossimbiontes

As mesmas amostras coletadas e identificadas como MED também foram submetidas a detecção do endossimbionte primário, *Portiera aleyrodidarum*, e dos seis endossimbiontes secundários *Hamiltonella*, *Rickettsia*, *Wolbachia*, *Cardinium*, *Arsenophonus* e *Fristchea* pela utilização de primers específicos para estes gêneros que amplificam as regiões dos genes 16S e 23S.

2.2.4 Tratamentos

Para a realização dos testes de suscetibilidade para a fase imatura de *B. tabaci* MED, os inseticidas utilizados foram: Closer 240 SC (sulfoxaflor 240 g ai L⁻¹), Provado 200 SC (imidacloprid 200 g ai L⁻¹), Mospilan 200 SP (acetamiprid 200 g ai L⁻¹), Actara 250 WG (thiamethoxam 250 g ai L⁻¹), Benevia 100 OD (cyantraniliprole 100 g ai L⁻¹),

Chess 500 WG (pimetrozina 500 g ai L⁻¹), Polo 500 SC (diafentiurom 500 g ai L⁻¹), Talstar 100 EC (bifentrina 100 g ai L⁻¹), Orthene 750 BR (acefato 750 g ai L⁻¹), Tiger 100 EC (pyriproxyfen 100 g ai L⁻¹), Oberon (espiromesifeno 240 g ai L⁻¹).

2.2.5 Teste com ninfas

Para a realização dos testes com as ninfas, aproximadamente 10 adultos de mosca-branca foram sugados e colocados dentro de mini gaiolas compostas com grampo metálico e tubos de plástico (*clip-cage*) em plantas de tomate com aproximadamente 30 dias após o transplante, aonde ficaram durante um período de 48 horas para a oviposição. As plantas permaneceram sob condições controladas a 26°C±2°C, umidade relativa de 80±10% e fotofase de 14 horas, até os ovos eclodirem e as ninfas atingirem o 2° instar. Com o auxílio de cola acrílica atóxica e uma lupa, um número 20 de ninfas por folíolo foi separado. Para cada produto testado foram preparadas entre seis a oito diferentes concentrações. A diluição para cada concentração foi feita a partir de uma solução estoque com concentração de 1% de i.a de produto comercial. Foram testadas um total 120 ninfas por planta, contendo 6 repetições e cada planta testada representava uma concentração. Para a execução do teste, os folíolos contendo as ninfas foram imersos em suas respectivas concentrações por um período de 5 segundos, incluindo a testemunha que foi imersa em água. Os vasos contendo as ninfas testadas continuaram em ambiente controlado por aproximadamente 9 dias. Foi avaliada a mortalidade dos indivíduos, estabelecida pela diferença entre o número total de ninfas por repetição, pelo número total de ninfas que atingiram o 4° instar em seu desenvolvimento. Os resultados coletados foram submetidos a análise de Probites através do software POLO PLUS (LEORA SOFTWARE, 2002), para a obtenção da curva dose resposta para a CL₅₀ e CL₉₀ para os produtos testados.

2.3 RESULTADOS

Dentre os inseticidas do grupo químico dos neonicotinóides as Cls₅₀ (mg/l) obtidas variaram, em que, para imidacloprido a maior foi para SPT (27,21), posteriormente SI (16,79) e HL (4,52), sendo que, de acordo com os intervalos de confiança, as populações SL e HL diferiram estatisticamente (Tabela 2). Para a molécula tiametoxam somente HL (24,33) diferiu das demais testadas SI (57,33) e SPT (142,84), (Tabela 2). Para a o ingrediente ativo acetamiprido os valores obtidos

para as populações não diferiram estatisticamente com SPT (18,88), HL (25,73) e SI (20,19) (Tabela 2).

Em relação ao sulfoxaflor os resultados obtidos também não se diferiram, com Cl_{50} similares entre as populações SPT (13,44), HL (14,59) e SI (13,56), (Tabela 2). Essa diferença entre as populações para determinada molécula testada, também foi observada em relação ao ciantraniliprole, cujo os valores obtidos foram, SPT (5,30), HL (8,68) e SI (6,25) (Tabela 2).

Para os inseticidas reguladores de crescimento foi observado que, para o ingrediente ativo espiromesifeno, houve sobreposição de intervalos, ou seja, as Cl_{50} , SPT (14,17), HL (12,09) e SI (18,19), não diferiram entre si, para a molécula pyriproxyfen, houve diferença entre as populações SPT (57,65) e HL (12,20), já SI (45,00), não teve diferença em relação as demais (Tabela 2).

Dentre as demais moléculas testadas, a única que apresentou diferença de suscetibilidade entre as populações foi o diafentiurom, em que as Cl_{50} obtidas foram, SPT (54,91) e HL (14,35), já SI (29,55) não diferiu de ambas. Sem diferença entre as moléculas remanescentes, os valores obtidos foram para pimeprozina SPT (67,85), HL (45,68) e SI (55,13), e para o ingrediente ativo bifentrina, foi SPT (5,70), HL (24,26) e SI (5,41), e para acefato, os valores obtidos entre as populações foram SPT (120,12), HL (53,34) e SI (132,83) (Tabela 2).

