

THAÍS CAROLINA SILVA CIRINO

**CARACTERÍSTICAS BIOLÓGICAS DE *Encarsia inaron* (WALKER)
(HYMENOPTERA: APHELINIDAE) NO HOSPEDEIRO *Bemisia tabaci*
(GENNADIUS) (HEMIPTERA: ALEYRODIDAE)**

Botucatu

2022

THAÍS CAROLINA SILVA CIRINO

**CARACTERÍSTICAS BIOLÓGICAS DE *Encarsia inaron* (WALKER)
(HYMENOPTERA: APHELINIDAE) NO HOSPEDEIRO *Bemisia tabaci*
(GENNADIUS) (HEMIPTERA: ALEYRODIDAE)**

Tese apresentada à Faculdade de Ciências Agronômicas da Unesp Câmpus de Botucatu, para obtenção do título de Doutora em Agronomia (Proteção de Plantas).

Orientadora: Regiane Cristina de Oliveira

Botucatu

2022

C578c

Cirino, Thaís Carolina Silva

Características biológicas de *Encarsia inaron* (Walker)
(Hymenoptera: Aphelinidae) no hospedeiro *Bemisia tabaci*
(Gennadius) (Hemiptera: Aleyrodidae) / Thaís Carolina Silva Cirino. --
Botucatu, 2022

126 p. : tabs., fotos

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Faculdade de Ciências Agrônômicas, Botucatu

Orientadora: Regiane Cristina de Oliveira

1. Manejo integrado de pragas. 2. Controle biológico. 3. Parasitoide
de ninfas. 4. Mosca-branca. 5. Entomologia. I. Título.

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

Essa ficha não pode ser modificada.

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA TESE: CARACTERÍSTICAS BIOLÓGICAS DE *Encarsia inaron* (Walker) (HYMENOPTERA: APHELINIDAE) NO HOSPEDEIRO *Bemisia tabaci* (GENNADIUS) (HEMIPTERA: ALEYRODIDAE)

AUTORA: THAÍS CAROLINA SILVA CIRINO

ORIENTADORA: REGIANE CRISTINA DE OLIVEIRA

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

Prof.^a Dr.^a REGIANE CRISTINA DE OLIVEIRA (Participação Virtual)
Proteção Vegetal / Faculdade de Ciências Agronômicas de Botucatu UNESP



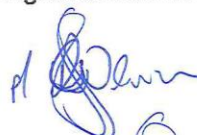
Prof.^a Dr.^a RENATE KRAUSE SAKATE (Participação Virtual)
Proteção Vegetal / Faculdade de Ciências Agronômicas de Botucatu - UNESP



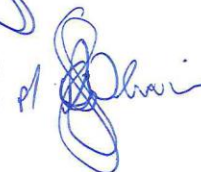
Prof.^a Dr.^a NADIA CALDATO (Participação Virtual)
Pós-Doutoranda - Proteção Vegetal / Faculdade de Ciências Agronômicas de Botucatu



Prof. Dr. DIRCEU PRATISSOLI (Participação Virtual)
Produção Vegetal / Universidade Federal do Espírito Santo



Prof.^a Dr.^a CAROLINA REIGADA MONTOYA (Participação Virtual)
Ecologia e Biologia Evolutiva / Universidade Federal de São Carlos



Botucatu, 27 de janeiro de 2022

Aos meus país, Manoel e Elsa, por toda minha vida,
e ao meu marido Bruno, pelo apoio, dedico.

AGRADECIMENTOS

A Deus, por absolutamente tudo.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela viabilização deste trabalho através da bolsa concedida. O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

À Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (UNESP), Faculdade de Ciências Agrônomicas (FCA), Campus de Botucatu, especialmente ao Programa de Pós-graduação em Agronomia (Proteção de Plantas) pela oportunidade da realização do curso de doutorado.

À minha orientadora, Prof.^a Dr.^a Regiane Cristina de Oliveira, pelo suporte, orientação, paciência e confiança depositada em mim ao longo desses anos. Obrigada por me receber de braços abertos no mestrado e me conduzir com seus ensinamentos até o dia de hoje.

Ao Departamento de Proteção Vegetal e a todos os funcionários envolvidos. Em especial ao assessor administrativo Nivaldo Antonio Diez pela disponibilidade em ajudar, e a Vanessa R. de Carvalho pelo suporte na pesquisa.

À Professora Dra. Renate Krause Sakate e todos os membros de sua equipe pela ajuda e colaboração, e à Professora Dra. Silvia Renata S. Wilcken, pela utilização do Laboratório de Biologia Molecular.

A todos os Professores do Programa de Pós-graduação em Agronomia – Proteção de Plantas que contribuíram grandemente com minha formação.

A todos os colegas do AGRIMIP pela companhia durante os anos e pela ajuda nas atividades desenvolvidas, em especial a Roberta Thiago, Daniel Alvarez e Daniel Santos pelo suporte com os experimentos.

Ao meu tio Fernando (*in memoriam*) e minha tia Inês por fazer o início dessa jornada mais fácil com sua atenção e carinho.

As minhas amigas Laís, Stephanie, Marcela e Simone, pelas conversas e por todos os momentos bons durante a pós-graduação.

Ao meu marido, Bruno, que esteve comigo desde a graduação até o dia de hoje, e sempre com muita paciência me apoiou nesses dez anos de crescimento profissional.

Aos meus pais que são responsáveis por tudo que sou hoje e por toda a minha educação. Nos momentos mais difíceis, foi por vocês. E também à toda minha família que sempre torceu por mim.

“O começo de todas as ciências é o espanto de as coisas serem o que são.”

Aristóteles

RESUMO

Para a implementação de um programa de controle biológico é necessário o desenvolvimento de estudos básicos de um inimigo natural como a avaliação dos parâmetros biológicos e comportamentais agente de controle, até a liberação nas plantas infestadas com a praga-alvo. Como exemplo de um inimigo natural com potencial uso no manejo de pragas está o parasitoide de ninfas de mosca-branca *Encarsia inaron* (Walker) (Hymenoptera: Aphelinidae). Esse inseto tem sido associado a diferentes espécies de hemípteros-praga ao redor do mundo, e no Brasil foi associado a *Bemisia tabaci* (Gennadius) (Hemiptera: Aleyrodidae). Entretanto, para que possa de fato se tornar uma ferramenta viável no manejo de *B. tabaci* é necessário o completo entendimento da dinâmica entre ambos os insetos. Dessa forma, esse trabalho abordou bioensaios para avaliar o desenvolvimento do parasitoide em ninfas de *B. tabaci* MEAM1 criadas em couve, soja, feijão e tomate foram conduzidos, assim como a identificação de endossimbiontes associados, a avaliação de características biológicas e capacidade de parasitismo de *E. inaron* em diferentes temperaturas. Também são necessários a realização de estudos que subsidiem o uso em liberações nas plantas, e por isto foi avaliado o efeito direto de produtos fitossanitários sobre diferentes fases de desenvolvimento de *E. inaron*. O desenvolvimento de *E. inaron* não foi diferente quando parasitou ninfas de *B. tabaci* oriundas das plantas utilizadas no estudo. As bactérias endossimbiontes associadas foram *Wolbachia*, *Serratia* e *Rickettsia*, entretanto, com o passar das gerações a população passou a apresentar apenas *Rickettsia* como bactéria associada, o que permitiu observar que a presença de *Wolbachia* na população causava a produção apenas de fêmeas, uma vez que quando não presente, machos também foram observados. O limiar de temperatura inferior (T_0) de *E. inaron* foi de 13,3°C, enquanto os limiares de temperatura superior (T_s) e ótima (T_{op}) foram 35,9 e 32,5°C, respectivamente. Em relação aos testes de seletividade, a fase de pupa de *E. inaron* tolera melhor a ação de produtos fitossanitários, enquanto adultos são mais impactados, entretanto, a ação dos produtos utilizados foi diferente em ambas as fases. Todos os resultados deste estudo fornecem informações que podem auxiliar a elucidação da dinâmica entre *E. inaron* e *B. tabaci* MEAM1, e ajudar na elaboração de um programa de controle biológico efetivo.

Palavras-chave: controle biológico; manejo integrado de pragas; mosca-branca.

ABSTRACT

For the implementation of a biological control program, it is necessary to develop basic studies of a natural enemy, such as the evaluation of biological and behavioral parameters of the control agent, until the release in plants infested with the target pest. An example of a natural enemy with potential use in pest management is the whitefly nymph parasitoid *Encarsia inaron* (Walker) (Hymenoptera: Aphelinidae). This insect has been associated with different species of hemiptera pests around the world, and in Brazil it has been associated with *Bemisia tabaci* (Gennadius) (Hemiptera: Aleyrodidae). However, in order to become a viable tool in the management of *B. tabaci*, it is necessary to fully understand the dynamics between both insects. Thus, this work addressed bioassays to evaluate the development of the parasitoid in *B. tabaci* MEAM1 nymphs reared on cabbage, soybean, beans and tomato were conducted, as well as the identification of associated endosymbionts, the evaluation of biological characteristics and parasitism capacity of *E. inaron* at different temperatures. It is also necessary to carry out studies that support the use in releases in plants, and for this reason the direct effect of phytosanitary products on different stages of development of *E. inaron* was evaluated. The development of *E. inaron* was not different when it parasitized *B. tabaci* nymphs from the plants used in the study. The associated endosymbionts bacteria were *Wolbachia*, *Serratia* and *Rickettsia*, however, over the generations the population started to present only *Rickettsia* as an associated bacterium, which allowed us to observe that the presence of *Wolbachia* in the population caused the production of only females, since when not present, males were also observed. The lower temperature threshold (T_0) of *E. inaron* was 13.3°C, while the upper (T_s) and optimal (T_{op}) temperature thresholds were 35.9 and 32.5°C, respectively. In relation to the selectivity tests, the pupal stage of *E. inaron* better tolerates the action of phytosanitary products, while adults are more impacted, however, the action of the products used was different in both stages. All the results of this study provide information that can help to elucidate the dynamics between *E. inaron* and *B. tabaci* MEAM1, and help in the elaboration of an effective biological control program.

Keywords: biological control; integrated pest management; whitefly.

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO GERAL.....	17
CAPÍTULO 1 – Perspectivas do uso do parasitoide de ninfas <i>Encarsia inaron</i> (Walker) (Hymenoptera: Aphelinidae) como agente de controle biológico de <i>Bemisia tabaci</i> (Gennadius) (Hemiptera: Aleyrodidae)..	19
1.1 Contextualização.....	21
1.2 Mosca-branca, <i>Bemisia tabaci</i> (Gennadius, 1989) (Hemiptera: Aleyrodidae).....	22
1.3 Controle biológico como ferramenta no manejo de <i>Bemisia tabaci</i> : <i>Encarsia inaron</i>	25
REFERÊNCIAS.....	30
CAPÍTULO 2 – Molecular characterization of <i>Encarsia inaron</i> (Walker, 1839) naturally associated with <i>Bemisia tabaci</i> (Gennadius, 1889) in Brazil.....	36
2.1 INTRODUCTION.....	37
2.2 MATERIALS AND METHODS.....	40
2.3 RESULTS AND DISCUSSION.....	40
REFERENCES.....	44
CAPÍTULO 3 – Desenvolvimento de <i>Encarsia inaron</i> (Walker) (Hymenoptera: Aphelinidae) em ninfas de <i>Bemisia tabaci</i> (Gennadius) (Hemiptera: Aleyrodidae) criadas em diferentes plantas e prospecção de endossimbiontes.....	47
3.1 INTRODUÇÃO.....	49
3.2 MATERIAL E MÉTODOS.....	51
3.2.1 Criação de <i>Bemisia tabaci</i> MEAM1.....	51
3.2.2 Criação de <i>Encarsia inaron</i>	51
3.2.3 Desenvolvimento de <i>Encarsia inaron</i> em ninfas de <i>Bemisia tabaci</i> oriundas de diferentes hospedeiros vegetais.....	52
3.2.4 Endossimbiontes associados a <i>Encarsia inaron</i>	53
3.3 RESULTADOS.....	56
3.3.1 Desenvolvimento de <i>Encarsia inaron</i> em ninfas de <i>Bemisia tabaci</i> oriundas de diferentes hospedeiros vegetais.....	56
3.3.2 Endossimbiontes associados a <i>Encarsia inaron</i>	58

3.4	DISCUSSÃO.....	59
	REFERÊNCIAS.....	64
CAPÍTULO 4 – Características biológicas e capacidade de parasitismo de <i>Encarsia inaron</i> (Walker) (Hymenoptera: Aphelinidae) em diferentes temperaturas sobre o hospedeiro <i>Bemisia tabaci</i> (Gennadius) (Hemiptera: Aleyrodidae).....		
4.1	INTRODUÇÃO.....	71
4.2	MATERIAL E MÉTODOS.....	72
4.2.1	Características biológicas e exigências térmicas de <i>Encarsia inaron</i> em diferentes temperaturas.....	72
4.2.2	Capacidade de parasitismo em diferentes temperaturas.....	74
4.3	RESULTADOS.....	75
4.3.1	Características biológicas e exigências térmicas de <i>Encarsia inaron</i> em diferentes temperaturas.....	75
4.3.2	Capacidade de parasitismo de <i>Encarsia inaron</i> em diferentes temperaturas.....	79
4.4	DISCUSSÃO.....	83
	REFERÊNCIAS.....	90
CAPÍTULO 5 – Seletividade de produtos fitossanitários ao parasitoide de <i>Encarsia inaron</i> (Walker) (Hymenoptera: Aphelinidae).....		
5.1	INTRODUÇÃO.....	96
5.2	MATERIAL E MÉTODOS.....	97
5.2.1	Testes em diferentes fases de desenvolvimento de <i>Encarsia inaron</i>	100
5.3	RESULTADOS.....	100
5.4	DISCUSSÃO.....	107
	REFERÊNCIAS.....	118
CONSIDERAÇÕES FINAIS.....		124
REFERÊNCIAS.....		125

INTRODUÇÃO GERAL

A mosca-branca, *Bemisia tabaci* (Gennadius) (Hemiptera: Aleyrodidae), está entre as espécies de insetos-praga com maior importância no Brasil e no mundo (KRAUSE-SAKATE et al., 2020), e isso é consequência tanto de características intrínsecas da praga, como a capacidade de se desenvolver em inúmeros hospedeiros e de estar presente em quase todas as regiões do mundo (BOYKIN et al., 2013), como também de ações antrópicas, como o uso incorreto de produtos químicos (QU et al., 2017), e o cultivo extensivo de plantas hospedeiras que possibilitam a manutenção da praga nos ambientes agrícolas.

Outra característica que pode agregar ao sucesso de *B. tabaci* no mundo é a ocorrência de espécies crípticas (KANAKALA; GHANIM, 2015), o que também é um ponto importante em relação ao manejo, uma vez que diferentes biótipos podem apresentar diferentes graus de tolerância a produtos químicos (BARRO et al., 2011; KRAUSE-SAKATE et al., 2020). Além disso, o maior problema relacionado a *B. tabaci* é a excelente capacidade de transmissão de patógenos causadores de doenças importantes em diversas espécies vegetais (BROWN et al., 2015; (INOUE-NAGATA; LIMA; GILBERTSON, 2016). Por esses motivos, a realização do manejo de *B. tabaci* é essencial para que os danos, tanto os diretos ocasionados pela alimentação da praga, como os indiretos como a ocorrência de doenças nas culturas, sejam minimizados e os índices de produtividade sejam satisfatórios.

Devido a eficácia e a disponibilidade o controle químico é a tática mais utilizada no controle de *B. tabaci*, entretanto, o mau posicionamento pode causar efeitos adversos como a seleção de indivíduos resistentes (DÂNGELO et al., 2018). Por esse motivo é importante que outras ferramentas sejam utilizadas com objetivo de manejar a praga e também de preservar a tecnologia inserida em produtos fitossanitários. Entre outras ferramentas pode-se citar o controle biológico, que surge como uma prática aliada e prevista pelas preconizações do Manejo Integrado de Pragas (MIP).

O controle biológico nada mais é que a ação de inimigos naturais sobre um determinado organismo, sendo que este fenômeno sofre influência de fatores externos como o clima, a oferta de alimentos, competição e aspectos relacionados a densidade populacional (BOSCH; MESSENGER; GUTIERREZ, 1982), em outras palavras, de forma aplicada, a ação de agentes de controle biológicos pode auxiliar na regulação

populacional de uma praga por meio da mortalidade, assim como funciona o controle químico.

No Brasil, o controle biológico por meio do uso de parasitoides ganha espaço com o passar dos anos e isso pode ser observado pelo aumento no número de empresas e produtos registrados para diversos alvos biológicos (MAPA, 2021). Esse crescimento pode ser explicado tanto pela necessidade relacionada a dificuldade no manejo de diversas pragas, como também pelos estudos e esforços realizados por grupos de pesquisa por todo o país (PARRA; COELHO-JUNIOR, 2019).

Em relação a mosca-branca, parasitoides do gênero *Encarsia* se destacam entre os inimigos naturais associados a *B. tabaci*, entre elas, *Encarsia inaron* é um dos parasitoides de ninfas não apenas de *B. tabaci*, mas como de outras espécies de moscas-brancas (BRADY; WHITE, 2012; MALEKMOHAMMADI; SHISHEHBOR; KOICHEILI, 2012; PICKETT et al., 1996) No Brasil o parasitoide foi relatado parasitando ninfas de *B. tabaci* (OLIVEIRA et al., 2003), porém, ainda não existem estudos no sentido de que este inimigo natural seja de fato uma ferramenta dentro de um programa de controle biológico.

De acordo com Parra et al. (2002), as etapas que envolvem o desenvolvimento de um programa de controle biológico de forma aplicada são: 1) coleta, identificação e manutenção de linhagens; 2) seleção de hospedeiro alternativo, quando possível, para criação massal; 3) estudar as características biológicas e de comportamento do parasitoide; 4) conhecer aspectos relacionados a dinâmica praga-algo; 5) elucidar aspectos relacionados a liberação dos parasitoides, como número ideal, local adequado, épocas e formas de liberação; 6) conhecer os efeitos de produtos fitossanitários sobre o inimigo natural por meio de experimentos de seletividade; 7) avaliar a eficiência do parasitoide sobre a praga alvo; 9) simular modelos para entender a relação entre parasitoide e a praga. Dessa forma, o objetivo do presente estudo foi avaliar pontos básicos relacionados a *E. inaron* e *B. tabaci* espécie críptica MEAM1, que servirão como dados de subsidio para a implementação deste parasitoide em um possível programa de controle biológico de *B. tabaci* no Brasil.

CAPÍTULO 1

PERSPECTIVAS DO USO DO PARASITOIDE DE NINFAS *Encarsia inaron* (Walker) (HYMENOPTERA: APHELINIDAE) COMO AGENTE DE CONTROLE BIOLÓGICO DE *Bemisia tabaci* (Gennadius) (HEMIPTERA: ALEYRODIDAE)

RESUMO

Entre as diversas espécies de insetos-praga que ocorrem mundialmente, a mosca-branca, *Bemisia tabaci* (Gennadius) (Hemiptera: Aleyrodidae) é uma das que recebe grande atenção de pesquisadores devido aos danos diretos que ocorrem devido à alimentação do inseto, e indiretos relacionados a transmissão de vírus causadores de doenças em plantas, o que torna o controle desta praga imprescindível. O manejo de *B. tabaci* é realizado majoritariamente por meio da ação de produtos fitossanitários, entretanto, devido ao uso incorreto, alguns problemas como seleção de populações resistentes e desequilíbrio ambiental podem acontecer, por isso, outras ferramentas de controle se fazem importante para auxiliar o manejo de *B. tabaci* e consequentemente possibilitar o alcance de altos índices de produtividade. Entre essas ferramentas, o controle biológico vem ganhando espaço ao longo dos anos nos sistemas agrícolas mundiais, e em relação ao *B. tabaci*, diversos inimigos naturais vêm sendo associados. Como um exemplo, a espécie parasitoide *Encarsia inaron* (Walker) (Hymenoptera: Aphelinidae) é um inimigo natural associado a *B. tabaci* e a outros hemípteros-praga e, embora relatada no Brasil, poucos são os estudos envolvendo o inseto. Este agente de controle biológico é normalmente encontrado em algumas regiões do mundo como África, Europa e Ásia, e o caso mais famoso envolvendo este inimigo natural foi a importação para os Estados Unidos para o controle de um hemíptero-praga, *Siphoninus phillyreae* (Haliday) (Hemiptera: Aleyrodidae), que ataca árvores de freixo na Califórnia, entretanto, para avaliar a eficácia de *E. inaron* no manejo de *B. tabaci* diversos estudos básicos ainda são necessários. A seguinte revisão aborda aspectos importantes relacionados a *B. tabaci* e *E. inaron*, como características morfológicas e casos de sucesso do uso de *E. inaron*, que podem auxiliar nos estudos sobre o parasitoide.