A partir dos resultados obtidos separadamente para cada população, foi realizada uma análise conjunta, que gerou as Cl_{50} e Cl_{90} média para as populações testadas (Tabela 3).

Tabela 2 - CL₅₀ e CL₉₀ para ninfas de 2º instar de diferentes populações de *Bemisia tabaci* MED para as moléculas inseticidas.

Inseticida	População	n	CA (± EP)	CL ₅₀ (mg/l)(95% FL)	CL ₉₀ (mg/l)(95% FL)	X ² (gl)
Sulfoxaflor	SPT	840	1,13 (0,11)	13,44 (5,32-22,44)a	182,06 (100,40-597,69)	7,87 (4)
	HL	840	1,54 (0,15)	14,59 (6,20-23,082)a	99,10 (61,72-246,36)	9,11 (4)
	SI	840	1,30 (0,12)	13,56 (6,84-20,78)a	130,82 (82,35-285,68)	5,98 (4)
Imidacloprido	SPT	840	1,67 (0,14)	27,21 (6,82-53,30)ab	158,67 (78,89-877,39)	23,52 (4)
	HL	840	0,86 (0,10)	4,52 (1,42-8,50)a	137,13 (59,47-852,19)	6,97 (4)
	SI	840	1,62 (0,14)	16,79 (12,82-21,10)b	103,53 (79,91-143,47)	3,34 (4)
Acetamiprido	SPT	720	1,79 (0,19)	18,88 (1,71-35,16)a	97,64 (53,60-778,81)	13,11 (3)
	HL	960	1,10 (0,08)	25,73 (8,30-64,21)a	374,84 (123,81-9150,2)	34,77 (5)
	SI	840	1,35 (0,12)	20,19 (11,41-29,67)a	179,31 (110,55-415,44)	6,43 (4)
Ciantraniliprole	SPT	960	1,23 (0,13)	5,30 (3,28-7,50)a	57,67 (43,33-83,10)	2,98 (5)
	HL	840	1,21 (0,14)	8,68 (1,83-17,39)a	99,59 (49,59-479,12)	9,34 (4)
	SI	840	1,33 (0,14)	6,25 (1,43-12,29)a	57,34 (30,38-201,56)	10,88 (4)
Tiametoxam	SPT	840	1,30 (0,14)	142,84 (70,85-230,92)b	1362,00 (732,33-4552,6)	6,64 (4)
	HL	960	1,09 (0,09)	24,33 (13,02-37,69)a	358,22 (228,14-669,58)	6,97 (5)
	SI	840	1,34 (0,13)	57,33 (17,58-103,20)b	512,87 (275,62-1961,23)	11,84 (4)
Pyriproxyfen	SPT	1080	1,85 (0,14)	57,65 (42,35-73,46)b	282,55 (213,27-418,11)	8,50 (6)
	HL	840	1,06 (0,11)	12,20 (2,43-26,13)a	195,17 (83,92-1546,45)	12,82 (4)
	SI	840	1,95 (0,15)	45,00 (26,11-66,22)ab	204,01 (132,38-423,39)	10,87 (4)
Espiromesifeno	SPT	840	1,48 (0,17)	14,17 (2,47-27,18)a	103,95 (66,35-216,14)	9,50 (4)
	HL	840	1,51 (0,14)	12,09 (1,86-25,33)a	85,10 (39,57-789,17)	23,52 (4)
	SI	840	1,73 (0,18)	18,19 (3,36-33,44)a	99,35 (61,53-220,69)	13,24 (4)
Pimetrozina	SPT	840	3,34 (0,34)	67,85 (38,01-91,06)a	163,93 (120,30-329,46)	13,50 (4)
	HL	720	1,49 (0,17)	45,68 (14,98-75,99)a	329,51 (173,34-2263,74)	7,35 (3)
	SI	840	2,16 (0,23)	55,13 (30,50-76,69)a	215,92 (152,92-412,86)	7,49 (4)
Diafentiurom	SPT	840	1,82 (0,13)	54,91 (31,16-85,71)b	275,77 (164,82-673,62)	13,71 (4)
	HL	840	1,84 (0,15)	14,35 (3,81-27,41)a	71,01 (36,33-390,42)	25,22 (4)
	SI	960	1,68 (0,12)	29,55 (19,26-41,57)ab	169,54 (114,13-301,76)	9,53 (5)
Acefato	SPT	840	1,38 (0,11)	120,12 (68,50-186,29)a	1005,32 (573,12-2628,65)	8,57 (4)
	HL	840	1,10 (0,10)	53,34 (14,33-103,60)a	764,98 (353,70-4727,30)	13,17 (4)
	SI	840	1,14 (0,11)	132,83 (38,42-286,19)a	1739,7 (665,07-27219,0)	17,17 (4)
Bifentrina	SPT	840	1,24 (0,11)	5,70 (1,98-10,29)a	61,10 (30,32-290,95)	12,70 (4)
	HL	960	1,19 (0,09)	24,26 (7,91-58,36)a	285,07 (101,91-5012,8)	37,79 (5)
	SI	840	1,21 (0,11)	5,41 (1,65-10,16)a	61,38 (29,27-356,95)	13,97 (4)

CA: Coeficiente angular; CL₅₀ e 90: Concentração letal; FL: Intervalo de confiança; X²: teste do qui-quadrado

Tabela 3 - CL₅₀ e CL₉₀ para ninfas de 2° ínstar da espécie crítica *Bemisia tabaci* MED coletada no Brasil.

Inseticida	CL ₅₀ (mg/l)(95% FL)	CL ₉₀ (mg/l)(95% FL)	CA(±EP)
Sulfoxaflor	13,67 (7,79-19,81)	134,21 (89,13-257,28)	1,292 (0,076)
Imidacloprid	12,84 (6,73-20,01)	154,53 (95,14-326,86)	1,186 (0,07)
Acetamiprid	20,96 (14,78-27,88)	175,42 (121,56-293,45)	1,389 (0,068)
Cyantraniliprole	6,67 (3,76-9,89)	72,58 (50,48-120,58)	1,237 (0,079)
Tiametoxam	54,93 (34,49-77,57)	777,15 (520,45-1379,52)	1,114 (0,067)
Pyriproxyfen	39,50 (2,50-78,36)	291,50 (149,43-3796,99)	1,476 (0,114)
Espiromesifeno	12,67 (6,11-19,80)	98,97 (68,44-166,83)	1,436 (0,080)
Pimetrozina	56,00 (33,77-77,08)	222,33 (154,72-431,44)	2,140 (0,121)
Diafentiurom	34,62 (5,23-96,74)	521,25 (170,75-11452,0)	1,088 (0,045)
Acefato	96,37 (47,54-159,02)	1137,3 (588,47-3929,9)	1,196 (0,062)
Bifentrina	5,73 (2,42-9,70)	69,41 (35,20-291,62)	1,184 (0,070)

CA: Coeficiente angular; CL₅₀ e 90: Concentração letal; FL: Intervalo de confiança;

Em relação aos de endossimbiontes secundários encontrados para cada população testada, houve diferenças, sendo que para a SPT, foi detectado 80% *Hamiltonella* e 100% *Wolbachia*, já para HL foi 100% *Hamiltonella*, 10% *Rickettsia*, 10% *Wolbachia* e 10% *Arsenophonus*, e para SI foi de 100% *Hamiltonella* (Tabela 4).

Tabela 4 - Percentual de indivíduos de *B.tabaci* MED contendo endossimbiontes secundários nas populações testadas.

População	Endossimbiontes (%)					
	<i>Hamiltonella</i>	<i>Rickettsia</i>	<i>Wolbachia</i>	<i>Cardinium</i>	<i>Arsenophonus</i>	<i>Fristchea</i>
SPT	80	0	100	0	0	0
HL	100	10	10	0	10	0
SI	97	0	0	0	0	0

2.4 DISCUSSÃO

Diante dos resultados das curvas de suscetibilidade traçada para cada população foi possível notar que para praticamente todas as moléculas, com exceção de SPT para pimetozina, os coeficientes angulares foram abaixo ou bem próximos do valor de 2 (Tabela 2), o que significa que a resposta destas populações as moléculas testadas foram heterogêneas, ou seja, a composição de indivíduos das populações representa a variedade encontrada na natureza.

Para as moléculas inseticidas do grupo dos reguladores de crescimento as concentrações letais variaram entre as populações, em que para o ingrediente ativo espiromesifeno esta variação foi muito baixa, isto significa que para as três diferentes populações testadas as ninfas apresentaram uma resposta similar as diferentes concentrações. O mesmo foi observado em populações de *B. tabaci* na Grécia, que apresentaram Cl_{50} com valores bem próximos aos obtidos nesse estudo (ILIAS et al., 2012).

Para o ingrediente ativo pyriproxyfen, as Cl_{50} variaram entre 12,20 a 57,65 mg/l (Tabela 2), e caracteriza uma diferença de suscetibilidade entre as populações. Além disso, um fato relevante notado é que, quando comparado com outros estudos, as Cl s obtidas das populações de *B.tabaci* MED são muito superiores as Cl s obtidas para populações de MEAM1 (MA et al., 2007). Outro fato que também reforça a menor suscetibilidade de *B. tabaci* MED ao pyriproxyfen, é capacidade que esta espécie críptica teve de deslocar *B. tabaci* MEAM1 em Israel em lavouras de algodão em um

cenário em que as aplicações de inseticidas eram predominantemente de pyriproxyfen (HOROWITZ et al., 2005).

Ao observar as respostas das populações testadas em relação as moléculas neonicotinóides é possível notar que para o ingrediente ativo acetamiprido não houve grande variação entre as CL_{50} , que é comprovada pela própria sobreposição de intervalos (Tabela 2). A similaridade entre as concentrações letais no estudo, bem como, quando comparada com a de outros países (XIE et al., 2014; CHEN et al., 2018).