Palavras-chave: manejo integrado de pragas (MIP); sustentabilidade; inimigo natural.

ABSTRACT

Among the various species of pest insects that occur worldwide, the whitefly, *Bemisia tabaci* (Gennadius) (Hemiptera: Aleyrodidae) is one that receives great attention from researchers due to the direct damage that occurs due to the insect's feeding, and indirect related to the transmission of disease-causing viruses in plants, which makes controlling this pest essential. The management of *B. tabaci* is carried out mainly through the action of phytosanitary products, however, due to incorrect use, some problems such as selection of resistant populations and environmental imbalance can happen, so other control tools are important to help the management of *B. tabaci* and consequently enable the achievement of high levels of productivity. Among these tools, biological control has been gaining ground over the years in world agricultural systems, and in relation to *B. tabaci*, several natural enemies have been associated with the pest. As an example, the parasitoid species *Encarsia inaron* (Hymenoptera: Aphelinidae) is a natural enemy associated with *B. tabaci* and other pest hemiptera, and although reported in Brazil, there are few studies involving the insect. This biological control agent is commonly found in some regions of the world such as Africa, Europe and Asia, and the most famous case involving this natural enemy was the importation into the United States for the control of a pest, *Siphoninus phillyreae* (Haliday) (Hemiptera: Aleyrodidae), which attacks ash trees in California, however, to assess the efficacy of *E. inaron* in the management of *B. tabaci* several basic studies are needed. The following review addresses important aspects related to *B. tabaci* and *E. inaron*, such as morphological characteristics and successful cases of using *E. inaron*, which can help in studies of the parasitoid.

Keywords: integrated pest management (IPM); sustainability; natural enemy.

1.1 Contextualização

A mosca-branca, *Bemisia tabaci* (Gennadius) (Hemiptera: Aleyrodidae), é uma praga importante que ocorre em todos os continentes, exceto nas regiões polares (BARRO et al., 2011; BOYKIN et al., 2013) e se destaca como praga de alto potencial destrutivo em diversas culturas ao redor do mundo. Os danos causados por *B. tabaci* podem ser diretos, resultantes da alimentação e produção do *honeydew*, e indiretos, pela transmissão de inúmeros patógenos com importância mundial (BROWN et al., 2015), como por exemplo, os *Begomovirus* (INOUE-NAGATA; LIMA; GILBERTSON, 2016). A ferramenta mais utilizada no manejo de *B. tabaci* é o controle químico (ŽANIC, 2018), pois a utilização de produtos fitossanitários é uma técnica eficaz e grande aliada ao produtor no controle de mosca-branca, além disso, os químicos se destacam como ferramenta de fácil acesso aos produtores que buscam a garantia de uma boa produção e uma elevação nos índices de produtividade, além da rapidez e menor custo no controle de agentes nocivos. Entretanto, apesar da eficiência comprovada, a utilização demasiada desses produtos pode trazer más consequências como a interferência na entomofauna benéfica dos sistemas (STEFANELLO JUNIOR et al., 2012), além da possibilidade de seleção de populações resistentes a determinados inseticidas (QU et al., 2017; TABASHNIK et al., 2014). Em função disso e também pela busca da sustentabilidade nos agroecossistemas, há necessidade do desenvolvimento de ferramentas eficazes e com menor impacto ao ambiente. Desse modo, algumas espécies de parasitoides, predadores e organismos entomopatogênicos que têm sido associadas à *B. tabaci* (JABER et al., 2018) hoje são alvos de estudo em todo o mundo.

Entre os inimigos naturais associados à mosca-branca, os parasitoides do gênero *Encarsia* (Hymenoptera: Aphelinidae) são organismos que possuem alto potencial de utilização em programas de controle biológico. A espécie mais estudada e com ampla utilização no controle de moscas-branca é *Encarsia formosa* (Gahan) (Hymenoptera: Aphelinidae), porém, este inimigo natural não teve grande impacto em programas de controle biológico no Brasil, sendo que parte desse insucesso pode ser atribuído a baixa qualidade dos parasitoides (LENTEREN, 1993) fato totalmente relacionado com o método e aspectos envolvidos na criação, além disso, outro motivo pelo qual pode ser explicado a falta de sucesso é a baixa produção do parasitoide tendo em vista demandas por produtores. Apesar disso, a espécie ficou conhecida

após a utilização no controle biológico de mosca-branca da espécie *Trialeurodes vaporariorum* (Westwood) (Hemiptera: Aleyrodidae) (BABCOCK; HERATY, 2000), e hoje ainda é utilizada no mundo todo, majoritariamente em cultivos protegidos na Europa, para o controle de diversas espécies de mosca-branca, entre elas *B. tabaci* (GRILLE et al., 2012; LIU et al., 2015; TAKAHASHI et al., 2008).

Além de *E. formosa*, outras espécies do gênero têm sido relatadas como parasitoides de *B. tabaci*, como exemplo a espécie *Encarsia inaron* (Walker) (POLASZEK et al., 1992). No Brasil a espécie foi identificada e associada a espécie críptica MEAM1, também conhecida como biótipo B (OLIVEIRA et al., 2003), entretanto, apesar de existir o relato da ocorrência no país, não há estudos do parasitoide quanto a determinação do uso como agente em programas de controle biológico aplicado em culturas de importância econômica. Além disso, informações sobre a criação dessa espécie em condições de laboratório são limitadas.

1.2 Mosca-branca, *Bemisia tabaci* (Gennadius, 1989) (Hemiptera: Aleyrodidae)

A espécie *B. tabaci* pertence à família Aleyrodidae e à Ordem Hemiptera. Os adultos possuem coloração branca devido a pulverulência que recobre os dois pares de asas membranosas. O tamanho médio dos adultos varia de 1 a 2 mm de comprimento e a fêmea geralmente possui tamanho maior em relação ao tamanho dos machos. A espécie *B. tabaci* é sugadora e apresenta aparelho bucal do tipo sugador labial tetraqueta, e se alimenta na fase abaxial das folhas hospedeiras e de acordo com Vendramim et al. (2009), isso ocorre devido a cutícula mais fina e maior proximidade ao floema na face inferior das folhas, o que consequentemente diminui a dificuldade na perfuração.

Assim como a alimentação, a oviposição dos adultos também ocorre na face inferior das folhas. Os ovos possuem de 0,2 a 0,3 mm, apresentam formato piriforme e coloração amarelada que escurece anteriormente eclosão das ninfas (BYRNE; BELLOWS, 1991). A reprodução é sexuada, porém, pode ocorrer partenogênese arrenótoca, na qual são produzidos apenas indivíduos machos, ou ainda produção de fêmeas quando ocorre associação com o endossimbionte *Rickettsia* (SHI, et al., 2021). Esses insetos são hemimetábolos, o que significa que se desenvolvem em fase de adulto, ovo e ninfa. As ninfas apresentam quatro ínstaras, ou também conhecido como estádios, sendo que o único ínstar móvel é o primeiro, uma vez que nos demais o inseto não apresenta estruturas de locomoção (BYRNE; BELLOWS, 1991). O

tamanho das ninfas varia em média de 0,27 mm a 0,85 mm de comprimento e 0,18 mm a 0,60 mm de largura conforme ocorre a mudança de ínstaes. A coloração das ninfas é amarelo-esverdeada, e nos últimos estádios é possível observar os olhos de coloração vermelha (BYRNE; BELLOWS, 1991). Assim como os adultos, as ninfas também se alimentam da planta por meio da inserção do aparato bucal tipo picador-sugador na folha (GALLO et al, 2002).

Em relação ao ciclo de vida de *B. tabaci*, os adultos possuem longevidade que varia de 15 a 20 dias, e as fêmeas podem ovipositar em média 200 ovos durante a vida. A fase de ovo dura aproximadamente 7 dias, e o tempo em que o inseto permanece em estágio de ninfa é de 12 a 21 dias. Todos esses parâmetros variam de acordo com as condições climáticas do local onde a praga coloniza (BROWN, BIRD, 1992).

Como ressaltado anteriormente, a praga realiza a postura dos ovos na face abaxial das folhas de plantas hospedeiras, o que pode ocorrer em inúmeras espécies vegetais, desse modo, entende-se que a polifagia da espécie permitiu com que essa possuía importância para diversas culturas no mundo e seja responsável por grandes perdas ao produtor (BROWN et al., 2015; JIAO et al., 2012; LOURENÇÃO; SAKATE; VALLE, 2014; MANN, 2011; VALLE et al., 2011). Adicionalmente, além dos danos diretos causados pela alimentação do inseto que ocorre por meio da sucção de seiva da planta e consequentemente interfere no desenvolvimento vegetal (BROWN et al., 2015), ocorrem também danos indiretos como o favorecimento do desenvolvimento de fungos do gênero *Capnodium*, causadores da fumagina. Os adultos possuem uma adaptação no aparelho digestório chamada de “câmara-filtro”, e esse aparato é responsável pela eliminação do excesso de líquidos ingeridos pelo inseto, sendo esse excesso eliminado como *honeydew*, substância pegajosa e açucarada que favorece o desenvolvimento dos fungos causadores da fumagina, doença que recobre as folhas com uma película escura e impede a realização da fotossíntese, e consequentemente interfere em processos fisiológicos (GALLO et al, 2002; NAVAS-CASTILLO et al., 2011).

Apesar dos danos diretos, o principal problema associado a *B. tabaci* é a transmissão de vírus causadores de doenças severas para algumas culturas, como por exemplo, os begomovírus, fitopatógenos causadores de doenças importantes, que acabam algumas vezes limitando a produção no país. Esses vírus correspondem a 90% dos transmitidos por *B. tabaci* (FARIA et al, 2000; GILBERTSON et al., 2015) e

são compostos por mais de 300 espécies (INOUE-NAGATA; LIMA; GILBERTSON, 2016) entretanto, além dos begomovírus, existem mais de 100 tipos de outros vírus que podem ser transmitidos pela mosca-branca (BROWN et al., 2015).

Outro ponto agravante em relação a *B. tabaci* no mundo é a ocorrência de espécies crípticas, que são um complexo de espécies morfologicamente indistinguíveis, mas que podem ser diferenciadas por características biológicas e genéticas, envolvendo transmissão de vírus, polimorfismo genético, composição de endossimbiontes, preferência por hospedeiros, resistência a inseticidas e diferentes habilidades invasivas. Recentemente, utilizando-se análises moleculares do gene mtCOI (mitochondrial cytochrome oxidase subunit I), *B. tabaci* pode ser classificada em 44 espécies crípticas, das quais Middle East-Asia Minor 1 (MEAM1, também conhecida por biótipo B) e Mediterranean (MED, também conhecida por biótipo Q) são consideradas as espécies mais invasivas e de distribuição global, causadoras de grandes perdas na agricultura (ALEMANDRI et al., 2015; BARBOSA et al., 2014; KANAKALA; GHANIM, 2019; McKENZIE et al., 2012; MUÑIZ et al., 2011; YAO et al., 2017).

No território brasileiro há o relato de espécies nativas das Américas, New World 1 (NW1) e New World 2 (NW2), consideradas pouco invasivas (BARBOSA et al., 2014) e das espécies exóticas MEAM1 e MED, que possuem grande importância devido a característica invasiva e por serem distribuídas por todo o mundo e apresentarem controle complexo em relação as nativas (GAUTHIER et al., 2014). A espécie críptica MEAM 1 foi relatada na década de 90 e desde então causa grandes problemas em todo o país devido a transmissão de vírus (LOURENÇÃO; NAGAI, 1994) e até hoje é responsável por prejuízos a produtores devido aos danos na produção, já a MED tem relato mais recente, em 2014 (KRAUSE-SAKATE et al., 2020) Como citado anteriormente, o controle químico é a ferramenta majoritariamente empregada no controle de *B. tabaci*, porém, como o uso incorreto pode acarretar em consequências indesejadas, faz-se necessário o estudo e desenvolvimento de novas ferramentas que possam ser aliadas no controle desta praga.

Como aliado, o controle biológico é uma das ferramentas dentro do Manejo Integrado de Pragas (MIP), e o objetivo central desta tática é reduzir ao máximo a utilização desnecessária de produtos fitossanitários e oferecer maior segurança ao ambiente e ao homem (LENTEREN, 2012). Uma das formas da utilização do controle biológico é de forma aplicada, que é uma medida de controle a curto prazo, onde um

número grande de inimigos, que foram produzidos de forma massal em laboratório, é introduzido em um ambiente de forma inundativa, com a finalidade de diminuir a população da praga (BEGON; TOWNSEND; HARPER, 2007). A eficiência dos inimigos naturais é influenciada diretamente pelo modo com que são criados, por isso há a necessidade de estudos sobre parâmetros biológicos anteriormente a utilização dos agentes de controle biológico (PINTO et al., 2003).

1.3 Controle biológico como ferramenta no manejo de *Bemisia tabaci*: *Encarsia inaron*

Assim como todos os organismos no mundo, toda espécie de inseto possui ao menos um inimigo natural. Em relação mosca-branca, inúmeros são os organismos associados, como por exemplo diversas espécies de parasitoides. Esses organismos atuam sobre uma fase da vida de um hospedeiro, e em relação a mosca-branca os parasitoides costumam atuar sobre as ninfas, e realizam a postura dos ovos no interior destas, de forma que no lugar do adulto da praga é originado o adulto do parasitoide ou seja, essa ação resulta no controle da praga ainda na fase imatura (POLASZEK et al., 1992).

Como exemplo desses organismos, os parasitoides do gênero *Encarsia* (Hymenoptera: Aphelinidae) são inimigos naturais com grande potencial de utilização em programas de controle biológico de *B. tabaci*. O gênero foi descrito em 1878 por Förster e possui mais de 340 espécies, entre as quais a maioria é parasitoide de ninfas de mosca-branca (POLASZEK et al., 1992). O controle da praga ainda em fase ninfal é interessante tendo em vista que o adulto, maior causador de danos e responsável pela dispersão da praga, não se desenvolve e os efeitos podem ser minimizados (LACERDA; CARVALHO, 2008).

Além de *E. formosa*, anteriormente citada, a espécie *E. inaron* é um dos organismos associados a *B. tabaci* e ocorre naturalmente no meio ambiente e é frequentemente encontrada em vários habitats agrícolas na Ásia, África e Europa (LIU et al., 2015). No Brasil, o primeiro relato de *E. inaron* ocorreu em 2003 (OLIVEIRA et al., 2003), onde parasitoide foi associado a *B. tabaci* MEAM1, em plantas de fumo (*Nicotiana tabacum* L.), tomate (*Solanum lycopersicum* L.), algodão (*Gossypium* spp L.), soja (*Glycine max* L. Merr.), couve (*Brassica oleracea* L.), melão (*Cucumis melo* L.) e jiló (*Solanum aethiopicum* L.). Entretanto, como supracitado, apesar de existir o

relato da ocorrência no país, não há estudos do parasitoide quanto a determinação do uso como agente em programas de controle biológico aplicado.

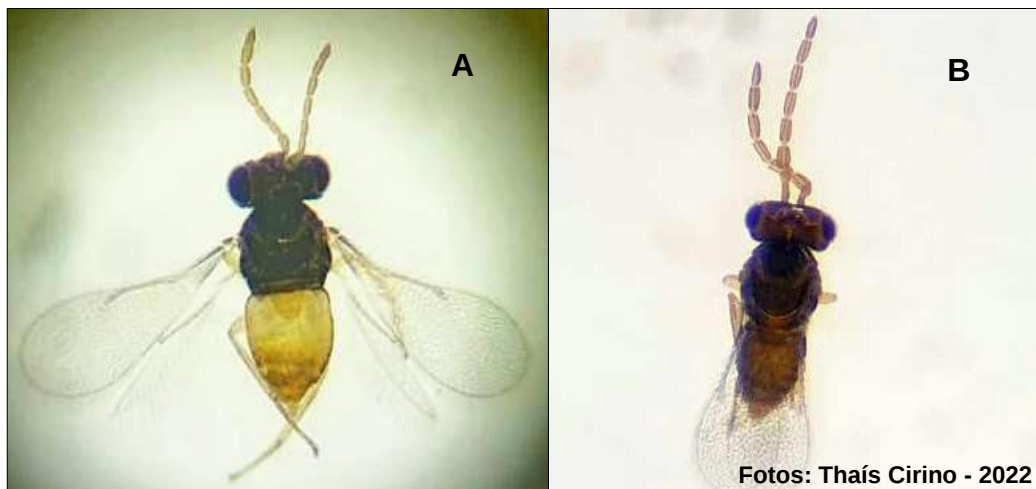
Como exemplo do potencial de *E. inaron*, em outros países o parasitoide foi introduzido para utilização em programa de controle biológico. Nos Estados Unidos, especificamente na Califórnia em 1989, o inimigo natural foi utilizado para o controle de *Siphoninus phillyreae* (Haliday) (Hemiptera: Aleyrodidae), praga que causava grandes danos na espécie vegetal freixo *Fraxinus uhdei* (Wenzig) (PICKETT et al., 1996). Essa praga, assim como *B. tabaci*, é polífaga e possui ampla distribuição geográfica. No Egito a praga também ocasiona danos em árvores de romã *Punica granatum* L., por isso *E. inaron* é liberada nos pomares de produção, o que resultou na redução significativa nas populações da praga.

O parasitoide também apresenta eficiência no controle de outras espécies como por exemplo *Neomaskellia andropogonis* (Corbett) (Hemiptera: Aleyrodidae). Essa praga ataca a cultura da cana-de-açúcar no Irã e é responsável por perda significativa na produtividade devido à alimentação, que por meio da excreção do *honeydew*, torna as folhas um local propício para o desenvolvimento de fungos que diminuem a área fotossintética da planta consequentemente reduzindo o rendimento da cana, e neste caso, *E. inaron* apresenta eficácia de 85% no controle de *N. andropogonis* (MALEKMOHAMMADI; SHISHEHBOR; KOCHIL, 2012).

A espécie *T. vaporariorum*, também possui distribuição mundial e ataca inúmeras espécies olerícolas e ornamentais, e *E. inaron* é utilizada na Europa, principalmente na Rússia, para o controle da praga em casas de vegetação. Além disso, adicionalmente a esses exemplos de utilização por meio da liberação, *E. inaron* é encontrado naturalmente em diversas culturas onde essas e outras moscas-branca ocorrem (BRADY; WHITE, 2012).

Em relação aos aspectos deste inimigo natural, a espécie *E. inaron* é uma microvespa, com aproximadamente 0,5 mm de comprimento, com coloração escura na região da cabeça. As asas possuem coloração clara e além da observação das genitálias, as fêmeas podem ser diferenciadas dos machos por apresentarem coloração amarelada no abdômen, enquanto os machos possuem coloração escura (Figura 1) (PICKETT et al, 1996).

Figura 1 – Fêmea (A) e macho (B) do parasitoide *Encarsia inaron*



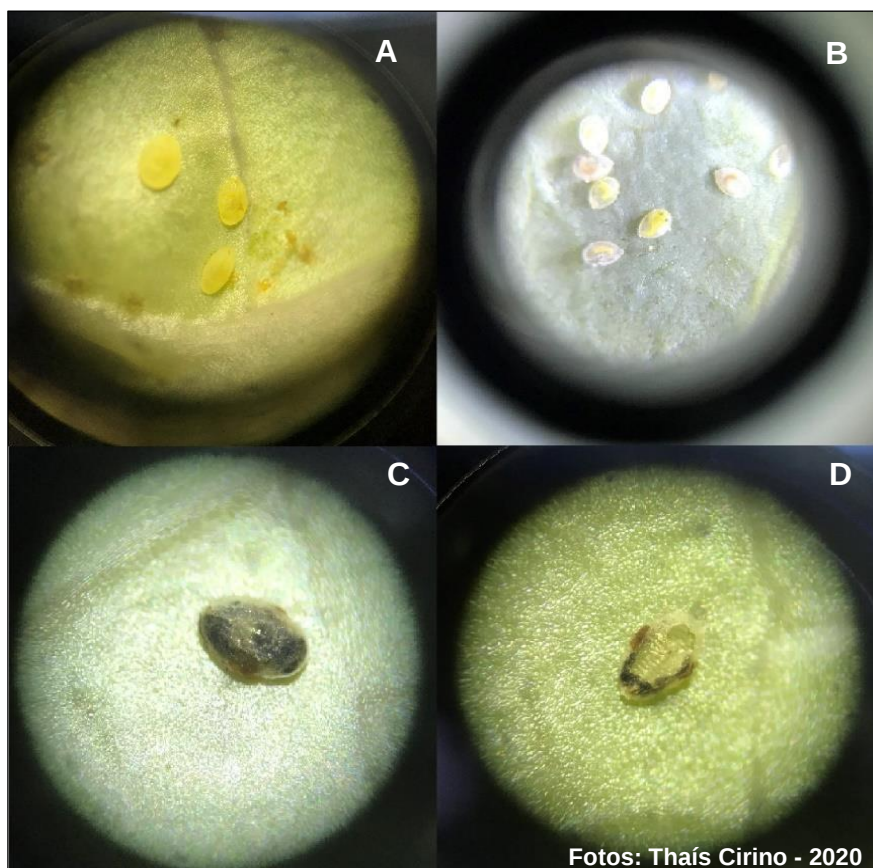
Em relação ao desenvolvimento, um caso extremo de diversidade de hábitos é encontrado na Família Aphelinidae. Os machos se desenvolvem como hiperparasitoides internos das larvas das fêmeas, o que é chamado de adelfoparasitismo ou autoparasitismo, e são classificados como hiperparasitoides, enquanto as fêmeas são classificadas como parasitoides primários e se desenvolvem diretamente no hospedeiro (GOULD et al., 1995; SHISHEHBOR, 2001). Entretanto, *E. inaron* é uma das exceções da família e tanto macho quanto fêmeas são parasitoides primários e se desenvolvem no hospedeiro, o que descomplica o uso da espécie em programas de controle biológico (VIGGIANI 1988; HERATY; POLASZEK; SCHAUFF, 2008).