No caso do tiametoxam a resposta das populações em relação a molécula foi diferente em que a CL_{50} de SPT foi sete vezes maior que HL (Tabela 2), sendo que esta variação seja justificada por diversos fatores, como composição de endossimbiontes (KONTSEDALOV et al., 2008; GHANIM; KONTSEDALOV 2009), bem como características próprias de cada população em relação a molécula inseticida, ou até mesmo um reflexo do manejo adotado no local em que foram coletadas (ZHENG et al., 2017; CHEN et al., 2018). É evidente que, apesar de os resultados de endossimbiontes obtidos entre as populações testadas terem variado, seriam necessários estudos mais específicos para que se pudesse inferir uma relação direta entre a diferença de suscetibilidade para determinadas moléculas.

Em relação ao ingrediente ativo imidacloprido as CL_{50} também variaram, porém, a maior delas foi somente quatro vezes entre as populações (Tabela 2), o que também remete a uma variação relativamente baixa, porém não se pode descartar a hipótese de que este resultado também seja um reflexo de manejo de inseticidas, tendo em vista que esta molécula se encontra entre as mais comercializadas no país (IBAMA, 2017).

Ao compararmos os valores obtidos com as CL_{50} testadas na fase imatura da *B. tabaci* com outros estudos, é notado que estas concentrações são menores em relação a CL s obtidas para fase adulta do inseto, e esta diferença de suscetibilidade em relação ao estágio de desenvolvimento da mosca-branca, está relacionada a diferença de expressão de determinados genes em diferentes fases de desenvolvimento do inseto, que são responsáveis pela detoxificação de moléculas como, por exemplo, a P450 monooxygenase, ou seja, os valores obtidos para a fase imatura das populações testadas podem ser reflexo uma determinada característica expressa para um estágio específico de desenvolvimento do inseto (JONES et al., 2011).

Para a molécula sulfoxaflor, os resultados similares entre as populações obtidos a partir das CI_{50} , reforçam a hipótese de que a suscetibilidade da espécie críptica MED no Brasil em relação a molécula é mantida, uma vez que o produto ainda não é comercializado no país, podendo servir como mais uma ferramenta para o manejo desta praga, tendo em vista que não se existe relações de resistência cruzada desta molécula com outros neonicotinóides (GRAVÁLOS et al., 2014).

No caso do ingrediente ativo ciantraniliprole, os valores das concentrações letais encontrados entre as populações também não diferiram entre si, o que novamente remete a hipótese de que a suscetibilidade de *B. tabaci* MED a molécula ciantraniliprole para as populações testadas não é reflexo de um manejo de inseticidas, mas sim uma característica intrínseca destes indivíduos do Brasil. E essa hipótese pode ser fundamentada se nos basearmos em algumas regiões da China, que o excesso de aplicações dessa diamida, sem a adoção de um manejo de resistência resultou em diferentes níveis suscetibilidade entre as populações de insetos no país (CHEN et al., 2018).

Para as demais moléculas testadas, os ingredientes ativos acefato e bifentrina, não apresentaram grande variação das CI_{50} em que, para ambas os intervalos se sobrepuseram, apesar de essas moléculas possuírem um maior tempo de mercado, a não diferenciação de suscetibilidade entre as populações, pode ser um reflexo de uma menor utilização dessas moléculas para o controle de *B. tabaci*, tendo em vista que a o maior número de ingredientes ativos utilizados para o controle dessa praga são os neonicotinóides ou reguladores de crescimento (LOURENÇÃO, 2002).

Para molécula pimezotina, as concentrações letais obtidas não diferiram estatisticamente variando entre 45,68 e 67,85 mg/l (Tabela 2) e, quando comparada com populações testadas na Espanha (GRAVÁLOS et al., 2014), os resultados obtidos para as populações do Brasil foram bem inferiores e quase não tiveram variação, também reforçando a hipótese de que os valores obtidos são intrínsecos das populações de *B. tabaci* MED testada.

Por último, em relação ao ingrediente ativo diafentiurom a população SPT apresentou uma diferença de suscetibilidade de três vezes em relação a HL (Tabela 2), e quando comparado com populações de *B. tabaci* MEAM1 no Brasil (DÂNGELO et al., 2018) apresentaram uma variação muito maior, reafirmando a diferença de suscetibilidade em entre as espécies crípticas.

Outro fato relevante que deve ser mencionado, é que as populações coletadas antes de serem testadas, permaneceram criadas em ambiente controlado, ou seja, ficaram livres da exposição a inseticidas por períodos distintos, como por exemplo a população HL, que permaneceu um período de aproximadamente 12 meses a mais que as demais testadas em ambiente livre da exposição de inseticidas (Tabela 1). Dessa forma a maior diferença de suscetibilidade de HL em relação a SPT e SI para as moléculas imidacloprido, tiametoxam, pyriproxyfen, diafentiurom e acefato (Tabela 2) pode ser um reflexo destes diferentes períodos em que estas populações ficaram expostos aos ingredientes ativos.