Os adultos vivem cerca de 14 a 21 dias em temperatura média de 25°C, porém, a longevidade pode ser alterada de acordo com as condições climáticas e com o hospedeiro utilizado, por exemplo, Gould et al. (1995), constataram o aumento da longevidade de fêmeas e machos conforme a diminuição da temperatura, entretanto, os estudos foram realizados em *S. phillyrae*. O mesmo ocorreu com o desenvolvimento do parasitoide na espécie *N. andropogonis*, onde foi verificado aumento na longevidade de acordo com diminuições na temperatura (MALEKMOHAMMADI; SHISHEHBOR; KOCHIL, 2012), porém, não existem dados sobre o desenvolvimento de populações brasileiras do parasitoide em *B. tabaci*.

Alguns estudos com *E. inaron* abordam o desenvolvimento do parasitoide em *S. phillyrae*, no qual o parasitoide consegue se desenvolver e apresenta eficácia de parasitismo, o que explica o sucesso da importação para os EUA, como anteriormente citado. Sobre *S. phillyrae* as fêmeas de *E. inaron* possuem capacidade de oviposição

de aproximadamente 159 ovos durante todo o período de vida (GOULD; BELLOWS; PAINE, 1995), entretanto, em *N. andropogonis* o máximo de ovos colocados por fêmea é de 74 ovos (MALEKMOHAMMADI; SHISHEHBOR; KOCHEILI, 2012), e em ambos realizam a postura dos ovos nas ninfas para que a fase juvenil do parasitoide complete o desenvolvimento no interior do hospedeiro. Os jovens apresentam coloração transparente e formato de meia-lua (Figura 2B) e permanecem nessa fase cerca de 20 dias (25°C). A diferenciação de ninfas parasitadas é possível devido a coloração mais escura do que ninfas não parasitadas (Figura 2C), além disso, ninfas de onde emergiram parasitoides apresentam um orifício redondo como abertura de saída, enquanto quando não parasitadas, a saída do adulto possui forma de “T” (Figura 2D) (POLASZEK et al., 1992; PICKETT et al., 1996).

Figura 2 – Ninfas de *Bemisia tabaci* não parasitadas (A); forma jovem de *Encarsia inaron* no interior de ninfas de *Bemisia tabaci* (B); ninfa de *Bemisia tabaci* com coloração escura característica de parasitismo em fase avançada (C); ninfa de *Bemisia tabaci* com furo de saída causado pela emergência do adulto de *Encarsia inaron*



Em outros estudos foi avaliado a influência de temperaturas constantes no desenvolvimento, na reprodução e em parâmetros biológicos de *E. inaron* parasitando *N. andropogonis*, onde os autores concluíram que esse fator climático é essencial nesses aspectos do parasitoide (MALEKMOHAMMADI; SHISHEHBOR; KOICHEILI, 2012). Os autores avaliaram o desenvolvimento do parasitoide nas temperaturas 20, 25, 30 e 32°C, e observaram que o tempo ovo-adulto variou de 31,7 dias a 20°C a 15 dias a 30°C, e a longevidade de 22,3 a 20°C a 4,5 dias a 32°C.

Em relação a *E. inaron* parasitando *B. tabaci*, alguns autores estudaram como o parasitismo ocorre em diferentes estádios ninfais do hospedeiro, e concluíram que apesar do parasitismo ocorrer em todos, quando ocorre em ninfas de quarto instar, tanto parasitoide como hospedeiro acabam morrendo, pois o parasitoide se desenvolve no interior na ninfa, porém, não consegue emergir, desse modo, esses resultados são importantes para criação desses inimigos naturais de forma eficiente (BRADY; WHITE, 2012). Diferentemente do encontrado anteriormente, os demais estudos realizados com *E. inaron*, e citados nesse resumo não encontraram tal fenômeno.

Como citado, existem estudos sobre o parasitoide, porém, a maioria fora do Brasil, desse modo, deve-se levar em consideração a diferença que existe entre uma mesma espécie em regiões diferentes, por isso há a necessidade de estudo básicos (PINTO et al., 2003) para que *E. inaron* possa um dia ser utilizado em um programa de controle biológico no país. Para que *E. inaron* possa ser utilizado em programas de controle biológico no Brasil diversos estudos são necessários, desde a avaliação de características intrínsecas tanto do inimigo natural como do alvo, como a interação e dinâmica entre ambos e com fatores bióticos e abióticos (PARRA et al., 2002). Diante desses pontos, pode-se considerar que o caminho até a utilização de *E. inaron* como agente de controle biológico de *B. tabaci* possui alguns desafios, porém, é necessário e possui potencial diante dos exemplos de sucesso que o parasitoide possui em todo o mundo.

REFERÊNCIAS

ALEMANDRI, V.; *et al.* Three members of the *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) cryptic species complex occur sympatric ally in argentine horticultural crops. **Journal of Economic Entomology**, v. 108, p. 405-413, 2015. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26470151/>. Acesso em: 07 fev. 2022.

BABCOCK, C. S.; HERATY, J. M. Molecular Markers Distinguishing *Encarsia formosa* and *Encarsia luteola* (Hymenoptera: Aphelinidae). **Annals of the Entomological Society of America**, Lanham, v. 93, n. 4, p. 738-744, 2000. Disponível em: <https://academic.oup.com/aesa/article/93/4/738/22633>. Acesso em: 17 out. 2021.

BARBOSA, L. F.; *et al.* Indigenous American species of the *Bemisia tabaci* complex are still widespread in the Americas. **Pest Management Science**, v. 70, n. 10, p. 1440-1445, 2014. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24458534/>. Acesso em: 05 fev. 2022.

BARRO, P. J.; *et al.* *Bemisia tabaci*: a statement of species status. **Annual review of entomology**, Palo Alto, v. 56, p. 1-19, 2011. Disponível em: <https://www.annualreviews.org/doi/abs/10.1146/annurev-ento-112408-085504>. Acesso em: 17 out. 2021.

BEGON, M.; TOWNSEND, C. R.; HARPER, J. L. **Ecologia de indivíduos a ecossistemas**. 4. ed. Porto Alegre: Artmed, 2007.

BOYKIN, L.M.; *et al.* Is agriculture driving the diversification of the *Bemisia tabaci* species complex (Hemiptera: Sternorrhyncha: Aleyrodidae)? Dating, diversification and biogeographic evidence revealed. **Evolutionary biology**, London, v. 13, p. 228–238, 2013. Disponível em: <https://bmcecolevol.biomedcentral.com/articles/10.1186/1471-2148-13-228>. Acesso em: 17 out. 2021.

BRADY, C. M.; WHITE, J. A. Everyone's a Loser: parasitism of late instar whiteflies by *Encarsia inaron* has negative consequences for both parasitoid and host. **Annals of the Entomological Society of America**, Lanham, v. 105, n. 6, p. 840-845, 2012. Disponível em: <https://academic.oup.com/aesa/article/105/6/840/77850>. Acesso em: 16 nov. 2021.

BROWN, J. K.; *et al.* Revision of *Begomovirus* taxonomy based on pairwise sequence comparisons. **Archives of Virology**, Viena v. 160, n. 6, p. 1593-1619, 2015. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25894478/>. Acesso em: 17 out. 2021.

BROWN, J. K.; BIRD, J. Whitefly-transmitted geminiviruses and associated disorders in the Americas and the Caribbean Basin. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 76, n. 3, p. 220-225, 1992. Disponível em: <https://www.cabdirect.org/cabdirect/abstract/19922317714>. Acesso em: 17 out. 2021.

BYRNE, D.N.; BELLOWS, T.S. Whitefly biology. **Annual Review of Entomology**, Palo Alto, v.36, p.431-457, 1991. Disponível em: <https://www.annualreviews.org/doi/abs/10.1146/annurev.en.36.010191.002243>. Acesso em: 17 out. 2021.

FARIA, J.C.; *et al.* Situação atual das geminiviroses no Brasil. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, n. 25, p. 125-137, 2000. Disponível em: <https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/208019/situacao-atual-das-geminiviroses-no-brasil>. Acesso em 17 out. 2021.

GALLO, D.; *et al.* Os insetos e o reino animal. In: _____. (Org.). **Entomologia Agrícola**. Piracicaba: FEALQ, 2002, p. 11-106.

GAUTHIER, N.; *et al.* Genetic structure of *Bemisia tabaci* Med populations from home-range countries, inferred by nuclear and cytoplasmic markers: impact on the distribution of the insecticide resistance genes. **Pest Management Science**, West Sussex, v. 70, p. 1477–1491, 2014. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24458589/>. Acesso em: 17 out. 2021.

GILBERTSON, R. L.; *et al.* Role of the insect supervectors *Bemisia tabaci* and *Frankliniella occidentalis* in the emergence and global spread of plant viruses. **Annual Review Virology**, Palo Alto, v. 2, p. 67-93, 2015. Disponível em: <https://www.annualreviews.org/doi/abs/10.1146/annurev-virology-031413-085410>. Acesso em: 17 out. 2021.

GOULD, J.R., BELLOWS, T.S., PAINE, T.R. Preimaginal development, adult longevity and fecundity of *Encarsia inaron* (Hym: Aphelinidae) parasitizing *Siphoninus phillyreae* (Hom.: Aleyrodidae) in California. **Entomophaga**, Paris, v. 40, p. 55-68, 1995. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/BF02372681>. Acesso em: 17 out. 2021.

GRILLE, G.; *et al.* Parasitoid niches of *Encarsia formosa* and *Encarsia lycopersici* (Hymenoptera: Aphelinidae) exploiting *Trialeurodes vaporariorum* (Hemiptera: Aleyrodidae). **Florida Entomologist**, Gainesville, v. 95, p. 1024–1030, 2012. Disponível em: <https://bioone.org/journals/florida-entomologist/volume-95/issue-4/024.095.0431/Parasitoid-Niches-of-Encarsia-formosa-and-Encarsia-Lycopersici-Hymenoptera/10.1653/024.095.0431.full>. Acesso em: 17 out. 2021.

HERATY, J. M.; POLASZEK, A.; SCHAUFF, M. E. Systematics and Biology of *Encarsia*. In: GOULD, J.; HOELMER, K.; GOOLSBY, J. (Eds.). **Classical Biological Control of *Bemisia tabaci* in the United States**. Netherlands: Springer, 2008. p. 71-87.

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**, Brasília, v. 34, n. 1, p. 8-18, 2016. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/hb/a/gRKSc8zFFNkb3wZWKpb3bwz/?lang=en&format=html>. Acesso em: 17 out. 2021.

JABER, L.R.; ARAJ, S.E.; QASEM, J.R Compatibility of endophytic fungal entomopathogens with plant extracts for the management of sweetpotato whitefly *Bemisia tabaci* Gennadius (Homoptera: Aleyrodidae). **Biological Control**, San Diego, v. 117, p. 164-171, 2018. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1049964417302451>. Acesso em: 17 out. 2021.

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**, Berlin, v. 85, n. 4, p. 423-430, 2012. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s10340-012-0441-2>. Acesso em: 17 out. 2021.

KANAKALA, S.; GHANIM, M. Global genetic diversity and geographical distribution of *Bemisia tabaci* and its bacterial endosymbionts. **PLoS ONE**, 14, e0213946, 2019. Disponível em: <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0213946>. Acesso em: 05 fev. 2022.

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, p. 19-40, 2015.

LACERDA, J.T.; CARVALHO, R. A. Descrição e manejo integrado da mosca-branca (*Bemisia* spp.) transmissora de geminivirus em culturas econômicas. **Tecnologia & Ciência Agropecuária**, João Pessoa, v. 2, p. 15-22, 2008. Disponível em: https://revistatca.pb.gov.br/edicoes/volume-02-2008/volume-2-numero-2-junho-2008/tca04_mosca.pdf. Acesso em: 17 out. 2021.

LEE, W.; *et al.* Taxonomic status of the *Bemisia tabaci* complex (Hemiptera: Aleyrodidae) and reassessment of the number of its constituent species. **PLoS One**, San Francisco v. 8, n. 5, p. e63817, 2013. Disponível em: <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0063817>. Acesso em: 17 out. 2021.

LENTEREN, J. C. The state of commercial augmentative biological control: plenty of natural enemies, but a frustrating lack of uptake. **BioControl**, Dordrecht, v. 57, p. 1-20, 2012. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s10526-011-9395-1>. Acesso em: 17 out. 2021.

LENTEREN, J.C. Biological control in protected crops: where do we go? **Pesticide Science**, Wageningen, v. 36, p. 321-327, 1992. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/ps.2780360403>. Acesso em: 17 out. 2021.

LIU, T. X.; STANSLY, P. A.; GERLING, D. Whitefly parasitoids: distribution, life history, bionomics, and utilization. **Annual Review of Entomology**, Palo Alto v. 60, p. 273–292, 2015. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25341095/>. Acesso em: 17 out. 2021.

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.

LOURENÇÃO, A. L.; NAGAI, H. Outbreaks of *Bemisia tabaci* in the São Paulo State, Brazil. **Bragantia**, Campinas, v. 53, p. 53–59, 1994. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/brag/a/zYLKq8vS8nmKyLcwDQZWxSP/?lang=pt>. Acesso em: 17 out. 2021.

MALEKMOHAMMADI, A.; SHISHEHBOR, P.; KOCHIELI, F. Influence of constant temperatures on development, reproduction and life table parameters of *Encarsia inaron* (Hymenoptera: Aphelinidae) parasitizing *Neomaskellia andropogonis* (Hemiptera: Aleyrodidae). **Crop Protection**, v. 34, p. 1-5, 2012. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0261219411003978>. Acesso em: 17 out. 2021.

MANN, R. S. *Bemisia tabaci* Interaction with Cotton Leaf Curl Virus. In: WINSTON, M.O. (Ed). **The Whitefly, Bemisia tabaci (Homoptera: Aleyrodidae) Interaction with Geminivirus-Infected Host Plants**. Springer Netherlands, 2011. p. 69-88.

McKENZIE, C. L.; *et al.* Distribution of *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) biotypes in North America after the Q invasion. **Journal of Economic Entomology**, v. 105, n. 3, p. 753–766, 2012. Disponível em: <https://academic.oup.com/jee/article/105/3/753/912330?login=false>. Acesso em: 07 fev. 2022.

MUÑIZ, Y.; *et al.* Extensive settlement of the invasive MEAM1 population of *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) in the Caribbean and rare detection of indigenous populations. **Environmental Entomology**, v. 40, n. 5, p. 989–998, 2011. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22251711/>. Acesso em 04 fev. 2022.

NAVAS-CASTILLO, J.; FIALLO-OLIVÉ, E.; SÁNCHEZ-CAMPOS, S. Emerging virus diseases transmitted by whiteflies. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v. 49, p. 219–248, 2011. Disponível em: [https://www.annualreviews.org/doi/10.1146/annurev-phyto-072910-095235#:~:text=The%20genus%20Ipomovirus%20includes%20viruses,mild%20mottle%20virus%20\(SPMMV\)](https://www.annualreviews.org/doi/10.1146/annurev-phyto-072910-095235#:~:text=The%20genus%20Ipomovirus%20includes%20viruses,mild%20mottle%20virus%20(SPMMV)). Acesso em: 17 out. 2021.

PICKETT, C. H.; *et al.* Establishment of the ash whitefly parasitoid *Encarsia inaron* (Walker) and its economic benefit to ornamental street trees in California. **Biological Control**. San Diego, v. 6, p. 260-272, 1996. Disponível em: [https://www.semanticscholar.org/paper/Establishment-of-the-Ash-Whitefly-inaron\(Walker\)-to-Pickett-Ball/f6d17b2af3679f99b3303882324f869c79b45e](https://www.semanticscholar.org/paper/Establishment-of-the-Ash-Whitefly-inaron(Walker)-to-Pickett-Ball/f6d17b2af3679f99b3303882324f869c79b45e). Acesso em: 17 out. 2021.

PINTO, A. DE S.; *et al.* Comparação de técnicas de liberação de *Trichogramma galloi* Zucchi (Hymenoptera: Trichogrammatidae) para o controle de *Diatraea saccharalis* (Fabricius) (Lepidoptera: Crambidae). **Neotropical entomology**, Vacaria, v. 32, n. 2a, p. 311–318, jun. 2003. Disponível em:

<https://www.scielo.br/j/ne/a/YPwnsMb6Kqbk7gxmYPnWkQH/abstract/?lang=pt>. Acesso em: 17 out. 2021.

POLASZEK, A.; EVANS, G. A.; BENNET, F.D. *Encarsia* parasitoids of *Bemisia tabaci* (Hymenoptera: Aphelinidae, Homoptera: Aleyrodidae) a preliminary guide to identification. **Bulletin of Entomological Research**, New York, v.82, p.375- 392, 1992. Disponível em: <https://www.cabi.org/ISC/abstract/19931165978>. Acesso em: 17 out. 2021.

QU, C.; *et al.* Lethal and sublethal effects of dinotefuran on two invasive whiteflies, *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae). **Journal of Asia-Pacific Entomology**, v. 2, p. 325–330, 2017. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S122686151630543X>. Acesso em: 17 out. 2021.

SHI, P. Q.; *et al.* *Rickettsia* increases its infection and spread in whitefly populations by manipulating the defense patterns of the host plant. **FEMS Microbiology Ecology**, Amsterdam, n. 97. p. 1-11, 2021. Disponível em: <https://academic.oup.com/femsec/article-abstract/97/4/fiab032/6145017?redirectedFrom=fulltext>. Acesso em: 17 out. 2021.

SHISHEHBOR, P. Temperature influence on the life cycle and sex ratio of cotton whitefly's parasitoid. **The scientific journal of agriculture**, Ahvaz, v. 23, p. 91-102, 2001. Disponível em: https://plantprotection.scu.ac.ir/article_12779.html?lang=en. Acesso em: 17 out. 2021.

STEFANELLO JÚNIOR, G. J.; *et al.* Persistência de agrotóxicos utilizados na cultura do milho ao parasitoide *Trichogramma pretiosum* Riley, 1879 (Hymenoptera: Trichogrammatidae). **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 42, n. 1, 2012. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/cr/a/prwnNydp6wKGr9ZMxywWkyF/abstract/?lang=pt>. Acesso em: 17 out. 2021.

TAKAHASHI, K. M.; BERTI FILHO, E.; LOURENCAO, A. L. Biology of *Bemisia tabaci* (Genn.) B-biotype and parasitism by *Encarsia formosa* (Gahan) on collard, soybean and tomato plants. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 65, n. 6, p. 639-642, Dez. 2008. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/sa/a/bXS9FhstpXXKVQzhMmh5qQM/?lang=en>. Acesso em: 17 out. 2021.

VALLE, G. E.; *et al.* Estrutura genética populacional de *Bemisia tabaci* (Gennadius) (Hemiptera: Aleyrodidae) utilizando marcadores microssatélites. **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 40, n. 2, p. 204-211, 2011. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/ne/a/XnFjSDZPtTPvjtPddchGs8m/?lang=pt>. Acesso em: 17 out. 2021.

VENDRAMIM, J. D.; SOUZA, A. P.; ONGARELLI, M. G. Comportamento de oviposição da mosca-branca *Bemisia tabaci* (Genn.) (Hemiptera: Aleyrodidae) biótipo B em tomateiro. **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 31, p. 126-132, 2009. Disponível em:

<https://www.scielo.br/j/ne/a/H7g5CrDnsjDxCsbnWYQNVcs/abstract/?lang=pt>. Acesso em: 17 out. 2021.

VIGGIANI, G. The Italian species of the genus *Encarsia* Foerster (Hymenoptera: Aphelinidae). **Bollettino del Laboratorio di Entomologia Agraria 'Filippo Silvestri' di Portici**, v. 44, p. 121–179, 1988. Disponível em: <https://www.cabdirect.org/cabdirect/abstract/19901142794>. Acesso em: 17 out. 2021.