De uma maneira geral, ao avaliarmos todas as populações testadas, para todas as moléculas, é possível observar que para os ingredientes ativos tiametoxam, pyriproxyfen e diafentiurom, a população SPT foi menos suscetível do que HL. É evidente que apesar da similaridade dos resultados, existem muitos fatores que poderiam estar envolvidos, entre eles característica individual de cada população, bem como os endossimbiontes secundários encontrados nessas populações (Tabela 4), e até mesmo as variações de enzimas expressas dependendo estágio de desenvolvimento do inseto (YANG et al., 2013). Sendo que, para uma conclusão exata, seriam necessários estudos mais específicos direcionados para esses parâmetros.

Dessa forma pode-se concluir que a complexidade relacionada a *B. tabaci*, especialmente quando nos referimos a espécie críptica MED vai muito além de suas características invasivas, pois, em geral, esta apresenta uma menor suscetibilidade a moléculas inseticidas e que, em termos de manejo, isso significa um grande desafio para pesquisadores e profissionais da área, frisando a importância deste inseto, visto que recentemente a presença da praga foi constatada no Brasil (BARBOSA et al., 2015; MORAES et al., 2017) e vem se espalhando pelo país (MORAES et al., 2018).

Atualmente, ao nos referirmos ao uso de inseticidas como tática de controle para a praga é impossível tratarmos do tópico como uma única variável, e isto se deve a interdisciplinaridade que o "assunto" mosca-branca requer, principalmente com o advento de tecnologias que permitem análises moleculares mais precisas e baratas, possibilitando o conhecimento e diferenciação entre espécies crípticas, reconhecimento de endossimbiontes presentes, bem como a identificação de características genéticas atribuídas a fatores relacionados a suscetibilidade a inseticidas.

Sendo assim, os resultados obtidos no estudo servem de subsídio para posteriores estudos a serem desenvolvidos, bem como a sua utilização dentro de uma perspectiva de manejo integrado de pragas, sempre levando em conta boas práticas em campo como, um bom planejamento antes da implantação da lavoura, monitoramento da presença da praga e de possíveis sintomas de plantas infectadas, bem como conhecimentos proporcionados pela tecnologia de aplicação para que dessa forma seja possível realizar de forma correta o manejo da praga.

REFERÊNCIAS

- BARBOSA, L. F. et al. First report of *Bemisia tabaci* Mediterranean (Q biotype) species in Brazil. **Pest management science**, v. 71, n. 4, p. 501-504, 2015.
- BOSCO, D. et al. PCR-RFLP identification of *Bemisia tabaci* biotypes in the Mediterranean Basin. **Phytoparasitica**, v. 34, n. 3, p. 243-251, 2006.
- BROWN, J. K. et al. Revision of Begomovirus taxonomy based on pairwise sequence comparisons. **Archives of Virology**, v. 160, n. 6, p. 1593-1619, 2015.
- CHEN, J. C. et al. Toxicity of seven insecticides to different developmental stages of the whitefly *Bemisia tabaci* MED (Hemiptera: Aleyrodidae) in multiple field populations of China. **Ecotoxicology**, v. 27, n. 6, p. 742-751, 2018.
- DÂNGELO, R. A. C.; MICHEREFF-FILHO, M.; CAMPOS, M. R.; SILVA, P. S.; GUEDES, R. N. C. Insecticide resistance and control failure likelihood of the whitefly *Bemisia tabaci* (MEAM1; B biotype): a Neotropical scenario. **Annals of applied biology**, v. 172, n. 1, p. 88-99, 2018.
- DE BARRO, P. J. et al. *Bemisia tabaci*: a statement of species status. **Annual review of entomology**, v. 56, p. 1-19, 2011.
- DINSDALE, A. et al. Refined global analysis of *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Sternorrhyncha: Aleyrodoidea: Aleyrodidae) mitochondrial cytochrome oxidase 1 to identify species level genetic boundaries. **Annals of the Entomological Society of America**, v. 103, n. 2, p. 196-208, 2010.
- GHANIM, M.; KONTSEDALOV, S. Susceptibility to insecticides in the Q biotype of *Bemisia tabaci* is correlated with bacterial symbiont densities. **Pest Management Science: formerly Pesticide Science**, v. 65, n. 9, p. 939-942, 2009.
- GRÁVALOS, C. et al. Cross-resistance and baseline susceptibility of Mediterranean strains of *Bemisia tabaci* to cyantraniliprole. **Pest management science**, v. 71, n. 7, p. 1030-1036, 2014.
- HE, C. et al. Identification of glutathione S-transferases in *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) and evidence that GSTd7 helps explain the difference in insecticide susceptibility between *B. tabaci* Middle East-Minor Asia 1 and Mediterranean. **Insect molecular biology**, v. 27, n. 1, p. 22-35, 2018.

- HOROWITZ, A. R. Population dynamics of *Bemisia tabaci* (Gennadius): with special emphasis on cotton fields. **Agriculture, ecosystems & environment**, v. 17, n. 1-2, p. 37-47, 1986.
- HOROWITZ, A. R.; GORMAN, K.; ROSS, G.; DENHOLM, I. Biotypes B and Q of *Bemisia tabaci* and their relevance to neonicotinoid and pyriproxyfen resistance. **Archives of Insect Biochemistry and Physiology: Published in Collaboration with the Entomological Society of America**, v. 58, n. 4, p. 216-225, 2005.
- HOROWITZ, A. R.; ISHAAYA, I. Dynamics of biotypes B and Q of the whitefly *Bemisia tabaci* and its impact on insecticide resistance. **Pest management science**, v. 70, n. 10, p. 1568-1572, 2014.
- IBAMA, Boletim (2017). <http://ibama.gov.br/agrotoxicos/relatorios-de-comercializacao-de-agrotoxicos#boletinsanuais>. [accessed 3 October 2018]
- ILIAS, A. et al. Efficacy of ketoenols on insecticide resistant field populations of two-spotted spider mite *Tetranychus urticae* and sweet potato whitefly *Bemisia tabaci* from Greece. **Crop protection**, v. 42, p. 305-311, 2012.
- INOUE-NAGATA, A. K.; LIMA, M. F.; GILBERTSON, R. L. A review of geminivirus diseases in vegetables and other crops in Brazil: current status and approaches for management. **Horticultura Brasileira**, v. 34, n. 1, p. 8-18, 2016.
- JAMES, R. R. Combining azadirachtin and *Paecilomyces fumosoroseus* (Deuteromycotina: Hyphomycetes) to control *Bemisia argentifolii* (Homoptera: aleyrodidae). **Journal of Economic Entomology**, v. 96, n. 1, p. 25-30, 2003.
- JONES, C. M. et al. Age-specific expression of a P450 monooxygenase (CYP6CM1) correlates with neonicotinoid resistance in *Bemisia tabaci*. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 101, n. 1, p. 53-58, 2011.
- JONES, D.R. Plant viruses transmitted by whiteflies. **European Journal of Plant Pathology**, v. 109, p 195-219, 2003.
- KING, A. M.Q. et al. (Ed.). **Virus taxonomy: ninth report of the International Committee on Taxonomy of Viruses**. Elsevier, 2011.
- KONTSEDALOV, S. et al. The presence of *Rickettsia* is associated with increased susceptibility of *Bemisia tabaci* (Homoptera: Aleyrodidae) to insecticides. **Pest management science: formerly Pesticide Science**, v. 64, n. 8, p. 789-792, 2008.
- LEORA SOFTWARE (2002) POLO-Plus 1.0 Probit and Logit Analysis. LeOra Software, Petaluma, 2002.
- LOURENÇÃO, A. L. Situação atual da mosca-branca no Brasil—medidas de controle. **O Biológico, São Paulo**, n. 64, p. 153-155, 2002.
- MA, D.; GORMAN K.; DEVINE, G.; LUO, W.; DENHOLM, I. The biotype and insecticide-resistance status of whiteflies, *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae), invading cropping systems in Xinjiang Uygur Autonomous Region, northwestern China. **Crop Protection**, v. 26, n. 4, p. 612-617, 2007.