VYSKICILOVA, S.; *et al.* An integrative approach to discovering cryptic species within the *Bemisia tabaci* whitefly species complex. **Scientific Reports**, London, v. 8, p. 1-13, 2018. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/s41598-018-29305-w>. Acesso em: 17 out. 2021.

XU, J.; 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**, London, v. 100, p. 359–366, 2010. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20178675/>. Acesso em: 17 out. 2021.

ŽANIC, K.; *et al.* *Bemisia tabaci* MED Population Density as Affected by Rootstock-Modified Leaf Anatomy and Amino Acid Profiles in Hydroponically Grown Tomato. **Frontiers in Plant Science**, Lausana, v.9, n.86, p.86, 2018. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29459878/>. Acesso em: 17 out. 2021.

YAO, F. L.; *et al.* Dynamics of *Bemisia tabaci* biotypes and insecticide resistance in Fujian province in China during 2005–2014. **Scientific Reports**, v. 7, 40803, 2017. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/srep40803>. Acesso em: 05 fev. 2022.

CAPÍTULO 2

Caracterización molecular de *Encarsia inaron* (Walker, 1839) asociada naturalmente con *Bemisia tabaci* (Gennadius, 1889) en Brasil

Molecular characterization of Encarsia inaron (Walker, 1839) naturally associated with *Bemisia tabaci* (Gennadius, 1889) in Brazil

Thaís Carolina Silva Cirino*, Daniel de Lima Alvarez, Valmir Antonio Costa, Cristiane Müller, Luís Fernando Watanabe Maranhão, Bruno Rossitto De Marchi, Vinicius Henrique Bello, Renate Krause Sakate, Regiane Cristina de Oliveira

RESUMEN

Este es el primer registro de *Encarsia inaron* (Walker, 1839) (Hymenoptera: Aphelinidae) parasitando *Bemisia tabaci* (Gennadius, 1889) (Hemiptera: Aleyrodidae) en soja en Brasil. Se proporcionan caracterizaciones morfológicas y moleculares, además de la verificación de la presencia de *E. inaron* en áreas infestadas por mosca blanca, lo que indica que la avispa puede potencialmente ser utilizada en programas de manejo integrado. Además de la verificación morfológica, el análisis molecular permitió identificar algún grado de variabilidad genética en el genoma del parasitoide.

Palabras clave: control biológico; enemigo natural; parasitoide; moscas blancas; manejo integrado de plagas.

ABSTRACT

This is the first record of *Encarsia inaron* (Walker, 1839) (Hymenoptera: Aphelinidae) parasitizing *Bemisia tabaci* (Gennadius, 1889) (Hemiptera: Aleyrodidae) on soybeans in Brazil. Morphological and molecular characterizations are provided, in addition to verification of the presence of *E. inaron* in areas infested by whiteflies, indicating that

¹ Capítulo redigido de acordo com as normas do periódico IDESIA

the wasp can potentially be used in integrated management programs. In addition to morphological verification, molecular analysis allowed the identification of some degree of genetic variability in the genome of the parasitoid.

Keywords: biological control; natural enemy; parasitoid; whiteflies; integrated pest management.

2.1 INTRODUCTION

Problems with *Bemisia tabaci* (Gennadius 1889) (Hemiptera: Aleyrodidae), one of the main threats to agriculture worldwide, began increasing two decades ago. This sap-sucking insect is able to feed on more than 600 host plants (Polston *et al.*, 2014) and is characterized as a supervector involved in the transmission of more than 300 species of virus (Gilbertson *et al.*, 2015). The specie *Bemisia tabaci* was initially classified into two biotypes; however, it is now considered to be a complex of cryptic species that differ genetically, ecologically, and biologically but are morphologically identical (De Barro *et al.*, 2011, Kanakala and Ghanim, 2015, Geng and Li, 2017).

Consensus among the scientific community does not exist in the identification of *B. tabaci* due to the lack of distinguishing characters among these cryptic species. However, molecular analyses so far have revealed 43 cryptic species based on the rule concerning 3.5% divergence in the mitochondrial cytochrome oxidase I (mtCOI) gene (Boykin and De Barro, 2014). Among these cryptic species, those species that cause worldwide concern are the Middle East-Asia Minor 1 (MEAM1, also known as “biotype B”) and Mediterranean (MED, known as “biotype Q”). These whiteflies are very invasive and widely disseminated, especially by international trade of plant material (Dalton, 2006). The ease of adaptation of these species of *B. tabaci* to various environmental conditions is key to their success in becoming established in several regions of the world (Hadjistylli *et al.*, 2016).

The first report of *B. tabaci* in Brazil dates from 1928 in Bahia. Up to the late 1980s, sporadic outbreaks of *Bean golden mosaic virus* (BGMV) were reported in beans, but these outbreaks were not concerning as the vector belonged to the native whitefly species of the New World group (biotype A), which presents low efficiency as a vector and as a colonizer of cultivated plants (Inoue-Nagata *et al.*, 2016). However, issues with whitefly occurrence began to intensify in the early 1990s, when biotype B was recorded in São Paulo. After the introduction of biotype B, begomovirus outbreaks became increasingly frequent, especially in tomato crops, from which 14 new species of virus were identified (Inoue-Nagata *et al.*, 2016).

In Brazil, MEAM1 is the species associated with high infestation rates and significant losses in agricultural regions. Control of this whitefly is difficult and costly, and the species is also an efficient virus vector. MED was recently found in Brazil in the state of Rio Grande de Sul (Barbosa *et al.*, 2015) and subsequently found in São Paulo and Paraná (Moraes *et al.*, 2017). MED seems to present some specificity for colonizing bell pepper crops and is less susceptible to neonicotinoid and pyriproxyfen insecticides compared to MEAM1. In Israel, in the absence of insecticides, MEAM1 tends to outcompete MED in cotton, but with the continuous use of insecticides, MED is favored and replaces MEAM1 in the fields (Horowitz and Ishaaya, 2014). This response suggests that MED might become a serious pest in Brazil, since applications of chemical control are continuous in several crops. To suppress whiteflies, integrated pest management (IPM) practices are essential to control economic losses.

One of the IPM approaches that helps keep pest populations below economic damage level is biological control, which consists of the regulation of living organisms through mortality caused by natural enemies. Biological control is an important strategy for the management of *B. tabaci*, and parasitoids of the genus *Encarsia* (Förster 1878)

(Hymenoptera: Aphelinidae) are notable because species such as *Encarsia formosa* (Gahan 1924) and *Encarsia inaron* (Walker) are considered natural parasitoids of whiteflies (Liu *et al.*, 2015). Most *Encarsia* are autoparasitoids; that is, females develop from eggs laid in a primary host, but males develop as parasitoids of conspecific females or other endoparasitoids (Hunter and Woolley, 2001). However, both females and males of *E. inaron* (Walker) are primary parasitoids of whitefly nymphs (Hunter and Woolley 2001).

The specie *Encarsia inaron* may reach up to 85% parasitism in populations of *Neomaskellia andropogonis* (Corbett) (Hemiptera: Aleyrodidae). They are the most active parasitoids between September and November, which indicates some adaptation to higher temperatures. *Encarsia inaron* was introduced in California in 1989 to control *Siphoninus phillyreae* (Haliday 1835) on *Fraxinus uhdei* (Wenzig.) Lingelsh., 1907. *Encarsia inaron* was recorded in Brazil from Brasilia, associated with *Nicotiana tabacum* L., 1763; *Gossypium hirsutum* L., 1763; *Lycopersicon esculentum* Mill., 1768; *Brassica oleracea* L., 1753; *Glycine max* (L.) Merr., 1917; *Phaseolus vulgaris* L., 1753; *Cucumis melo* L., 1753; *Solanum gilo* Raddi., 1820; *Emilia sonchifolia* (L). DC., 1834; in Lavras (Minas Gerais), on *Brassica oleracea* L.; and in Campinas (São Paulo state), on *Gossypium hirsutum* L., attacking *B. tabaci* MEAM1 and *Trialeurodes vaporariorum* (Westwood 1856) (Lourenção *et al.*, 2014, Torres *et al.*, 2014). However, the identification, molecular characterization, genetic variability, importance, and efficiency in control of *B. tabaci* have not yet been studied. Thus, the objective of this work was to conduct the identification and molecular characterization of the parasitoid attacking *B. tabaci* nymphs in soybean crops in open fields in the state of São Paulo.

2.2 MATERIALS AND METHODS

Samples of *B. tabaci* were obtained from soybean (*Glycine max* (L.)) crops in the municipality of Casa Branca, São Paulo, Brazil (21°44'16.7"S; 47°09'40.1"W) in November 2016 and May 2017. The parasitoids were reared and kept in isolated cages with collard green (*Brassica oleracea* L.) plants infested with *B. tabaci*.

The samples were identified based on morphological and molecular analyses. Morphological identification followed Myartseva and Evans (2008). The 102 examined specimens (84 females and 18 males) were identified as *E. inaron*. The parasitoid vouchers were deposited at the “Oscar Monte” Entomophagous Insects collection at the Instituto Biológico in Campinas, SP, Brazil, under reference number IB-CBE-685.

The molecular analyses were conducted on DNA extracts from 10 samples (one insect/tube) obtained using Chelex 100 (Walsh, Metzger & Higuchi, 1991). PCR reactions were conducted using primers for 28S-D2 rDNA, as described by Campbell *et al.* (2000). The primers amplified part of the *Encarsia* genome, and sequencing allowed the comparison with other sequences in the database.

Three amplified samples were selected for sequencing. The PCR product was purified, and the resulting sequences were compared with data in the NCBI database using Blast-N (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>). These comparisons led to matches with *E. inaron*. The nucleotide sequences were aligned to a data set composed by another 51 sequences of *Encarsia* samples available from GenBank, using MAFFT v7.222 (Kato *et al.*, 2002) through Geneious v9.1.3 (Kearse *et al.*, 2012).

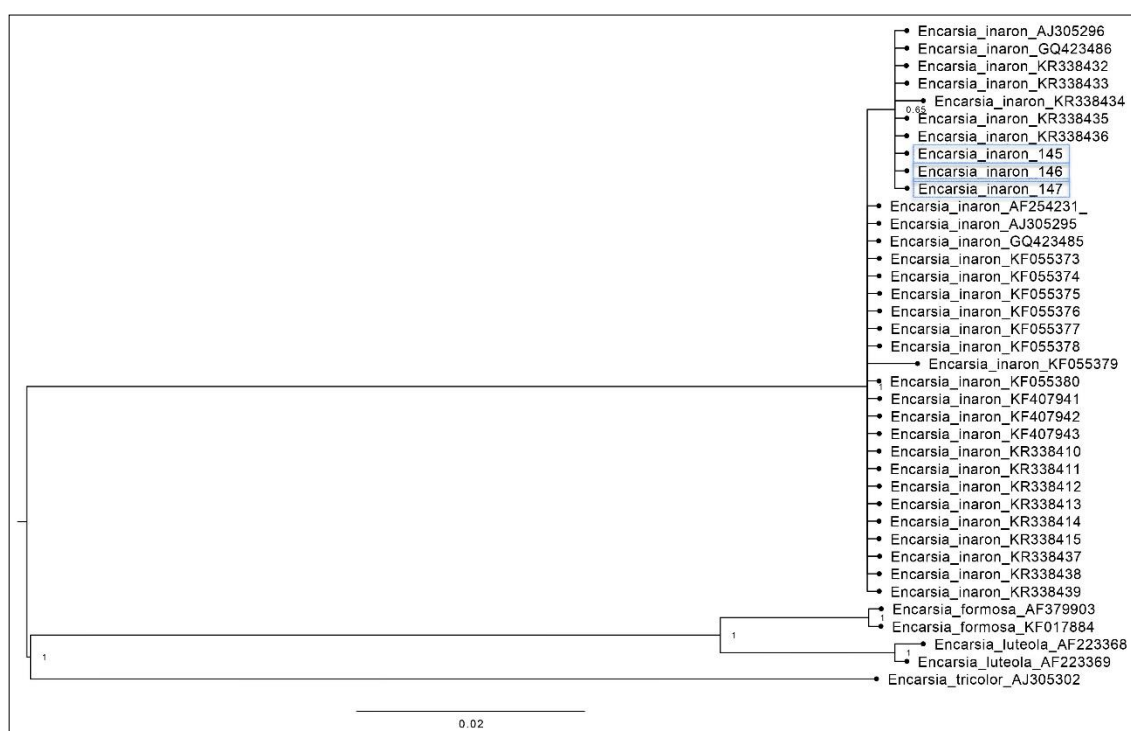
2.3 RESULTS AND DISCUSSION

The taxonomically diagnostic morphological features observed were tarsal formula 5-5-5; fore wings uniformly setaceous, antennal club two-segmented; head

and mesosoma dark; gaster yellow; scutellar placoid sensilla approximately five times their diameter apart; mesofemur yellow, mesotibial spur 0.57× length of basitarsus, ovipositor short, shorter than or as long as mesotibia; linear sensilla present in F1 through F6 (Myartseva and Evans, 2008).

The final molecular alignment consisted of 54 sequences with 481 bp. This data set was analyzed using Bayesian phylogenetics (Figure 1) in MrBayes 3.2.2 (Huelsenbeck *et al.*, 2011).

Figure 1 - Phylogenetic tree of the partial region of the 28S-D2 gene of *Encarsia inaron* collected in Brazil (highlighted) plus the references of samples of the genus *Encarsia* available from GenBank



The obtained data showed that the primers and amplified sequences allowed efficient detection of *E. inaron*. Phylogenetic analysis of 28S-D2 region fragments of *E. inaron* indicated low variability in that region of the genome.

The confirmed identification of *E. inaron* attacking different cryptic species of *B. tabaci* demonstrates the potential of this parasitoid for the management of whitefly

populations. The use of *E. inaron* for control of *B. tabaci* might initially be implemented through conservation methods such as the use of selective pesticides and indicates opportunities for biology and field efficiency experiments for prospective mass production and field release of the parasitoid.

The occurrence of the parasitoid in commercial soybean plantation areas indicates the species tolerance to varying environmental conditions, which reinforces the argument for the potential of this species as a biocontrol agent.

Although parasitism rates in Brazil have not been studied, the occurrence of *E. inaron* in populations of *B. tabaci* established in various plant hosts indicates the parasitoid can potentially be effective in various agricultural regions, especially in those where *B. tabaci* occurs as a primary pest in succession planting, e.g., cotton followed by beans, soybeans followed by beans or tomatoes, and so on.

Importantly, *B. tabaci* MEAM1 has caused damage to agriculture in Brazil since its introduction in the 1990s, but with the appearance of MED (Moraes *et al.*, 2017), the problems are likely to increase, as MED is less susceptible to pesticides used for whitefly control (Wang *et al.*, 2018), which might lead to it predominating over MEAM1 in the field (Horowitz and Ishaaya, 2014). In addition to the competition between these two cryptic species, virus transmission is also a concern. MED is more efficient as a virus vector compared to MEAM1 and species of the New World 2 group (De Marchi *et al.*, 2017). The importance of MED as a vector may increase with the emergence of new virus strains.

In conclusion, the use of natural enemies like *E. inaron* for biocontrol is increasingly important due to the impact of MEAM1 on economically important crops and the lower susceptibility of MED to insecticides. Thus, providing efficient control methods to farmers is essential. The information provided in this work will serve as a

foundation for future research on this parasitoid, which needs to be evaluated for its potential application in the management of *B. tabaci* MEAM1 and MED in Brazil.

ACKNOWLEDGEMENTS

This study was financed in part by the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Finance Code 001. We are grateful for contribution from Unesp, Corteva AgriScience and all the authors that contributed actively and intellectually to this work. This research did not receive any specific grant from funding agencies.

REFERENCES

- Barbosa, L. F.; Yuki, V. A.; Marubayashi, J. M.; De Marchi, B. R.; Perini, F. L.; Pavan, M. A.; de Barros, D. R.; Ghanim, M.; Moriones, E.; Navas-Castillo, J.; Krause-Sakate, R. 2015. First report of *Bemisia tabaci* Mediterranean (Q biotype) species in Brazil. *Pest management science*, 71: 501-504.
- Boykin, L. M.; De Barro, P. J. 2014. *A practical guide to identifying members of the Bemisia tabaci species complex: and other morphologically identical species*. Frontiers in Ecology and Evolution. 45p.
- Campbell, B.; Heraty, J.; Rasplus, J. Y.; Chan, K.; Steffen-Campbell, J.; Babcock, C. 2000. Molecular systematics of the Chalcidoidea using 28S-D2 rDNA. *CSIRO Publishing*, 59-73.
- Dalton, R. 2006. Whitefly infestations: The Christmas Invasion. *Nature*, 443: 898-900.
- De Barro, P. J.; Liu, S. S.; Boykin, L. M.; Dinsdale, A. B. 2011. *Bemisia tabaci*: a statement of species status. *Annual review of entomology*, 56: 1-19.
- De Marchi, B. R.; Marubayashi, J. M.; Favara, G. M.; Yuki, V. A.; Watanabe, L. F. M.; Barbosa, L. F.; Pavan, M. A.; Krause-Sakate, R. 2017. Comparative transmission of five viruses by *Bemisia tabaci* NW2 and MEAM1. *Tropical Plant Pathology*, 42: 495-499.
- De Oliveira, M. R. V.; Amancio, E.; Laumann, R. A.; Gomes, L. O. 2003. Natural enemies of *Bemisia tabaci* (Gennadius) B biotype and *Trialeurodes vaporariorum* (Westwood) (Hemiptera: Aleyrodidae) in Brasília, Brazil. *Neotropical Entomology*, 32: 151-154.
- Geng, H.; Li, C. 2017. Three new species of the *Encarsia inaron* (Hymenoptera: Aphelinidae) species group from China with a key to Chinese species. *Zootaxa*, 4306: 208-222.

Gilbertson, R. L.; Batuman, O.; Webster, C. G.; Adkins, S. 2015. Role of the insect supervectors *Bemisia tabaci* and *Frankliniella occidentalis* in the emergence and global spread of plant viruses. *Annual review of virology*, 2: 67-93.

Hadjistylli, M.; Roderick, K.; Brown, J. K. 2016. Global population structure of a worldwide pest and virus vector: Genetic diversity and population history of the *Bemisia tabaci* sibling species group. *PloS one*, 11, e0165105.

Horowitz, A. R.; Ishaaya, I. 2014. Dynamics of biotypes B and Q of the whitefly *Bemisia tabaci* and its impact on insecticide resistance. *Pest management science*, 70: 1568-1572.

Huelsenbeck, J.P.; Andolfatto, P.; Huelsenbeck, E. T. 2011. Structurama: Bayesian inference of population structure. *Evolutionary Bioinformatics*, 7: 55-59.

Hunter, M. S.; Woolley, J. B. 2001. Evolution and behavioral ecology of heteronomous aphelinid parasitoids. *Annual review of entomology*, 46: 251-290.

Inoue-Nagata, A. K.; Lima, M. F.; Gilbertson, R. L. 2016. A review of geminivirus diseases in vegetables and other crops in Brazil: current status and approaches for management. *Horticultura Brasileira*, 34: 8-18.

Kanakala, S.; Ghanim, M. 2015. 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 19-40.

Katoh, K.; Misawa, K.; Kuma, K.; Miyata, T. 2002. MAFFT: a novel method for rapid multiple sequence alignment based on fast Fourier transform. *Nucleic acids research*, 30: 3059-3066.

Kearse, M.; Moir, R.; Wilson, A.; Stones-Havas, S.; Cheung, M.; Sturrock, S.; Buxton, S.; Cooper, A.; Markowitz, S.; Duran, C.; Thierer, T.; Ashton, B.; Meintjes, P.; Drummond, A. 2012. Geneious Basic: an integrated and extendable desktop software platform for the organization and analysis of sequence data. *Bioinformatics*, 28: 1647-

1649.

Liu, T.; Stansly, P. A.; Gerling, D. 2015. Whitefly parasitoids: distribution, life history, bionomics, and utilization. *Annual Review of Entomology*, 60: 273-292.

Lourenção, A. L.; Costa, V. A.; Pereira, L. S.; Padro, J. C. 2014. Occurrence of *Eretmocerus mundus* Mercet (Hymenoptera: aphelinidae) parasitizing *Bemisia tabaci* (Genn.) biotype B (Hemiptera: aleyrodidae) in Brazil. *Bragantia*, 73: 160-162.

Moraes, L. A.; Marubayashi, J. M.; Yuki, V. A.; Ghanim, M.; Bello, V. H.; De Marchi, B. R.; Barbosa, L. F.; Boykin, L. M.; Krause-Sakate, R.; Pavan, M. A. 2017. New invasion of *Bemisia tabaci* Mediterranean species in Brazil associated to ornamental plants. *Phytoparasitica*, 45: 517-525.

Myartseva, S. N.; Evans, G. A. 2008. Genus *Encarsia* Förster of Mexico (Hymenoptera: Chalcidoidea: Aphelinidae). A revision, key and description of new species. *Serie avispa parasíticas de plagas y otros insectos*, 3: 1-320.

Polston, J. E.; De Barro, P.; Boykin, L. M. 2014. Transmission specificities of plant viruses with the newly identified species of the *Bemisia tabaci* species complex. *Pest management science*, 70: 1547-1552.

Torres, L. C.; Lourenção, A. L.; Costa, V. A.; Souza, B.; Costa, M. B.; Tanque, R. L. 2014. Records of natural enemies of *Bemisia tabaci* (Genn.)(Hemiptera: Aleyrodidae) biotype B in Brazil. *Neotropical entomology*, 43: 189-191.

Wang, R.; Wang, J. D.; Che, W.; 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: 158-163.

Walsh, P. S.; Metzger, D. A.; Higuchi, R. 1991. Chelex 100 as a medium for simple extraction of DNA for PCR-based typing from forensic material. *Biotechniques*, 10: 506-513.

CAPÍTULO 3

DESENVOLVIMENTO DE *Encarsia inaron* (WALKER) (HYMENOPTERA: APHELINIDAE) EM NINFAS DE *Bemisia tabaci* (GENNADIUS) (HEMIPTERA: ALEYRODIDAE) CRIADAS EM DIFERENTES PLANTAS E PROSPECÇÃO DE ENDOSSIMBIONTES

RESUMO

O controle biológico é uma das ferramentas no manejo de pragas, entretanto, para que possa ser utilizado de forma aplicada, estudos básicos sobre os inimigos naturais e a relação com os hospedeiros são necessários. *Encarsia inaron* é parasitoide de ninfas de espécies de mosca-branca e, apesar de ter sido associado a *Bemisia tabaci* MEAM 1 no Brasil, ainda são escassos os estudos envolvendo a relação de ambos os insetos. Com o intuito de auxiliar o manejo de *B. tabaci*, objetivou-se avaliar o desenvolvimento de *E. inaron* parasitando ninfas de *B. tabaci* MEAM1 oriundas de diferentes espécies vegetais, e adicionalmente, foi avaliada a presença de endossimbiontes na população. O desenvolvimento de *E. inaron* foi avaliado em ninfas de *B. tabaci* criadas em plantas de couve, tomate, soja e feijão, e os parâmetros avaliados em *E. inaron* foram parasitismo, viabilidade, tempo de desenvolvimento ovo-adulto, longevidade e razão sexual. Os parâmetros avaliados não apresentaram diferença entre os tratamentos, o que aponta que independente da cultura onde *B. tabaci* estiver, *E. inaron* consegue realizar se desenvolver, o que é interessante do ponto de vista da aplicação deste inimigo natural uma vez que as culturas onde a mosca-branca ocorre são variadas. Em relação aos endossimbiontes, foram realizadas três prospecções em anos consecutivos. No primeiro ano gêneros encontrados foram *Wolbachia*, *Serratia* e *Rickettsia* e paralelamente a população apresentava apenas fêmeas. No segundo ano foram prospectados os gêneros *Serratia* e *Rickettsia*, e no terceiro ano apenas *Rickettsia*, sendo que a partir do segundo ano também foram observados machos. Dessa forma, levantou-se a hipótese de que *Wolbachia* estaria induzindo esse fenótipo na população, entretanto, não se sabe qual mecanismo foi utilizado pela bactéria e se esse resultado pode ter ocorrido devido a infecção mista entre todos os endossimbiontes presentes, de forma que mais estudos são necessários para o entendimento de como estas bactérias afetam a biologia e comportamento de *E. inaron*.

Palavras-chave: controle biológico; mosca-branca; manejo integrado de pragas; *Rickettsia*; *Wolbachia*.

ABSTRACT

Biological control is one of the tools in pest management, however, so that it can be used in an applied way, basic studies on natural enemies and the relationship with the hosts are necessary. *Encarsia inaron* is a parasitoid of nymphs of whitefly species and, despite being associated with *Bemisia tabaci* MEAM 1 in Brazil, there are still few studies involving the relationship between both insects. In order to help the management of *B. tabaci*, the objective was to evaluate the development of *E. inaron* parasitizing *B. tabaci* MEAM1 nymphs from different plant species, and additionally, the presence of endosymbionts in the population was evaluated. The development of *E. inaron* was evaluated in *B. tabaci* nymphs reared on cabbage, tomato, soybean and bean plants, and the parameters evaluated in *E. inaron* were parasitism, viability, egg-to-adult development time, longevity and sex ratio. The parameters evaluated showed no difference between treatments, which indicates that regardless of the culture where *B. tabaci* is, *E. inaron* can develop, which is interesting from the point of view of the application of this natural enemy since the cultures where the whitefly occurs are varied. Regarding endosymbionts, three surveys were carried out in consecutive years. In the first year, the genera found were *Wolbachia*, *Serratia* and *Rickettsia* and at the same time the population had only females. In the second year, the genera *Serratia* and *Rickettsia* were prospected, and in the third year only *Rickettsia*, and from the second year onwards, males were also observed. Thus, the hypothesis was raised that *Wolbachia* would be inducing this phenotype in the population, however, it is not known which mechanism was used by the bacterium and whether this result may have occurred due to a mixed infection among all the endosymbionts present, so that more studies are needed to understand how these bacteria affect the biology and behavior of *E. inaron*.

Keywords: biological control; whitefly; integrated pest management; *Rickettsia*; *Wolbachia*.

3.1 INTRODUÇÃO

A espécie *Bemisia tabaci* (Gennadius) (Hemiptera: Aleyrodidae), popularmente chamada de mosca-branca, é uma praga conhecida pela capacidade de infestar mundialmente uma enorme gama de plantas de importância econômica, nas quais ocasiona danos diretos e indiretos (BROWN et al., 2015). O maior problema relacionado a *B. tabaci* é o fato da espécie ser uma excelente transmissora de vírus causadores de doenças em diversas culturas (KANAKALA; GHANIM, 2015; KRAUSE-SAKATE et al., 2020; VYSKICILOVA et al., 2018), o que torna imprescindível o manejo desta espécie, que é realizado majoritariamente pelo uso de produtos fitossanitários (ŽANIC, 2018), entretanto, essa tática pode nem sempre apresentar eficácia, além de que quando utilizado incorretamente pode causar efeitos adversos como a seleção de indivíduos resistentes e danos ao meio ambiente (QU et al., 2017).

Com o intuito de agregar ao manejo de *B. tabaci* diversos inimigos naturais associados a mosca-branca são estudados por todo o mundo para verificação do potencial de controle. Como exemplo, a espécie parasitoide de ninfas *Encarsia inaron* (Walker) (Hymenoptera: Aphelinidae) é um dos inimigos que possui potencial para auxiliar no controle de *B. tabaci*. Este inseto é uma microvespa encontrada naturalmente como parasitoide de ninfas de diversas espécies de hemípteros-praga como *Siphoninus phillyreae* (Haliday) (Hemiptera: Aleyrodidae) e *Neomaskellia andropogonis* (Corbett) (Hemiptera: Aleyrodidae) (ASKARIANZADEH; MINAEIMOUGHADAM, 2018) e ocorre naturalmente em diferentes regiões na Ásia, África e Europa (LIU et al., 2015). No Brasil o primeiro relato do parasitoide em ninfas de *B. tabaci* ocorreu em 2003 (OLIVEIRA et al., 2003), entretanto, desde o relato estudos básicos envolvendo a relação de ambas as espécies ainda são escassos.

Em um programa de controle biológico, um dos primeiros passos necessários para estudos é a criação do inimigo natural (PARRA et al., 2002), dessa forma, entender a relação entre este e o hospedeiro é essencial para que a criação ocorra de forma eficiente. No caso da interação entre *E. inaron* e *B. tabaci*, além destes dois organismos, a espécie vegetal também é importante e pode influenciar a relação entre ambos, isso porque *E. inaron* é um parasitoide de ninfas, as quais necessitam de um hospedeiro vegetal para completar o desenvolvimento, dessa forma, esses três níveis tróficos estão interligados já que características físicas e químicas das plantas podem influenciar significativamente a eficácia de agentes de controle biológico (HAN et al.,

2019). Do mesmo modo que a espécie vegetal afeta diretamente o inseto que a ataca, influencia também em parâmetros biológicos do terceiro nível trófico (HAN et al., 2019), sendo que essa influência pode ocorrer de maneira direta por meio das características biológicas ou pelo fornecimento de recursos alimentares alternativos, e até mesmo de forma negativa levando em consideração características físicas das plantas como por exemplo a presença de tricomas que impedem o movimento de inimigos naturais (HOUTEN et al. 2013).

Sabe-se que *B. tabaci* biótipos B e Q apresentam desenvolvimento diferentes quando comparadas entre si em plantas de soja, tomate, feijão, pimentão e algodão (WATANABE et al., 2019), dessa forma, possíveis inimigos naturais associados a estes biótipos podem ser impactados indiretamente por essas diferenças (HOUTEN et al. 2013). Em outras palavras, a espécie vegetal hospedeira da praga alvo pode influenciar o desenvolvimento do inimigo natural e entender esta influência é importante do ponto de vista de que *B. tabaci* é polífaga e ataca diversas culturas, dessa forma, a atuação desse parasitoide em um programa de controle biológico ocorrerá em espécies vegetais distintas, o que torna necessário avaliar se *E. inaron* conseguira realizar a função de parasitismo independente da origem da ninfa de *B. tabaci*.

Além da interação com o terceiro nível trófico, outro aspecto importante no estabelecimento da criação de um inimigo natural e na sua atuação em condições aplicadas é relacionado aos endossimbiontes associados. Atualmente sabe-se que as relações entre os animais ultrapassam os níveis anteriormente conhecidos. Por exemplo, organismos simbiotes estão presentes em grande parte dos indivíduos existentes no mundo e são encontrados expressivamente em insetos, uma vez que estes constituem o grupo de animais mais abundantes no planeta (MORAN et al., 2008), além disso, são os catalisadores evolutivos mais importantes existentes no planeta e exercem papel importante na evolução de organismos complexos (WERNEGREN, 2002). Os endossimbiontes associados a parasitoides são importantes pois podem modificar o tipo de reprodução, desempenho, sobrevivência e eficácia (VORBURGER; PERLMAN 2018; XIE et al., 2014), o que pode impactar diretamente na criação massal e desempenho em campo desses organismos. Dessa forma, diante do exposto, o objetivo do trabalho foi avaliar parâmetros biológicos relacionados ao desenvolvimento de *E. inaron* em ninfas de *B. tabaci* MEAM1, ou

biótipo B, oriundas de diferentes espécies vegetais, e identificar endossimbiontes associados ao parasitoide.

3.2 MATERIAL E MÉTODOS

Os bioensaios foram realizados no laboratório do Grupo de Pesquisa em Manejo Integrado de Pragas na Agricultura (AGRIMIP), localizado no Departamento de Proteção Vegetal da Faculdade de Ciências Agrônômicas (FCA), da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, UNESP, *Campus* de Botucatu, São Paulo.

3.2.1 Criação de *Bemisia tabaci* MEAM1

A espécie *B. tabaci* MEAM1 foi criada em plantas de couve, *Brassica oleracea* L., anteriormente produzidas em casas de vegetação em vasos de polietileno de 3 litros. Após o desenvolvimento das plantas, estas foram levadas para a sala de criação, onde foram mantidas em gaiolas de criação confeccionadas com tela de poliéster anti-afídeo, com dimensões de 45x45x55 cm. As moscas-branca foram introduzidas nas gaiolas para a colonização das plantas, onde se reproduziram. As gaiolas de criação foram mantidas em sala climatizada (temperatura $26\pm 2^{\circ}\text{C}$; UR $70\pm 10\%$; fotofase de 14 horas), em estantes de ferro com iluminação própria para o desenvolvimento das plantas.

3.2.2 Criação de *Encarsia inaron*

Os parasitoides utilizados no estudo foram obtidos em campo em ninfas de *B. tabaci* MEAM1 em soja em área convencional, no município de Casa Branca, SP ($21^{\circ}44'16.7''\text{S}$; $47^{\circ}09'40.1''\text{W}$) em novembro de 2016 e maio de 2017. Os parasitoides foram levados ao laboratório e criados em gaiolas confeccionadas com tela de poliéster anti-afídeo, com dimensões de 45x45x55 cm. Plantas previamente infestadas com ninfas de *B. tabaci* espécie críptica MEAM1 foram ofertadas aos parasitoides para que as fêmeas pudessem realizar o parasitismo. Plantas com ninfas parasitadas foram isoladas em novas gaiolas para o controle de emergência e idade dos parasitoides. Do mesmo modo que a criação de *B. tabaci*, as gaiolas de criação foram mantidas em sala climatizada (temperatura $26\pm 2^{\circ}\text{C}$; UR $70\pm 10\%$; fotofase de 14 horas). Para os experimentos ninfas de terceiro instar foram utilizada,

sendo que estas são diferenciadas das de segundo ínstar pelo tamanho maior, e das de quarto instar pela não observação da coloração vermelha dos olhos de *B. tabaci*.

3.2.3 Desenvolvimento de *Encarsia inaron* em ninfas de *Bemisia tabaci* oriundas de diferentes hospedeiros vegetais

Para saber se o hospedeiro vegetal de *B. tabaci* influencia o desenvolvimento de *E. inaron*, foi instalado o seguinte experimento: plantas de couve (*Brassica oleracea* L.), tomate (*Solanum lycopersicum* L.), soja (*Glycine max* (L.) Merr.) e feijão, (*Phaseolus vulgaris* L.), foram ofertadas a *B. tabaci* por 24 horas em gaiolas de criação. Após esse período todas as moscas-brancas foram retiradas das folhas e as plantas foram colocadas em gaiolas vazias, onde foram mantidas até que as ninfas atingissem o terceiro ínstar.

Quando alcançaram terceiro ínstar as ninfas de *B. tabaci* foram isoladas com auxílio de armadilhas do tipo clip-cage, sendo que em cada armadilha foram aprisionadas 15 ninfas. Após a instalação, uma fêmea de *E. inaron* recém emergida foi inserida nas clip-cages para a realização do parasitismo, e foram mantidas por 24 horas e retiradas. Neste experimento foram isoladas apenas fêmeas pois no ano de realização do mesmo existiam apenas fêmeas na população, sendo esse o motivo para a realização da prospecção de endossimbiontes. Após a retirada das fêmeas, a clip-cage foi mantida na planta para identificação do local do parasitismo e dessa forma foi realizado o acompanhamento do desenvolvimento de *E. inaron* em diferentes hospedeiros de *B. tabaci*. As plantas foram mantidas em sala climatizada (temperatura $26\pm 2^{\circ}\text{C}$; UR $70\pm 10\%$; fotofase de 14 horas).

Ao total foram quatro tratamentos (diferentes plantas) e quinze repetições, correspondentes as clip-cages de cada espécie vegetal. Os parâmetros avaliados foram: número de ninfas parasitadas, número de parasitoides emergidos, tempo de desenvolvimento ovo-adulto, longevidade e razão sexual. Os resultados foram submetidos aos testes de normalidade de variâncias (Shapiro-Wilk) e após a verificação da normalidade foram submetidos a análise de variância paramétrica e as médias submetidas a comparação múltipla de Tukey (0,5%). A sobrevivência dos parasitoides em diferentes espécies vegetais foi avaliada pelo método estatístico de Kaplan-Meier e comparadas a partir do teste de Log-rank pelo software SigmaPlot 12.0.

3.2.4 Endossimbiontes associados a *Encarsia inaron*

O parasitoide *E. inaron* foi submetido a análises para detecção de possíveis organismos associados como endossimbiontes dos gêneros *Arsenophonus*, *Cardinium*, *Carsonella*, *Hamiltonella*, *Serratia*, *Sodalis*, *Spiroplasma*, *Regiella*, *Rickettsia*, *Wolbachia*, e microsporídio do gênero *Nosema*. Para isso foram utilizados 50 insetos para a extração do DNA, e utilizando 80µl de solução de Chelex a 10% com 8µl de proteinase K a 20mg/mL, a 95°C por 20 min. O protocolo para extração de DNA utilizando a resina Chelex 100® é baseado no método descrito por Walsh (1991). Posteriormente foi coletado o sobrenadante para a realização de reações de polimerase em cadeia (PCR).

A PCR foi preparada contendo um total de 12,5 µl de Gotaq (Neobio), com os reagentes necessários para a reação: 5 U/µl Taq, 100 µM de cada dNTP e 25 mM MgCl₂, 7,5 µl de Nuclease Free Water (Promega), 1 µl de cada primer [10 mM] e 3 µl de DNA genômico, totalizando 25 µl por reação. A PCR foi conduzida em termociclador INFINIGEN (modelo TC-96CG) e os ciclos (inicial, desnaturação, anelamento, extensão e polimento) para cada endossimbionte estão presentes na Tabela 1, uma vez que foram utilizados primers específicos para gêneros de interesse (Tabela 2). Para visualizar os produtos da amplificação foi utilizada eletroforese em gel de agarose 1% utilizando marcador de 100 pb (Norgen). O gel de agarose foi visualizado e fotografado em transiluminador de luz ultravioleta (Major Science).

Tabela 1 – Ciclos de PCR utilizados para identificação de endossimbiontes em *Encarsia inaron* (Hymenoptera: Aphelinidae)

Endossimbionte	Ciclos
<i>Arsenophonus</i>	95 °C por 2' + 30 ciclos: 95 °C (30''), 58 °C (30'') e 72 °C (1') e extensão final de 72 °C por 5'
<i>Cardinium</i>	95 °C por 2' + 30 ciclos: 92 °C (30''), 57 °C (30'') e 72 °C (30'') e extensão final de 72 °C por 5'
<i>Carsonella</i>	94 °C por 3' + 35 ciclos: 94 °C (30''), 50 °C (30'') e 72 °C (1') e extensão final de 72 °C por 10'
<i>Hamiltonella</i>	95 °C por 2' + 30 ciclos: 95 °C (30''), 58 °C (30'') e 72 °C (1') e extensão final de 72 °C por 5'
<i>Regiella</i>	94 °C por 5' + 30 ciclos: 94 °C (1'), 52 °C (1') e 72 °C (2') e extensão final de 72 °C por 5'
<i>Rickettsia</i>	95 °C por 2' + 30 ciclos: 92 °C (30''), 58 °C (30'') e 72 °C (30'') e extensão final de 72 °C por 5'
<i>Serratia</i>	95 °C por 10' + 35 ciclos: 95 °C (1'), 52 °C (1') e 72 °C (1') e extensão final de 72 °C por 1'
<i>Sodalis</i>	94 °C por 5' + 30 ciclos: 94 °C (1'), 62 °C (1') e 72 °C (30'') e extensão final de 72 °C por 5'
<i>Spiroplasma</i>	94 °C por 5' + 30 ciclos: 94 °C (1'), 52 °C (1') e 72 °C (2') e extensão final de 72 °C por 5'
<i>Wolbachia</i>	95 °C por 3' + 30 ciclos: 95 °C (30''), 55 °C (30'') e 72 °C (30'') e extensão final de 72 °C por 5'
<i>Nosema</i>	95°C por 4' + 45 ciclos: 95° C (1'), 48° C (1') e 72°C (1') e extensão final de 72 ° C por 4'

Fonte: adaptado de Ramos (2020).