- MORAES, L. A. et al. Distribution and phylogenetics of whiteflies and their endosymbiont relationships after the Mediterranean species invasion in Brazil. **Scientific reports**, v. 8, n. 1, p. 14589, 2018.
- MORAES, L. A. et al. New invasion of *Bemisia tabaci* Mediterranean species in Brazil associated to ornamental plants. **Phytoparasitica**, v. 45, n. 4, p. 517-525, 2017.
- OLIVEIRA, M.R.V.; HENNEBERRY, T.J.; ANDERSON, P. History, status, and collaborative research projects for *Bemisia tabaci*. **Crop Protection**, v. 20, p. 709-723, 2001.
- PALUMBO, J. C.; HOROWITZ, R.; PRABHAKER, N. Overview of insecticidal control
PAN, H. et al. Insecticides promote viral outbreaks by altering herbivore competition. **Ecological Applications**, v. 25, n. 6, p. 1585-1595, 2015.
- SIMON, C. et al. Evolution, weighting, and phylogenetic utility of mitochondrial gene sequences and a compilation of conserved polymerase chain reaction primers. **Annals of the entomological Society of America**, v. 87, n. 6, p. 651-701, 1994.
- WALSH, P. S.; METZGER, D. A.; HIGUCHI, R. Chelex 100 as a medium for simple extraction of DNA for PCR-based typing from forensic material. **Biotechniques**, v. 10, n. 4, p. 506-513, 1991.
- WANG, R. et al. Baseline susceptibility and cross-resistance of cycloxyaprid, a novel cis-nitromethylene neonicotinoid insecticide, in *Bemisia tabaci* MED from China. **Crop Protection**, v. 110, p. 283-287, 2018.
- WANG, R.; WANG, J.D.; CHE, W. N.; LUO, C. First report of field resistance to cyantraniliprole, a new anthranilic diamide insecticide, on *Bemisia tabaci* MED in China. **Journal of integrative agriculture**, v. 17, n. 1, p. 158-163, 2018.
- WANG, S. et al. Resistance monitoring for eight insecticides on the sweetpotato whitefly (Hemiptera: Aleyrodidae) in China. **Journal of economic entomology**, v. 110, n. 2, p. 660-666, 2017.
- XIE, W. et al. Sensitivity of *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) to several new insecticides in China: effects of insecticide type and whitefly species, strain, and stage. **Journal of Insect Science**, v. 14, n. 1, p. 261, 2014.
- YANG, N. et al. Transcriptome profiling of the whitefly *Bemisia tabaci* reveals stage-specific gene expression signatures for thiamethoxam resistance. **Insect molecular biology**, v. 22, n. 5, p. 485-496, 2013.
- YANG, N. W.; LI, L. A.; WAN, H. F.; LIU, X. W.; JOHNSON, D. Effects of plant essential oils on immature and adult sweetpotato whitefly, *Bemisia tabaci* biotype B. **Crop protection**, v. 29, n. 10, p. 1200-1207, 2010.
- YE, X. et al. Transcriptomic analyses reveal the adaptive features and biological differences of guts from two invasive whitefly species. **BMC genomics**, v. 15, n. 1, p. 370, 2014.
- ZHENG, H. et al. Dynamic monitoring (B versus Q) and further resistance status of Q-type *Bemisia tabaci* in China. **Crop protection**, v. 94, p. 115-122, 2017.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Diante dos dados coletados foi possível observar que as concentrações letais necessárias para matar *B. tabaci* biótipo Q no Brasil variaram, abrindo questionamento para diferentes hipóteses, como por exemplo, características genéticas, a presença de endossimbiontes secundários, o estágio de desenvolvimento em que o inseto se encontra ou até mesmo o próprio manejo adotado na área em que uma determinada população é coletada. Sendo que, os resultados obtidos no estudo poderão ser utilizados como base para posteriores pesquisas a serem realizadas, servindo como subsidio para a utilização do controle químico como uma tática inserida dentro de uma perspectiva de manejo integrado de pragas.

REFERÊNCIAS

- AHMED, M. Z. et al. Genetic distinctions among the Mediterranean and Chinese populations of *Bemisia tabaci* Q biotype and their endosymbiont *Wolbachia* populations. **Journal of Applied Entomology**, v. 133, n. 9-10, p. 733-741, 2009.
- BARBOSA, L. F. et al. First report of *Bemisia tabaci* Mediterranean (Q biotype) species in Brazil. **Pest management science**, v. 71, n. 4, p. 501-504, 2015.
- BONDAR, G. Aleyrodídeos do Brasil. **Boletim do Laboratório de Patologia Vegetal**, Salvador, v. 5, p. 27-34, 1928.
- BROWN, J. K. et al. Revision of Begomovirus taxonomy based on pairwise sequence comparisons. **Archives of Virology**, v. 160, n. 6, p. 1593-1619, 2015.
- BROWN, J. K.; BIRD, J. Whitefly-transmitted geminiviruses and associated disorders in the Americas and the Caribbean Basin. **Plant Disease**, v. 76, n. 3, p. 220-225, 1992.
- BYRNE, D. N.; BELLOWS JUNIOR, T. S. Whitefly biology. **Annual review of entomology**, v. 36, n. 1, p. 431-457, 1991.
- CHU, D. et al. The introduction of the exotic Q biotype of *Bemisia tabaci* from the Mediterranean region into China on ornamental crops. **Florida Entomologist**, v. 89, n. 2, p. 168-174, 2006.
- CHU, Dong et al. Further insights into the strange role of bacterial endosymbionts in whitefly, *Bemisia tabaci*: Comparison of secondary symbionts from biotypes B and Q in China. **Bulletin of entomological research**, v. 101, n. 4, p. 477-486, 2011.
- COSTA, A. S.; COSTA, C. L.; SAUER, H. F. G. Surto de mosca-branca em culturas do Paraná e São Paulo. **An. Soc. Entomol. Brasil**, v. 2, p. 20-30, 1973.
- CZEPAK, C. et al. Praga dos séculos: mosca-branca em tomate. **Revista Cultivar, Pelotas**, n. 55, p. 22-27, 2009.
- DE BARRO, P. J. et al. *Bemisia tabaci*: a statement of species status. **Annual review of entomology**, v. 56, p. 1-19, 2011.
- DINSDALE, A. et al. Refined global analysis of *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Sternorrhyncha: Aleyrodoidea: Aleyrodidae) mitochondrial cytochrome oxidase 1 to identify species level genetic boundaries. **Annals of the Entomological Society of America**, v. 103, n. 2, p. 196-208, 2010.
- EICHELKRAUT, K.; CARDONA, C. Biología, cria massal y aspectos ecológicos de la mosca blanca *Bemisia tabaci* (Gennadius)(Homoptera: Aleyrodidae), com plaga del frijol comum. **Turrialba**, v. 39, n. 1, p. 55-62, 1989.
- FANCELLI, M. et al. Atratividade e preferência para oviposição de *Bemisia tabaci* (Gennadius)(Hemiptera: Aleyrodidae) biótipo B em genótipos de tomateiro. **Neotropical Entomology**, v. 32, n. 2, p. 319-328, 2003.