Tabela 2 – Primers utilizados para identificação de endossimbiontes em *Encarsia inaron* (Hymenoptera: Aphelinidae)

Endossimbiontes	Primer - Sequência 5' - 3'	Tamanho (pb)	Referência
<i>Arsenophonus</i>	F: CGTTTGATGAATTCATAGTCAAA R: GGTCTCCAGTTAGTGTTACCCAAC	600	Thao e Baumann, 2004
<i>Cardinium</i>	F: TACTGTAAGAATAAGCACCGGC R: GTGGATCACTTAACGCTTTTCG	400-500	Zchori-Fein e Pearlman, 2004
<i>Carsonella</i>	F: CACGTGCTACAATGAGTAAACAA R: AGTTCAAGACCGCAACCTC+A11:C16	212	Nachappa et al. 2011
<i>Hamiltonella</i>	F: TGAGTAAAGTCTGGAATCTGG R: AGTTCAAGACCGCAACCTC	700	Zchori-Fein e Brown, 2002
<i>Regiella</i>	F: ATCGGGGAGTAGCTTGCTAC R TACGGYTACCTTGTTACGACTT	1000	Sandström et al. 2001
<i>Rickettsia</i>	F: GCTCAGAACGAACGCTATC R: GAAGGAAAGCATCTCTGC	900	Gottlieb, 2006
<i>Serratia</i>	F: CGCAGGCGGTTTGTAAAGTC R: CTTCAAGGGCACAACCTCCA	268	Ribeiro, 2019
<i>Sodalis</i>	F: ACCGCATAACGTCGCAAGACC R: CTTAACCCAACATTTCTCAACACGAG	1000	Nováková e Hypša, 2007
<i>Spiroplasma</i>	F: GCTTAActCCAGTTCGCC R: CCTGTCTCAATGTAACTC	800	Montenegro et al. 2005
<i>Wolbachia</i>	F: CGGGGGAAAAATTTATTGCT R: AGCTGTAATACAGAAAGTAAA	700	Heddi et al. 1999
<i>Nosema</i>	F: CACCAGGTTGATTCTGCC R: TTATGATCCTGCTAATGGTTC	222	Vossbrinck et al. 1993

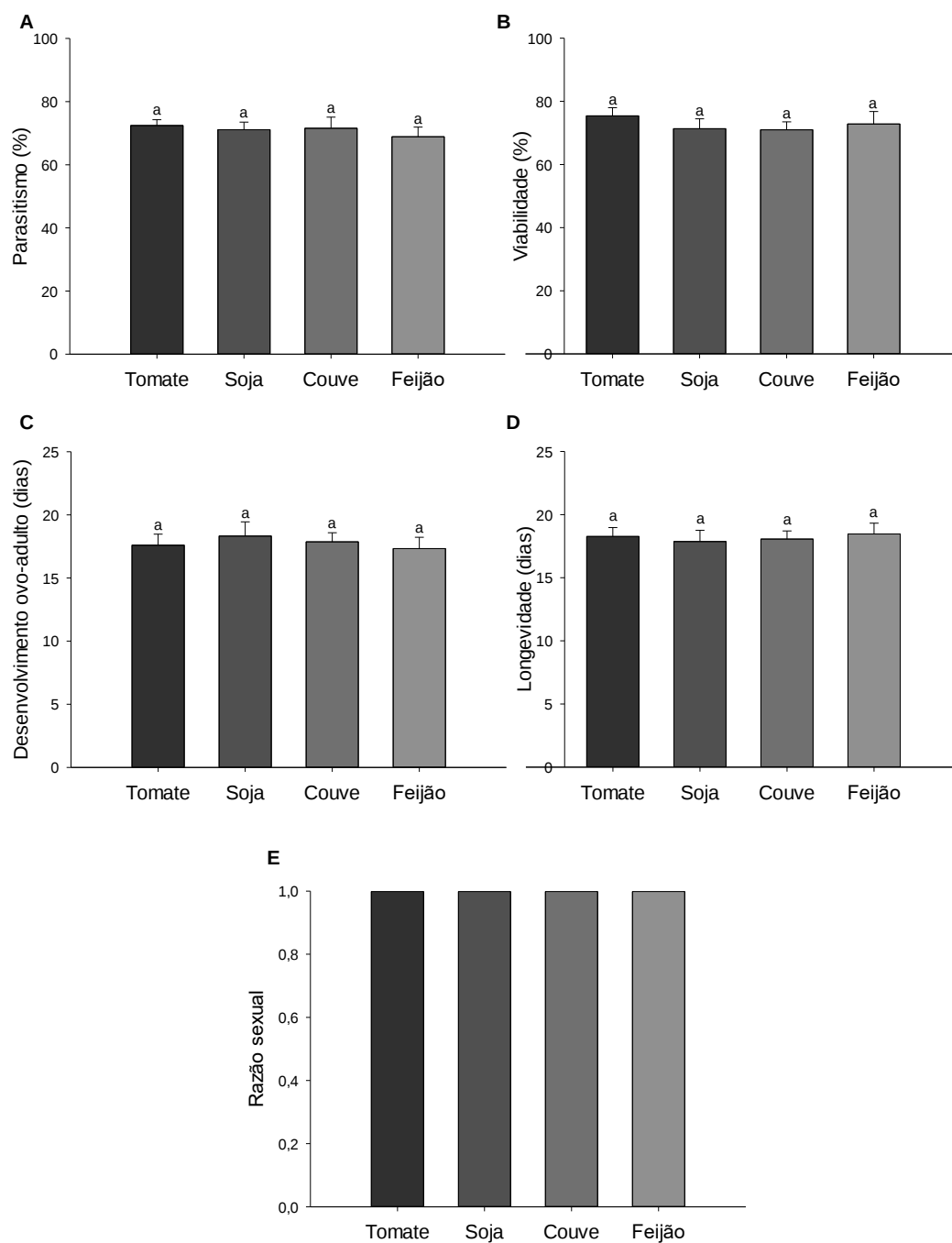
Fonte: adaptado de Bechi (2021).

3.3 RESULTADOS

3.3.1 Desenvolvimento de *Encarsia inaron* em ninfas de *Bemisia tabaci* oriundas de diferentes hospedeiros vegetais

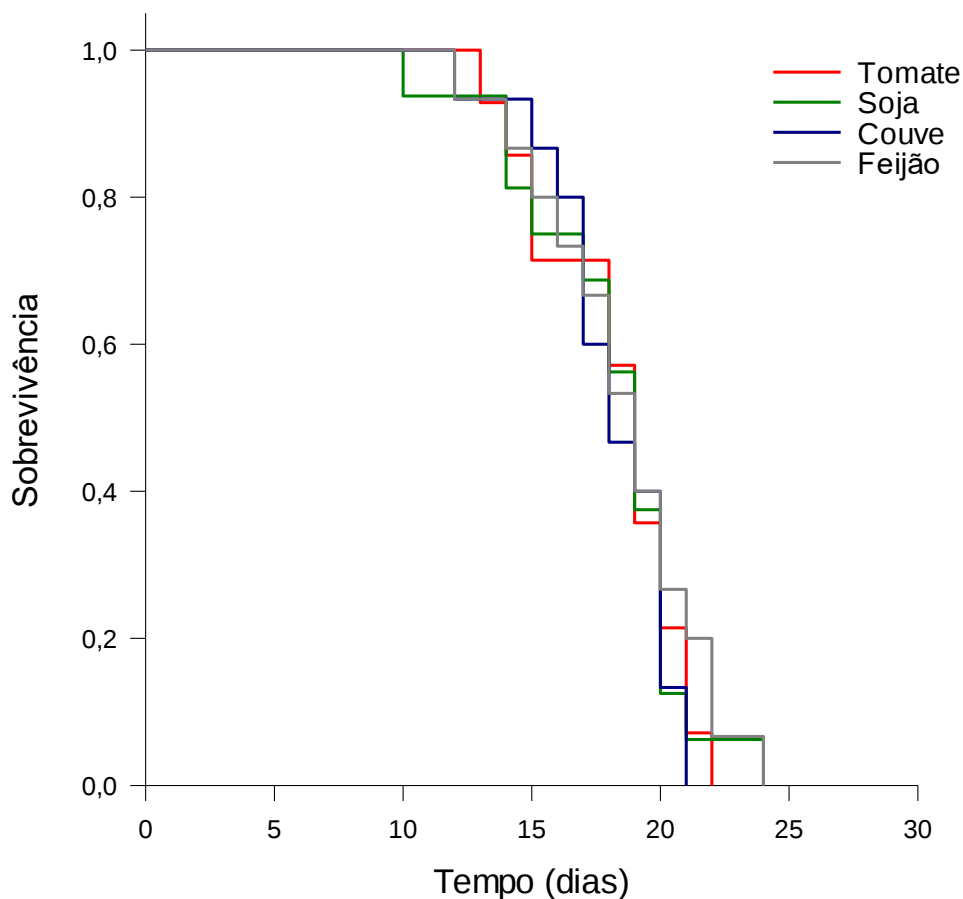
O parasitoide *E. inaron* não apresentou diferença nos parâmetros avaliados em relação a espécie vegetal hospedeira de *B. tabaci*. O parasitismo observado foi de 72,44, 71,11, 71,56 e 68,89% em plantas de tomate, soja, couve e feijão, respectivamente ($F= 0,298$; $p= 0.827$). A viabilidade observada também não apresentou diferença e os valores encontrados foram 75,39, 71,35, 71,01, 72,82% em tomate, soja, couve e feijão, respectivamente ($F= 0.413$; $p= 0.7443$). Como os demais parâmetros avaliados, o tempo de desenvolvimento ovo adulto em dias, 17,60, 18,33, 17,87 e 17,33 ($F= 0.218$; $p= 0.8840$), e a longevidade em dias, 18,27, 17,90, 18,07 e 18,47 ($F= 0.110$; $p= 0.9542$) foram semelhantes estatisticamente para tomate, soja, couve e feijão, respectivamente. Em relação a razão sexual, foram encontradas apenas fêmeas (1,0) (Figura 1).

Figura 1 – (A) Parasitismo (%), (B) viabilidade (%), (C) tempo de desenvolvimento ovo-adulto (dias), (D) longevidade e (E) razão sexual de adultos de *Encarsia inaron* (Hymenoptera: Aphelinidae) em diferentes hospedeiros de *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae). Barras (médias $\pm$ erro padrão) acompanhadas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey (0,5%)



A sobrevivência das fêmeas de *E. inaron* também foi semelhante entre todas as plantas testadas como hospedeiro de *B. tabaci* ($p= 0,842$) (Figura 2).

**Figura 2 – Sobrevivência de *Encarsia inaron* (Hymenoptera: Aphelinidae).
Curvas sem diferencia significativa (análise de Kaplan-Meier: LogRank)**



3.3.2 Endossimbiontes associados a *Encarsia inaron*

No primeiro teste, realizado no ano de 2019, para a prospecção de endossimbiontes e do microsporídio na população de *E. inaron* foram encontradas três bactérias pertencentes aos gêneros *Wolbachia*, *Rickettsia* e *Serratia*. No segundo teste, em 2020, *Wolbachia* não foi detectada, apenas *Rickettsia* e *Serratia*, e no último teste, realizado em 2021, apenas a bactéria do gênero *Rickettsia* foi identificada na população (Tabela 3).

Tabela 3 - Endossimbiontes prospectados em *Encarsia inaron* (Hymenoptera: Aphelinidae)

Teste /Ano	Endossimbiontes										
	AR	CD	CS	HN	SR	SO	SP	RG	RK	WO	NO
1 ^a (2019)	-	-	-	-	+	-	-	-	+	+	-
2 ^a (2020)	-	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-
3 ^a (2021)	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-

Sinal positivo (+) = presença do endossimbionte; sinal negativo (-) = ausência do endossimbionte. Legendas = AR: *Arsenophonus*; CD: *Cardinium*; CS: *Carsonella*; HN: *Hamiltonella*; SR: *Serratia*; SO: *Sodalis*; SP: *Spiroplasma*; RG: *Regiella*; RK: *Rickettsia*; WO: *Wolbachia*; NO: *Nosema*.

3.4 DISCUSSÃO

Os parâmetros avaliados em *E. inaron* parasitando ninfas de *B. tabaci* oriundas de diferentes espécies vegetais foram semelhantes em todos os tratamentos, o que mostra que independente da espécie vegetal *E. inaron* apresenta o mesmo padrão de desenvolvimento pelo menos na primeira geração avaliada. Esses resultados são importantes porque no caso de liberações em campo, *E. inaron* entra em contato com ninfas que estão em diferentes espécies vegetais, ou seja, independente da cultura hospedeira de *B. tabaci* MEAM1, *E. inaron* seria capaz de realizar o parasitismo e se desenvolver, controlando desta forma a praga. Provavelmente os aspectos nutricionais obtidos por *B. tabaci* em diferentes plantas não foram diferentes ao ponto de impactar sobre *E. inaron*, uma vez que a nutrição do hospedeiro afeta diretamente capacidades biológicas do inimigo natural (PEKAS; WÄCKERS, 2020). Além disso, o desenvolvimento dos parasitoides de forma geral também pode ser afetado por toxinas vegetais uma vez que estes quase sempre entram em contato através do hospedeiro (ODE, 2019). Como o observado no presente estudo para *E. inaron*, o parasitoide *Encarsia formosa* (Gahan) (Hymenoptera: Aphelinidae) não apresentou tempo de desenvolvimento diferente quando parasitando ninfas de *B. tabaci* oriundas de tomate, soja e couve (TAKAHASHI et al., 2008). A semelhança no desenvolvimento de *E. inaron* observada neste estudo em ninfas oriundas de diferentes vegetais pode ser consequência das plantas selecionadas que, apesar de serem espécies diferentes, possibilitaram o desenvolvimento do terceiro nível trófico, o que implica que

possuem conteúdos nutricionais suficientes para o desenvolvimento não apresentar diferenças.

Em outro cenário, é possível que se outras espécies de plantas com conteúdo nutricionais insuficientes ou até mesmo a presença de diferentes compostos secundários tivessem sido selecionadas, o desenvolvimento de *E. inaron* poderia ser diferente. Por exemplo, *E. formosa* se desenvolve de forma semelhante em plantas de soja, couve e tomate como descrito assim acima, entretanto, se desenvolve melhor em ninfas de *B. tabaci* oriundas de plantas de batata yacon em relação a plantas de tabaco (ZHAO et al., 2020), e apresenta diferença no tempo de desenvolvimento e capacidade de parasitismo em ninfas de *Trialeurodes ricini* (Misra) (Hemiptera: Aleyrodidae) oriundas de plantas de mamona, berinjela, algodão, feijão, batata e abóbora (SHISHEHBOR; BRENNAN, 1995).

Outro aspecto importante a ser considerado é que neste estudo *E. inaron* não teve chance de escolha, ou seja, possivelmente se a chance de escolha tivesse sido dada as fêmeas os resultados poderiam ser diferentes, por exemplo, o parasitoide *Aenasius bambawalei* (Hayat) (Hymenoptera: Encyrtidae) apresentou parasitismo semelhante quando exposto a cochonilha *Phenacoccus solenopsis* (Tinsley) (Sternorrhyncha: Pseudococcidae) em plantas de quiabo, tomate, berinjela, hibisco e batata, entretanto, os resultados foram semelhantes apenas em testes sem escolha, uma vez que o parasitismo foi diferente quando *A. bambawalei* teve chances de escolher as ninfas para parasitar (BADSHAH et al., 2018).

Assim como parasitismo, viabilidade e tempo de desenvolvimento, a razão sexual de *E. inaron* não foi influenciada pelos hospedeiros de *B. tabaci*. Entretanto o que chamou atenção foi a presença majoritária de fêmeas na população. Essa constatação levantou a hipótese da manipulação da reprodução por endossimbiontes, o que foi confirmado com os experimentos paralelamente realizados.

Após resultados das três prospecções realizadas e a mudança na razão sexual da população após o segundo ano de teste, é possível levantar a hipótese de que a presença de *Wolbachia* causou produção apenas de fêmeas, algo que pode ser considerado vantajoso em criações massais de parasitoides uma vez que apenas as fêmeas são responsáveis pelo parasitismo. Na ausência de *Wolbachia* na população de *E. inaron*, indivíduos machos foram encontrados, isso pode ter ocorrido por diferentes mecanismos em que a bactéria atua para garantir a sobrevivência no hospedeiro, uma vez que machos não reproduzem e consequentemente não passam

os genes bacterianos para novas gerações. Esses mecanismos de sobrevivência de *Wolbachia* podem ser por meio da feminização de machos (ROUSSET et al., 1992), incompatibilidade citoplasmática (O' NEILL, 1990) e a indução de partenogênese (STOUTHAMER et al., 1990), sendo todos esses mecanismos relacionados diretamente com a manipulação da razão sexual dos hospedeiros (HARUMOTO; FUKATSU; LEMAITRE, 2018; MANN et al., 2017; XIE et al., 2014;). A incompatibilidade já foi relatada em *E. inaron* em infecção mista de *Wolbachia* e *Cardinium* (PERLMANN et al., 2006) e a partenogênese é comum em parasitoides como por exemplo em *E. formosa* (ZCHORI-FEIN; ROUSH; HUNTER, 1992) e muitas espécies do gênero *Trichogramma*, que quando infectadas por *Wolbachia* se reproduzem por telitoquia (LIU et al., 2017).

Entretanto, apesar dos relatos de outras espécies na literatura, não é possível saber se apenas *Wolbachia* foi responsável pelo fenótipo observado, ou se a associação com *Rickettsia* e *Serratia* pode ter causado o evento, já que a influência de uma bactéria pode ser alterada quando esta ocorre sozinha ou em infecções mistas (PERLMAN et al., 2006; WHITE et al., 2011), em outras palavras, não é correto atribuir um fenótipo a um simbiote quando ocorre infecção mista, dessa forma, a presença de fêmeas pode ser resultado não apenas da infecção por *Wolbachia* como também da infecção mista entre *Wolbachia*, *Rickettsia* e *Serratia*, o que necessita de mais estudos para avaliação.

Na terceira testagem apenas o gênero *Rickettsia* foi prospectado, ou seja, assim como *Wolbachia*, *Serratia* também foi excluída da população. Diferentemente de *Wolbachia*, não é conhecido a função ou interferência em *E. inaron*, entretanto, estudos associam o gênero a proteção contra estresses oferecidos por altas temperaturas e até mesmo defesa contra parasitoides em afídeos (MONTLLOR et al., 2002; OLIVER et al., 2003). Em relação ao calor, entende-se que bactérias desse gênero possuem bom desenvolvimento em altas temperaturas para que possam oferecer alguma proteção ao hospedeiro. Sendo assim, a hipótese de proteção contra estresses relacionados ao calor em *E. inaron* pode ser justificada a partir do momento que a criação do parasitoide ocorreu em condições de laboratório com temperaturas constantes e amenas, dessa forma, a bactéria pode ter perdido a função para a qual era selecionada em condições de campo e possivelmente foi deslocada e excluída pelas demais bactérias presentes em *E. inaron*.

Dessa forma, as hipóteses de exclusão dos gêneros *Wolbachia* e *Serratia* na população são por competição entre si e ou interferência de fatores abióticos como temperatura e umidade relativa do ar. Na primeira prospecção a população de *E. inaron* era recém trazida de campo, onde era encontrada sobre condições climáticas adversas e talvez por isso a presença os três gêneros, *Wolbachia*, *Rickettsia* e *Serratia* era vantajosa. No segundo cenário, *E. inaron* encontrava-se em condições climáticas controladas, e com o decorrer das gerações, perdeu dois dos gêneros previamente identificados, ou seja, esses gêneros provavelmente se desenvolviam melhor em condições adversas e perderam a função ou não foram bons competidores em relação a *Rickettsia*.

Outra hipótese é a de incompatibilidade citoplasmática, uma vez que o parasitoide estava infectado de forma mista. Possivelmente as condições abióticas pouco interferiram na exclusão de *Wolbachia* e *Serratia*, de forma que tal fato pode ter ocorrido apenas como resultado de cruzamentos entre indivíduos com diferentes endossimbiontes, sendo que o que prevaleceu foi *Rickettsia* provavelmente por apresentar maior frequência na população, o que foi observado por exemplo em infecção mista de *Hamiltonella* e *Cardinium* em *B. tabaci*, que além de diminuírem a fecundidade do inseto quando juntas, também possuem relação antagônica dado que com o aumento da densidade de *Cardinium* ocorre redução na densidade de *Hamiltonella* (ZHAO et al., 2018).

O único gênero restante na população de *E. inaron* foi *Rickettsia*, que assim como *Wolbachia* pode induzir alterações na reprodução de parasitoides, porém, isso não foi observado no estudo. Os efeitos que essa bactéria causa no hospedeiro varia de acordo com a espécie infectada. Por exemplo, *B. tabaci* abriga *Rickettsia* como endossimbionte secundário (GOTTLIEB et al., 2006) e a bactéria é responsável por conferir à praga resistência a inseticidas (KONTSEDALOV et al., 2008) e melhor desempenho no ambiente (HIMLER et al., 2011), assim como auxilia na transmissão dos vírus transmitidos pela mosca-branca (KLIOT et al., 2014). Por infestar *B. tabaci* e possuir capacidade de transmissão horizontal, provavelmente dessa maneira que *E. inaron* nesse estudo adquiriram a bactéria, entretanto, os efeitos no parasitoide precisam ser melhor investigados.

Uma terceira hipótese é relacionada a relação tritrófica, entre a espécie vegetal, o hospedeiro e o parasitoide. Para a realização da prospecção de endossimbiontes apenas a couve foi utilizada para a criação de *B. tabaci* e *E. inaron*, dessa forma a

utilização dessa espécie vegetal pode de alguma forma ter criado condições favoráveis a *Rickettsia*. Essa hipótese também permite pensar porque os resultados do desenvolvimento de *E. inaron* em ninfas de *B. tabaci* oriundas de diferentes espécies vegetais foi semelhante, uma vez que as interações tritrófica também podem ser mediadas por endossimbiontes (TAN et al., 2018), isso porque a interação entre o parasitoide e os endossimbiontes pode auxiliar na expressão de vias de defesas de parasitoide contra toxinas presentes nas plantas (SHIKANO et al., 2017), o que pode explicar o motivo do desenvolvimento de *E. inaron* não ter sido afetado nos tratamentos utilizados neste estudo.