FUJIWARA, A.; MAEKAWA, K.; TSUCHIDA, T. Genetic groups and endosymbiotic microbiota of the *Bemisia tabaci* species complex in Japanese agricultural sites.

Journal of Applied Entomology, v. 139, n. 1-2, p. 55-66, 2015.

GILL, R. J. The morphology of whiteflies. In: GERLING, D. **Whiteflies: their bionomics, pest status and management**. Intercept Limited, 1990.

INOUE-NAGATA, A. K.; LIMA, M. F.; GILBERTSON, R. L. A review of geminivirus diseases in vegetables and other crops in Brazil: current status and approaches for management. **Horticultura Brasileira**, v. 34, n. 1, p. 8-18, 2016.

JIAO, X. et al. Host preference and nymph performance of B and Q putative species of *Bemisia tabaci* on three host plants. **Journal of pest science**, v. 85, n. 4, p. 423-430, 2012.

JONES, D.R. Plant viruses transmitted by whiteflies. **European Journal of Plant Pathology**, v. 109, p 195-219, 2003.

KANAKALA, S.; GHANIM, M. Advances in the Genomics of the Whitefly *Bemisia tabaci*: An Insect Pest and a Virus Vector. In: **Short Views on Insect Genomics and Proteomics**. Springer International Publishing, 2015. p. 19-40.

KING, Andrew MQ et al. (Ed.). **Virus taxonomy: ninth report of the International Committee on Taxonomy of Viruses**. Elsevier, 2011.

KONTSEDALOV, S. et al. The presence of *Rickettsia* is associated with increased susceptibility of *Bemisia tabaci* (Homoptera: Aleyrodidae) to insecticides. **Pest management science**, v. 64, n. 8, p. 789-792, 2008.

LIMA, A. C. S.; LARA, F. M. Mosca-branca (*B. tabaci*): morfologia, bioecologia e controle. **Jaboticabal: Funep**, 2001.

LOURENÇÃO, A. L.; SAKATE, R. K.; VALLE, G. E. *Bemisia tabaci* biótipo B. In: VILELLA, E.; ZUCCHI, R.A. (Ed.). **Pragas introduzidas no Brasil: Insetos e ácaros**. Piracicaba: FEALQ, 2014.

MARTIN, J. H.; MIFSUD, D.; RAPISARDA, C. The whiteflies (Hemiptera: Aleyrodidae) of Europe and the Mediterranean basin. **Bulletin of entomological research**, v. 90, n. 5, p. 407-448, 2000.

MOLINARI, A. M. et al. Mosca blanca (*Bemisia tabaci* Gennadius) en cultivos de soja. **Revista Soja, para mejorar la producción, EEA INTA Oliveros**, v. 36, p. 109-111, 2007.

MORAES, L. A. et al. New invasion of *Bemisia tabaci* Mediterranean species in Brazil associated to ornamental plants. **Phytoparasitica**, v. 45, n. 4, p. 517-525, 2017.

NAVAS-CASTILLO, J.; FIALLO-OLIVÉ, E.; SÁNCHEZ-CAMPOS, S. Emerging virus diseases transmitted by whiteflies. **Annual review of phytopathology**, v. 49, p. 219-48, 2011.

OLIVEIRA, M.R.V.; HENNEBERRY, T.J.; ANDERSON, P. History, status, and collaborative research projects for *Bemisia tabaci*. **Crop Protection**, v. 20, p. 709-723, 2001.

PALUMBO, J. C.; HOROWITZ, R.; PRABHAKER, N. Overview of insecticidal control and resistance management for *Bemisia tabaci*. **Crop Protection**, Oxford, v. 20, n. 9, p. 739-765, 2001.

PAN, H. et al. Insecticides promote viral outbreaks by altering herbivore competition. **Ecological Applications**, v. 25, n. 6, p. 1585-1595, 2015.

PINHEIRO, P. V et al. Is there a role for symbiotic bacteria in plant virus transmission by insects?. **Current Opinion in Insect Science**, v. 8, p. 69-78, 2015.

SALAS, J.; MENDOZA, O. Biology of the sweetpotato whitefly (Homoptera: Aleyrodidae) on tomato. **Florida Entomologist**, p. 154-160, 1995.

SILVA, A.G.A. et al. Quarto catálogo dos insetos que vivem nas plantas do Brasil. **Seus parasitas e predadores. Parte I**, v. 1, 1968.

WAN, F.H.; YANG, N. W. Invasion and management of agricultural alien insects in China. **Annual review of entomology**, v. 61, p. 77-98, 2016.

XU, J.; DE BARRO, P. J.; LIU, S. S. Reproductive incompatibility among genetic groups of *Bemisia tabaci* supports the proposition that the whitefly is a cryptic species complex. **Bulletin of entomological research**, v. 100, n. 3, p. 359-366, 2010.