A manutenção de *Rickettsia* e a exclusão de *Wolbachia* e *Serratia* pode ser explicada pela junção de todas as hipóteses levantadas, entretanto, mais estudos são necessários para que se chegue de fato a uma conclusão. Os resultados encontrados neste estudo são importantes pois, como dito anteriormente, o desenvolvimento de *E. inaron* em diferentes culturas de *B. tabaci* MEAM1 é essencial para que esse inimigo natural possa futuramente ser utilizado como ferramenta de controle biológico em diversas culturas. Além disso, em relação aos endossimbiontes a presença de um indivíduo que ocasione a produção apenas de fêmeas em caso de produção massal de parasitoides é vantajosa e por esse motivo estudos se fazem necessários para a verificação do motivo específico de exclusão de *Wolbachia* com a intenção de nova introdução e manutenção da bactéria na população. Dessa forma conclui-se que os parâmetros em relação as plantas escolhidas não diferiram nas características de *E. inaron*, entretanto, testes com chances de escolha são necessários para a melhor compreensão da relação tritrófica. Em relação aos endossimbiontes, esse estudo é o primeiro a relatar a infecção mista dos três gêneros apresentados, porém, é necessário o desenvolvimento de mais estudos para o melhor entendimento sobre as influências no parasitoide *E. inaron*.

REFERÊNCIAS

ASKARIANZADEH, A.; MINAEIMOGHADAM, M. Biology, natural enemies and damage of the sugarcane whitefly (*Neomaskellia andropogonis*) (Homoptera: Aleyrodidae) in Iran. **International Journal of Tropical Insect Science**, Wallingford, v. 38. p. 1-6, 2018. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/327846605_Biology_natural_enemies_and_damage_of_the_sugarcane_whitefly_Neomaskellia_andropogonis_Homoptera_Aleyrodidae_in_Iran. Acesso em: 09 nov. 2021.

BADSHAH, H. *et al.* Influence of the host plant on the encyrtid *Aenasius bambawalei*, a parasitoid used to control the cotton mealybug, *Phenacoccus solenopsis*, in Pakistan. **Pakistan Journal of Zoology**, Laore, vol. 50, n. 1, p. 207-216, 2018. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/322379239_Influence_of_the_Host_Plant_on_the_Encyrtid_Aenasius_bambawalei_a_Parasitoid_used_to_Control_the_Cotton_Mealybug_Phenacoccus_solenopsis_in_Pakistan. Acesso em: 09 nov. 2021.

BROWN, J. K. *et al.* Revision of Begomovirus taxonomy based on pairwise sequence comparisons. **Archives of Virology**, New York, v. 160, n. 6, p. 1593-1619, 2015. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25894478/>. Acesso em: 09 nov. 2021.

GOTTLIEB, Y. *et al.* Identification and localization of a *Rickettsia* sp in *Bemisia tabaci* (Homoptera : Aleyrodidae). **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 72, n. 5, p. 3646-3652, 2006. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16672513/>. Acesso em: 09 nov. 2021.

GUIDOLIN, A. S.; CONSOLI, F. L. Molecular characterization of *Wolbachia* strains associated with the invasive asian citrus psyllid *Diaphorina citri* in Brazil. **Microbial Ecology**, Atlanta, v. 65, n. 2, p. 475-486, 2013. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23269454/>. Acesso em: 09 nov. 2021.

HAN, P., N. *et al.* Bottom-up effects of irrigation, fertilization and plant resistance on *Tuta absoluta*: implications for Integrated Pest Management. **Journal of Pest Science**, v. 92, p. 1359–1370, 2019. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s10340-018-1066-x#citeas>. Acesso em 09 nov. 2021.

HARUMOTO, T.; FUKATSU, T.; LEMAITRE, B. Common and unique strategies of male killing evolved in two distinct *Drosophila* symbionts. **Proceedings of the Royal Society**, Edinburgh v. 285, p. 2-10, 2018. Disponível em: <https://royalsocietypublishing.org/doi/10.1098/rspb.2017.2167>. Acesso em 09 nov. 2021.

HIMLER, A. *et al.* Rapid Spread of a Bacterial Symbiont in an invasive whitefly is driven by fitness benefits and female bias. **Science**, Washington, v. 332, n. 6026, p. 254-256, 2011. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21474763/>. Acesso em: 09 nov. 2021.

HOUTEN, Y. M., *et al.* Herbivory-associated degradation of tomato trichomes and its impact on biological control of *Aculops lycopersici*. **Experimental and Applied Acarology**, Amsterdam, v. 60, p. 127–138, 2013. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s10493-012-9638-6>. Acesso em: 09 nov. 2021.

KANAKALA, S.; GHANIM, M. Advances in the genomics of the whitefly *Bemisia tabaci*: an insect pest and a virus vector. In: RAMAN, C.; GOLDSMITH, M.; AGUNBIADE, T. (Eds.). **Short Views on Insect Genomics and Proteomics**. Springer, 2015, p. 19-40.

KLIOT, A. *et al.* Implication of the bacterial endosymbiont *Rickettsia* spp. in interactions of the whitefly *Bemisia tabaci* with *Tomato Yellow Leaf Curl Virus*. **Journal of Virology**, Washington, v. 88, n. 10, p. 5652-5660, 2014. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4019100/>. Acesso em: 09 nov. 2021.

KONTSEDALOV, S. *et al.* The presence of *Rickettsia* is associated with increased susceptibility of *Bemisia tabaci* (Homoptera: Aleyrodidae) to insecticides. **Pest Management Science**, Sussex, v. 64, n. 8, p. 789-792, 2008. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18432613/>. Acesso em: 09 nov. 2021.

KRAUSE-SAKATE, R.; *et al.* Population Dynamics of Whiteflies and Associated Viruses in South America: Research Progress and perspectives. **Insects**, Basileia, v. 11, n. 847, 2020. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2075-4450/11/12/847>. Acesso em: 09 nov. 2021.

LIU, Q.; *et al.* Decision-making in a bisexual line and a thelytokous *Wolbachia* - infected line of *Trichogramma dendrolimi* Matsumura (Hymenoptera: Trichogrammatidae) regarding behavior toward their hosts. **Pest Management Science**, Sussex, v. 1, p. 1-26, 2017. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29363888/>. Acesso em: 09 nov. 2021.

LIU, T. X.; STANSLY, P. A.; GERLING, D. Whitefly parasitoids: distribution, life history, bionomics, and utilization. **Annual Review of Entomology**, Palo Alto, v. 60, p. 273–292, 2015. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25341095/>. Acesso em: 09 nov. 2021.

MANN, E., C. M.; *et al.* Transcriptome sequencing reveals novel candidate genes for *Cardinium* hertigii-caused cytoplasmic incompatibility and host-cell interaction. **mSystems**, Washington, v. 2, e00141-17, 2017. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29181449/>. Acesso em: 09 nov. 2021.

MONTLLOR, C. B.; MAXMEN, A.; PURCELL, A. H. Facultative bacterial endosymbionts benefit pea aphids *Acyrtosiphon pisum* under heat stress. **Ecological Entomology**, Londres, v. 27, p. 189–195, 2002. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1046/j.1365-2311.2002.00393.x>. Acesso em: 09 nov. 2021.

MORAN, A. N.; McCUTCHEON, J. P.; NAKABACHI, A. Genomics and Evolution of Heritable Bacterial Symbionts. **Annual Review of Genetics**, Palo Alto, v. 42, p. 165-

190, 2008. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18983256/>. Acesso em: 09 nov. 2021.

ODE, P. J. Plant toxins and parasitoid trophic ecology. **Current Opinion in Insect Science**, Amsterdam, v. 32, p. 118-123, 2019. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31113623/>. Acesso em: 09 nov. 2021.

OLIVEIRA, M. R. V.; *et al.* Natural Enemies of *Bemisia tabaci* (Gennadius) B Biotype and *Trialeurodes vaporariorum* (Westwood) (Hemiptera: Aleyrodidae) in Brasília, Brazil. **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 32, n. 1, p. 151-154, 2003. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/ne/a/cspqhXn5b6MzgvMNxTmrzjq/?lang=en>. Acesso em: 09 nov. 2021.

OLIVER, K. M.; *et al.* Facultative bacterial symbionts in aphids confer resistance to parasitic wasps. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, Washington, v. 100, p. 1803–1807, 2003. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12563031/>. Acesso em: 09 nov. 2021.

PARRA, J. R. P.; *et al.* Controle biológico: uma visão inter e multidisciplinar. In: PARRA, et al. (Eds.). **Controle biológico no Brasil: parasitóides e predadores**. São Paulo: Manole, 2002. p. 125-137.

PEKAS, A.; WÄCKERS, F. L. Bottom-up effects on tri-trophic interactions: plant fertilization enhances the fitness of a primary parasitoid mediated by its herbivore host. **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v. 113, n. 6, p. 2619-2626, 2020. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/343658006_Bottom-up_Effects_on_Tritrophic_Interactions_Plant_Fertilization_Enhances_the_Fitness_of_a_Primary_Parasitoid_Mediated_by_Its_Herbivore_Host. Acesso em: 09 nov. 2021.

PERLMAN, S. J.; *et al.* Cytoplasmic incompatibility and multiple symbiont infection in the ash whitefly parasitoid, *Encarsia inaron*. **Biological Control**, Orlando, v. 39, p. 474-478, 2006. Disponível em: https://www.academia.edu/17832200/Cytoplasmic_incompatibility_and_multiple_symbiont_infection_in_the_ash_whitefly_parasitoid_Encarsia_inaron. Acesso em: 09 nov. 2021.

QU, C.; *et al.* Lethal and sublethal effects of dinotefuran on two invasive whiteflies, *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae). **Journal of Asia-Pacific Entomology**, v. 2, p. 325–330, 2017. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S122686151630543X>. Acesso em: 09 nov. 2021.

SHIKANO, I.; *et al.* Tritrophic interactions: microbe-mediated plant effects on insect herbivores. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v. 55, p. 313-331, 2017. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28590879/>. Acesso em 09 nov. 2021.

SHISHEHBOR, P.; BRENNAN, P., A. Parasitism of *Trialeurodes ricini* by *Encarsia formosa*: level of parasitism, development time and mortality on different host plants.

Entomophaga, Paris, v. 40, p. 299-305, 1995. Disponível em: <https://www.cabi.org/isc/abstract/19971101820>. Acesso em: 09 nov. 2021.

TAKAHASHI, K. M.; FILHO, E. B.; LOURENÇÃO, A. L. Biology of *Bemisia tabaci* (GENN.) B-biotype and parasitism by *Encarsia formosa* (GAHAN) on collard, soybean and tomato plants. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v.65, n.6, p.639-642, 2008. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/sa/a/bXS9FhstpXXKVQzhMmh5qQM/?lang=en>. Acesso em: 09 nov. 2021.

TAN, C. W.; *et al.* Symbiotic polydnavirus of a parasite manipulates caterpillar and plant immunity. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, Washington, v. 115, n. 20, p. 5199-5204, 2018. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29712862/>. Acesso em: 09 nov. 2021.

VORBURGER, C.; PERLMAN, S. J. The role of defensive symbionts in host–parasite coevolution. **Biological Reviews**, Cambridge, v. 93, n. 4, p. 1747-1764, 2018. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29663622/>. Acesso em 09 nov. 2021.

VYSKICILOVA, S.; *et al.* An integrative approach to discovering cryptic species within the *Bemisia tabaci* whitefly species complex. **Scientific Reports**, Londres, v. 8, p. 1-13, 2018. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/s41598-018-29305-w>. Acesso em: 09 nov. 2021.

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**, Natick, v. 10, p. 506-513, 1991. Disponível em: <https://europepmc.org/article/med/1867860>. Acesso em: 09 nov. 2021.

WERNEGREEN, J. J. Genome evolution in bacterial endosymbionts of insects. **Nature Reviews Genetics**, Londres, v. 3, p. 850-861, 2002. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/nrg931>. Acesso em: 09 nov. 2021.

WHATANABE, L., F., M.; *et al.* Performance and competitive displacement of *Bemisia tabaci* MEAM1 and MED cryptic species on different host plants. **Crop Protection**, Guildford, v. 124, 104860, 2019. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0261219419302066>. Acesso em: 09 nov. 2021.

WHITE, J. A.; *et al.* Endosymbiont costs and benefits in a parasitoid infected with both *Wolbachia* and *Cardinium*. **Heredity**, Londres, v. 106, p. 585–591, 2011. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3183907/>. Acesso em 09 nov. 2021.

XIE, J.; *et al.* Male killing *Spiroplasma* protects *Drosophila melanogaster* against two parasitoid wasps. **Heredity**, Londres, v. 112, p. 399–408, 2014. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24281548/>. Acesso em: 09 nov. 2021.

ŽANIC, K.; et al. *Bemisia tabaci* MED Population Density as Affected by Rootstock-Modified Leaf Anatomy and Amino Acid Profiles in Hydroponically Grown Tomato. **Frontiers in Plant Science**, Lausanne, v.9, n.86, p.86, 2018. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5807426/>. Acesso em: 09 nov. 2021.

ZCHORI-FEIN, E.; ROUSH, R. T.; HUNTER, M. S. Male production induced by antibiotic treatment in *Encarsia formosa* (Hymenoptera: Aphelinidae), an asexual species. **Experientia**, Basileia, v.48, p. 102-105, 1992. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/BF01923619>. Acesso em: 09 nov. 2021.

ZHAO, D.; et al. Interactions between facultative symbionts *Hamiltonella* and *Cardinium* in *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae): cooperation or conflict? **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v. 111, n. 6, p. 1–7, 2018. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30265339/>. Acesso em: 09 nov. 2021.

ZHAO, Y.; et al. Yacon as an alternative host plant for *Encarsia formosa* mass-rearing: validating a multinomial theorem for bootstrap technique in life table research. **Pest Management Science**, Sussex, v. 77, p. 2324–2336, 2020. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/ps.6259>. Acesso em: 09 nov. 2021.

CAPÍTULO 4

CARACTERÍSTICAS BIOLÓGICAS E CAPACIDADE DE PARASITISMO DE *Encarsia inaron* (WALKER) (HYMENOPTERA: APHELINIDAE) EM DIFERENTES TEMPERATURAS SOBRE O HOSPEDEIRO *Bemisia tabaci* (GENNADIUS) (HEMIPTERA: ALEYRODIDAE)

RESUMO

A temperatura é um dos fatores mais importantes no desenvolvimento dos insetos pois interfere diretamente em características biológicas como capacidade de parasitismo, viabilidade, longevidade, razão sexual e comportamento, por esse motivo, investigar o efeito deste fator abiótico em inimigos naturais com potencial utilização no controle de pragas é essencial. O parasitoide de ninfas *Encarsia inaron* é um organismo associado a espécie-praga *Bemisia tabaci*, entretanto, são escassos os estudos envolvendo a relação entre ambos no Brasil. Desta maneira, o objetivo do trabalho foi avaliar a influência da temperatura sobre *E. inaron* parasitando ninfas de *B. tabaci*. Foram avaliadas características biológicas como tempo de desenvolvimento ovo-adulto, viabilidade, longevidade, razão sexual e capacidade de parasitismo nas temperaturas de 15, 18, 21, 24, 27, 30, 33 e 36°C. Além disso, foram estimadas taxas de desenvolvimento do parasitoide por meio de modelos lineares e não-lineares. O tempo de desenvolvimento ovo-adulto variou de 14,6 a 21,7 dias entre as temperaturas de 21 e 33°C e a viabilidade foi acima de 80% entre as temperaturas de 15 e 27°C, porém diminuiu com o aumento da temperatura, chegando a 31% em 33°C. A longevidade de *E. inaron* diminuiu com o aumento da temperatura, e variou de 24,1 a 1,9 dias entre as temperaturas de 15 e 33°C, enquanto a razão sexual não foi influenciada pela temperatura. Sobre a capacidade de parasitismo, o maior tempo observado para este parâmetro (10 dias), e o maior número de ninfas parasitadas (55,2) ocorreram na temperatura de 24°C, enquanto o menor foi observado a 33°C, 2 dias e 1,1 ninfas parasitadas. Em todos os experimentos os parasitoides morreram anteriormente antes de 24 horas na temperatura de 36°C. Em relação as taxas de desenvolvimento de *E. inaron*, diversos modelos entre linear e não-lineares foram testados, entretanto, o modelo que apresentou melhor ajuste ao parasitoide foi o modelo não-linear Bayoh. O limiar de temperatura inferior (T_0) foi de 13,3°C, enquanto os limiares de temperatura superior (T_s) e ótima (T_{op}) foram 35,9 e 32,5°C, respectivamente, constante térmica (K) de 417,7 graus dia⁻¹. Os dados gerados com esses experimentos servem de embasamento na instalação de criação massal adequada a *E. inaron*, além de ser subsidio para o entendimento do comportamento e eficiência deste inimigo natural em condições de campo.

Palavras-chave: controle biológico; manejo integrado de pragas; parasitoide de ninfas; mosca-branca.

ABSTRACT

Temperature is one of the most important factors in the development of insects, and directly interferes in biological characteristics such as parasitism capacity, viability, longevity, sex ratio and behavior, for this reason, investigate the effect of this abiotic factor in natural enemies with potential to control pests is essential. The nymph parasitoid *Encarsia inaron* is an organism associated with the pest species *Bemisia tabaci*, however, there are few studies in Brazil involving the relationship between both. Thus, the objective of this work was to evaluate the temperature pressure on *E. inaron* parasitizing *B. tabaci* nymphs. Biological characteristics such as egg-adult development time, viability, longevity, sex ratio and parasitism capacity were evaluated at temperatures of 15, 18, 21, 24, 27, 30, 33 and 36 °C. In addition, parasitoid development rates were estimated using linear and non-linear models. The egg-adult development time ranged from 14.6 to 21.7 days between the temperatures of 21 and 33 °C and the viability was above 80% between the temperatures of 15 and 27 °C, but it decreased with the increase in temperature, reaching 31% at 33 °C. The longevity of *E. inaron* decreased with increasing temperature, and range from 24.1 to 1.9 days between temperatures of 15 and 33 °C, while the sex ratio did not was influenced by temperature. Regarding the parasitism capacity, the longest time observed for this parameter (10 days), and the largest number of parasitized nymphs (55.2) occurred at a temperature of 24 °C, while the lowest observed was at 33 °C, 2 days and 1.1 parasitized nymphs. In all experiments, the parasitoids died before 24 hours at a temperature of 36 °C. Regarding the development rates of *E. inaron*, several models between linear and non-linear were tested, however, the model that presented the best fit to the parasitoid was the non-linear Bayoh model. The lower temperature threshold (T_0) was 13.3 °C, while the upper (T_s) and optimal (T_{op}) temperature thresholds were 35.9 and 32.5°C, respectively, and the thermal constant (K) of 417.7 degrees day⁻¹. The data generated with these experiments serve as a basis for the installation of suitable mass rearing for the parasitoid *E. inaron* on nymphs of the host *B. tabaci*, in addition to being a subsidy for the behavior and efficiency of this natural enemy in field conditions.

Keywords: biological control; integrated pest management; nymph parasitoid; whitefly.

4.1 INTRODUÇÃO

A mosca-branca *Bemisia tabaci* (Gennadius) (Hemiptera: Aleyrodidae) está entre as espécies de maior importância econômica no mundo devido aos danos diretos e indiretos causados em diversas culturas (BROWN et al., 2015). O método de controle empregado majoritariamente é o químico por meio utilização de produtos fitossanitários como inseticidas. Entretanto, sabe-se que apenas um tipo de ferramenta no controle de insetos-praga pode não ser efetivo ou ainda causar eventos indesejados como a seleção de indivíduos resistentes e contaminação do ambiente devido ao uso excessivo e incorreto (QU et al., 2017). Dessa forma, o controle biológico surge como um aliado as demais táticas de controle, sendo que a utilização conjunta de todas as táticas disponíveis é vantajosa no ponto de vista do manejo de *B. tabaci*, além de ser algo preconizado pelo Manejo Integrado de Pragas (MIP).

Em relação ao controle biológico, o parasitoide de ninfas *Encarsia inaron* (Walker) (Hymenoptera: Aphelinidae) é estudado e utilizado em algumas regiões do mundo no controle de espécies de hemípteros-praga, entretanto, no Brasil apesar de o parasitoide ter sido associado a *B. tabaci* há alguns anos atrás (OLIVEIRA et al., 2003), e continuar no país presente em campo em diversas culturas como soja e pimentão, novos estudos sobre a relação deste inimigo natural e *B. tabaci* ainda são escassos e necessários para o entendimento da relação entre estes insetos.

Entre os aspectos importantes no estudo de novos inimigos naturais com potencial de controle de pragas está o efeito de diferentes temperaturas sobre o desenvolvimento. A temperatura interfere na distribuição e na densidade populacional dos insetos (DAMOS; SAVOPOULOU-SOULTANI, 2012) e é um dos fatores mais importantes na vida de todos os organismos vivos no planeta e pode afetar positivamente ou negativamente todas as espécies. Além disso, de acordo com Park et al. (2016), compreender a influência da temperatura no desenvolvimento, no parasitismo e na reprodução de parasitoides é essencial tanto para entender o ciclo de vida e características biológicas desses organismos, como para que seja possível o desenvolvimento da criação massal.

Os parasitoides são organismos pecilotérmicos e não possuem capacidade de termorregulação corporal, deste modo, são altamente suscetíveis as mudanças de temperatura do ambiente principalmente pelo tamanho pequeno de seus corpos. Deste modo, a temperatura pode interferir desde a sobrevivência e desenvolvimento

quanto nas capacidades destes organismos como parasitismo, longevidade e no número de machos e fêmeas na população (GULLAN; CRANSTON, 2017; KANG et al. 2017; REBAUDO; RABHI, 2018). Diante do exposto, o objetivo desse estudo foi avaliar a influência desse fator sobre as características biológicas e a capacidade de parasitismo de *E. inaron* sobre ninfas de *B. tabaci* espécie críptica MEAM1 (ou biótipo B) com o intuito de estabelecer uma criação massal de qualidade para realização de mais estudos e possível utilização do parasitoide em programas de controle biológico.

4.2 MATERIAL E MÉTODOS

Os bioensaios foram realizados no laboratório do Grupo de Pesquisa em Manejo Integrado de Pragas na Agricultura (AGRIMIP), localizado no Departamento de Proteção Vegetal da Faculdade de Ciências Agrônômicas (FCA), da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, UNESP, *Campus* de Botucatu, São Paulo.

4.2.1 Características biológicas e exigências térmicas de *E. inaron* em diferentes temperaturas

Para avaliar a influência de diferentes temperaturas nas características biológicas de *E. inaron* sobre ninfas de *B. tabaci*, mudas de couve transplantadas em copos plásticos com no mínimo 4 folhas verdadeiras infestadas com ninfas de terceiro instar foram ofertadas ao parasitoide por 24 horas em gaiolas de criação. Para identificação, as ninfas foram aprisionadas em armadilhas do tipo clip-cages e um casal de *E. inaron* foi inserido nesta armadilha. Após as 24 disponíveis ao parasitismo, os parasitoides foram retirados e as plantas com as armadilhas foram transferidas para câmaras climatizadas do tipo B.O.D reguladas nas temperaturas 15, 18, 21, 24, 27, 30, 33 e $36 \pm 1^\circ\text{C}$; $70 \pm 10\%$ de HR; e fotofase de 12 h.

Após a constatação de parasitismo nas ninfas, que é possível pela coloração escura, essas foram descoladas das folhas com auxílio de estilete entomológico e individualizadas em tubos de fundo chato. Esse passo foi necessário uma vez que as plantas após um período dentro das câmaras começam processo de senescência e impossibilitam a visualização das ninfas parasitadas, além disso, após atingirem grau de parasitismo onde é possível observação a olho nu, a retirada da ninfa da folha não influencia o desenvolvimento de *E. inaron*.

Ao todo foram 8 tratamentos, com 15 repetições correspondentes as clip-cages, sendo que 10 ninfas foram aprisionadas em cada uma. Os parâmetros avaliados foram viabilidade, razão sexual, tempo do desenvolvimento ovo-adulto e longevidade. A viabilidade, foi calculada pela formula $V = (\text{número de parasitoides emergidos} / \text{número de ninfas parasitadas}) \cdot 100$, e a razão sexual pela formula $RS = \text{número de fêmeas} / \text{número de fêmeas} + \text{o número de machos}$ (GALLO et al. 2002). O experimento foi instalado em delineamento inteiramente casualizado e os resultados de parasitismo, viabilidade, razão sexual, longevidade e período de desenvolvimento foram submetidos aos testes de normalidade de variâncias (Shapiro-Wilk), como não foram satisfeitas as suposições e normalidade dos dados, foi realizado o teste de Kruskal-Wallis ($p < 0,05$). A sobrevivência dos parasitoides em diferentes temperaturas foi avaliada pelo método estatístico de Kaplan-Meier e comparadas a partir do teste de Log-rank pelo software SigmaPlot 12.0.

Em relação as exigências térmicas, as taxas de desenvolvimento de *E. inaron* em função da temperatura foram analisadas em modelos linear e não-lineares (Tabela 1). Os parâmetros que compõem cada um dos modelos foram estimados pelo método de Levenberg-Marquardt, usando-se o pacote *minpack.lm* (ELZHOV et al., 2016) do aplicativo computacional R versão 4.1.1 (R CORE TEAM, 2021). A seleção do modelo com melhor ajuste foi realizada com base no teste de aderência de chi-quadrado (χ^2_{ad}), coeficiente de determinação ajustado (R^2_{ad}), logaritmo de máxima verossimilhança (LogLik), soma de quadrados residual (SQR), critério de informação de Akaike (AIC) e respectivo peso (pAIC) em relação aos demais modelos.

Tabela 1 – Modelos usados para relacionar a taxa de desenvolvimento à temperatura ambiente, onde $r(T)$ é a taxa de desenvolvimento e T é a temperatura

Modelo	Equação	Parâmetros	Referência
Linear	$r(T) = a + b \cdot T$	a: intercepto na linha b: inclinação da linha	Campbell et al. (1974)
Briere1	$r(T) = a \cdot T \cdot (T - T_{min}) \cdot (T_{max} - T)^{\frac{1}{2}}$	T_{min} : limiar de temperatura mínima T_{max} : temperatura máxima a: constante	Briere et al. (1999)
Briere2	$r(T) = a \cdot T \cdot (T - T_{min}) \cdot (T_{max} - T)^{\frac{1}{b}}$	T_{min} : limiar de temperatura mínima T_{max} : temperatura máxima	Briere et al. (1999)

		a, b : constante	
		ψ : taxa de desenvolvimento em alguma temperatura base acima do limite de desenvolvimento	
Logan6	$r(T) = \psi \cdot \exp^{\rho \cdot T} - \exp\left(\rho \cdot T_{max} - \frac{(T_{max} - T)}{\Delta T}\right)$	T_{max} : temperatura máxima ΔT : amplitude da camada limite de alta temperatura ρ : constante	Logan et al. (1976)
		ρ : constante T_{max} : temperatura máxima ΔT : amplitude da camada limite de alta temperatura	
Lactin1	$r(T) = \exp^{\rho \cdot T} - \exp\left(\rho \cdot T_{max} - \frac{(T_{max} - T)}{\Delta T}\right)$		Lactin et al. (1995)
		ρ, b : constantes T_{max} : temperatura máxima ΔT : amplitude da camada limite de alta temperatura	
Lactin2	$r(T) = \exp^{\rho \cdot T} - \exp\left(\rho \cdot T_{max} - \frac{(T_{max} - T)}{\Delta T}\right) + b$		
		ρ, b : constantes T_{max} : temperatura máxima ΔT : amplitude da camada limite de alta temperatura	
Bayoh	$r(T) = a + b \cdot T + c \cdot \exp^{(T)} + d \cdot \exp^{(-T)}$	a, b, c e d : constantes	Bayoh; Lindsay (2003)
		$a, k1$, e $k2$: constantes $T1$ e $T2$: limites conceituais de desenvolvimento inferior e superior em que as taxas de desenvolvimento são iguais a zero	
Shi	$r(T) = a \cdot (1 - \exp^{(-k1 \cdot (T - T1))}) \cdot (1 - \exp^{(k2 \cdot (T - T2))})$		Shi et al. (2011)

4.2.2 Capacidade de parasitismo em diferentes temperaturas

Para avaliar a influência da temperatura na capacidade de parasitismo de *E. inaron* plantas (com no mínimo 4 folhas verdadeiras) infestadas com ninfas de *B. tabaci* em terceiro ínstar foram ofertadas diariamente a fêmeas dentro de câmaras climatizadas do tipo B.O.D reguladas nas temperaturas 15, 18, 21, 24, 27, 30, 33 e $36 \pm 1^\circ\text{C}$; $70 \pm 10\%$ de HR; e fotofase de 12 h. Para isso, fêmeas do parasitoide após emergência e cópula foram inseridas em armadilhas clip-cages em folhas infestadas de ninfas de terceiro ínstar. Cada fêmea foi colocada em uma armadilha e diariamente eram transferidas para novas armadilhas em novas plantas infestadas com ninfas de *B. tabaci*, e isso foi realizado diariamente até a morte da fêmea. As ninfas parasitadas

foram retiradas das plantas e acondicionadas em tubos de fundo chato nas respectivas temperaturas para a avaliação dos parâmetros definidos.

O experimento foi instalado em delineamento inteiramente casualizado, com 8 tratamentos (temperaturas) e 15 repetições (fêmeas). Os parâmetros avaliados foram o parasitismo diário, número total de ninfas parasitadas, viabilidade, razão sexual e longevidade das fêmeas com experiência de parasitismo. Os resultados foram submetidos aos testes de normalidade de variâncias (Shapiro-Wilk), e como não apresentaram normalidade, foram submetidos ao teste Kruskal-Wallis ($p < 0,05$). A sobrevivência das fêmeas com experiência de parasitismo em diferentes temperaturas foi avaliada pelo método estatístico de Kaplan-Meier e comparadas a partir do teste de Log-rank pelo software SigmaPlot 12.0.

4.3 RESULTADOS

4.3.1 Características biológicas e exigências térmicas de *Encarsia inaron* em diferentes temperaturas

O tempo de duração do desenvolvimento ovo-adulto de *E. inaron* variou de acordo com as temperaturas ($H = 86,22$ $p < 0,0001$) (Tabela 2) sendo que na temperatura de 36°C todos os parasitoides morreram. O menor valor de tempo observado foi na temperatura de 33°C, entretanto de acordo com a estatística utilizada o valor não foi significativamente diferente das temperaturas de 24, 27, 30°C (Tabela 2). Apesar do tempo semelhante, a viabilidade entre as temperaturas foi diferente ($H = 86,59$; $p < 0,0001$). Nas temperaturas de 15, 18, 21, 24 e 27°C a viabilidade observada foi acima de 80% (Tabela 2). A razão sexual não foi afetada em relação as temperaturas testadas ($H = 7,77$; $p = 0,2478$) (Tabela 2), e a emergência de fêmeas foi maior em relação a machos. Outro parâmetro afetado de acordo com as temperaturas foi a longevidade ($H = 65,88$; $p < 0,0001$), sendo que a maior ocorreu no tratamento com temperatura mais baixa (15°C) e a menor na temperatura mais alta com insetos vivos (33°C) (Tabela 2).

Tabela 2 – Período de duração do desenvolvimento ovo-adulto, viabilidade (%), razão sexual e longevidade de *Encarsia inaron* (Hymenoptera: Aphelinidae) em diferentes temperaturas

Temperatura (°C)	Tempo de desenvolvimento	Viabilidade	Razão sexual	Longevidade
15	36,3 ± 0,9a	82,3 ± 1,7a	0,7 ± 0,02 ^{ns}	24,1 ± 3,5a
18	27,7 ± 0,8ab	84,5 ± 1,3a	0,8 ± 0,01	21,7 ± 1,1a
21	21,7 ± 0,5b	85,3 ± 1,9a	0,6 ± 0,03	18,1 ± 1,4ab
24	17,1 ± 0,6c	86,3 ± 1,8a	0,7 ± 0,02	16,6 ± 1,9ab
27	16,2 ± 0,5c	85,6 ± 1,6a	0,6 ± 0,02	12,3 ± 1,0bc
30	14,7 ± 0,4c	58,2 ± 3,7b	0,7 ± 0,02	6,1 ± 0,5cd
33	14,6 ± 0,4c	31,2 ± 2,7b	0,7 ± 0,07	1,9 ± 0,4d
36	-	-	-	-

Médias ± erro padrão seguidas por letras diferentes na coluna diferem entre si pelo teste de Kruskal-Wallis ($p < 0,05$).

Em relação as exigências térmicas o modelo linear apresentou R^2_{aj} superior a 0.92 demonstrando ajuste adequado aos dados. O limiar de temperatura inferior (T_0) igual a 2,15°C com constante térmica (K) de 417,7 graus dia⁻¹ (Tabela 3).

Tabela 3 – Estimativa dos parâmetros de ajuste do modelo linear de requerimento térmico, limiar de temperatura inferior (T_0) e constante térmica (K) de *Encarsia inaron* (Hymenoptera: Aphelinidae) criado em ninfas de *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae)

Parâmetros	Estimativa	Erro padrão
β_0	-0,00515714	0,00668877
β_1	0,00239405	0,00027038
F	78,4014835	
p	0,00030542	
R^2_{aj}	0,9280	
T_0 (°C)	2,15	
K (GD)	417,7	

β_0 e β_1 : coeficiente linear e angular no modelo linear; F: Teste F da análise de variância; p: p-valor; R^2_{aj} : Coeficiente de determinação ajustado; T_0 : Limiar de temperatura inferior; K: Constante térmica em graus dia⁻¹ (GD).

Entre os modelos não lineares avaliados todos apresentaram ajustes aos dados observados para *E. inaron* (Tabela 4 e Figura 1). É possível verificar uma predominância do modelo Shi e Bayoh com base no AIC, pAIC, LogLIK e R^2_{aj} em relação aos demais modelos. Ao se analisar os parâmetros dos modelos Shi e Bayoh verifica-se que o limiar de temperatura inferior (T_0) foram discrepantes, enquanto que os limiares de temperaturas ótima (T_{op}) e superior (T_s) foram próximos (Tabela 5). Recordando que o resultado T_0 estimado pelo modelo linear também foi baixo, assim como o estimado pelo modelo não linear Shi (ambos com valores inferiores a 5°C), e levando em conta a literatura que apresentam valores superiores aos estimados, pode-se inferir que tais modelos (linear e Shi) não possibilitaram estimativas confiáveis para estes parâmetros. Por outro lado, o modelo não linear Bayoh apresentou para T_0 uma estimativa mais plausível para um inseto de clima tropical. Diante de tais resultados, é plausível considerar o modelo não linear Bayoh como o mais adequado para os dados e estimativas desse estudo.

Tabela 4 – Critérios de seleção aplicados aos modelos não lineares de requerimento térmico de *Encarsia inaron* (Hymenoptera: Aphelinidae) sobre ninfas de *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae)

Modelos	AIC	pAIC	Log(LIK)	R^2_{aj}	SQR	χ^2_{ad}	F	p
Logan6	-62,11	0,0949	36,05	0,9741	0,000057	0,0008	90,54	0,0004
Briere1	-50,37	0,0064	29,18	0,9384	0,000318	0,0052	28,42	0,0019
Briere2	-56,73	<0,001	33,36	0,9579	0,000112	0,0011	45,55	0,0015
Lactin1	-54,85	0,0025	31,43	0,9423	0,000181	0,0043	51,68	0,0005
Lactin2	-55,19	0,003	32,60	0,9404	0,000135	0,0035	37,37	0,0022
Bayoh	-64,45	0,3066	37,23	0,9811	0,000043	0,0024	121,85	0,0002
Shi	-65,75	0,5863	38,88	0,9832	0,000028	0,0003	103,87	0,0015

AIC: Critério de informação de Akaike; pAIC: Peso de importância de AIC em relação aos modelos testados; Log(LIK): Logaritmo de máxima verossimilhança; R^2_{aj} : Coeficiente de determinação ajustado; SQR: Soma de quadrado residual; χ^2_{ad} : Teste de aderência de Chi-quadrado; F: Teste F da análise de variância; p: p-valor.

Figura 1 – Modelos não lineares de requerimento térmico de *Encarsia inaron* (Hymenoptera: Aphelinidae) sobre ninfas de *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) (UR 70±10% e fotofase de 12 horas)

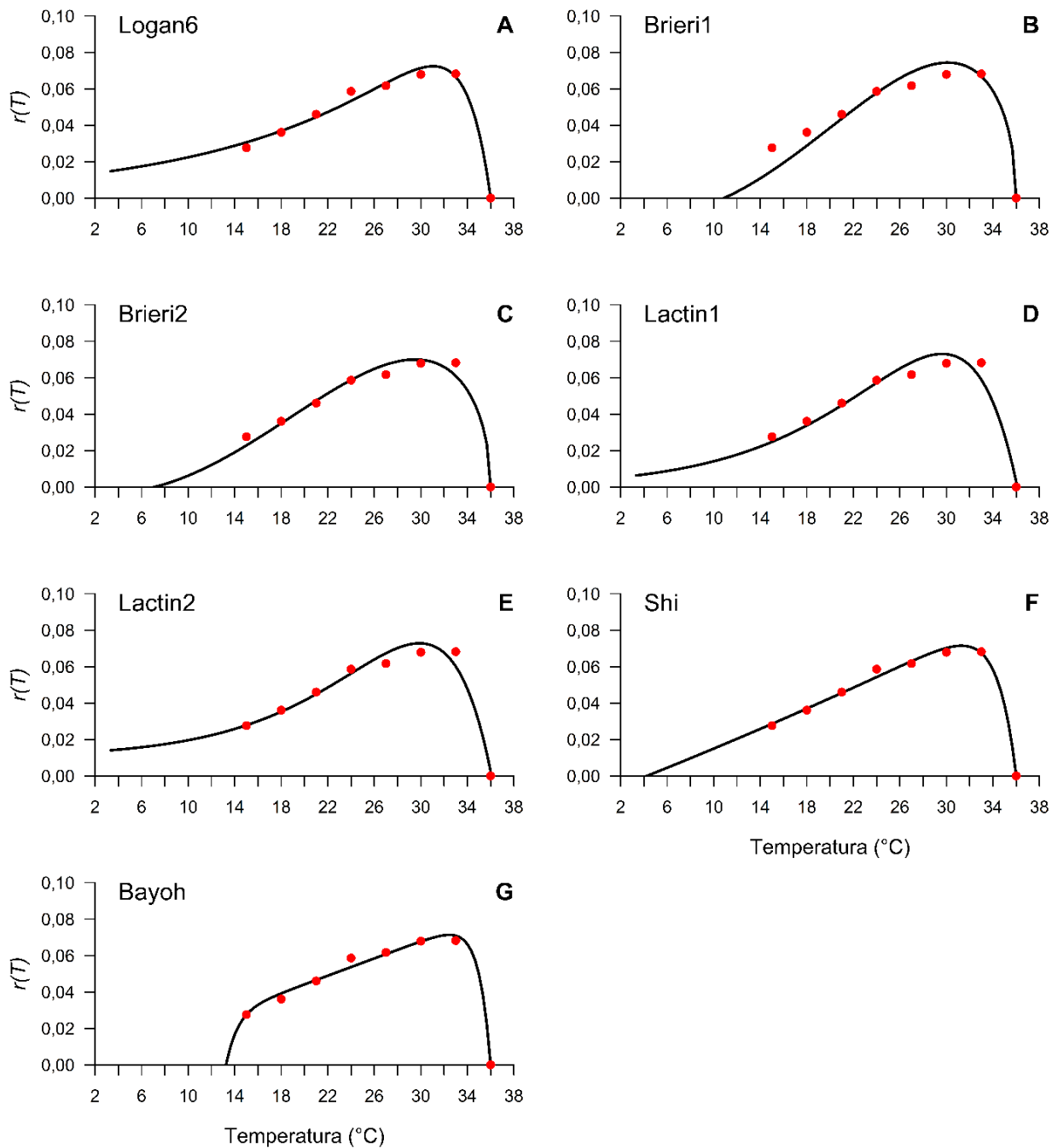


Tabela 5 – Estimativa dos parâmetros de ajuste dos modelos não lineares de requerimento térmico, limiares de temperaturas ótima (T_{op}), inferior (T_0), superior (T_s) de *Encarsia inaron* (Walker) (Hymenoptera: Aphelinidae) sobre ninfas de *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae)

Modelos	Parâmetros	Estimativas	Erro-padrão
Shi	a	-0,34617491	2,79787697
	$k1$	-0,00738148	0,05255351
	$k2$	0,57866961	0,21819178
	$T1$	4,25517895	7,82070008
	$T2$	36,0011282	0,05799413
	T_{op}	31,3	
	T_0	4,3	
	T_s	36	
Bayoh	a	-0,00324674	0,00711749
	b	0,00237148	0,00027401
	c	$-1,9081 \times 10^{-17}$	$1,0751 \times 10^{-18}$
	d	-15953,8118	15151,8709
	T_{op}	32,5	
	T_0	13,3	
	T_s	35,9	

$a, b, c, d, k1, k2, T1$ e $T2$: Parâmetro dos modelos não lineares; T_{op} : Limiar de temperatura ótima; T_0 : Limiar de temperatura inferior; T_s : Limiar de temperatura superior.

4.3.2 Capacidade de parasitismo de *Encarsia inaron* em diferentes temperaturas

O parasitismo diário de *E. inaron* em ninfas de *B. tabaci* variou de acordo com as temperaturas dos tratamentos (Figura 2). O maior número de ninfas de *B. tabaci* parasitadas diariamente por fêmeas de *E. inaron* foi observado no primeiro dia em todos os tratamentos, com média de 5,06, 6,13, 7,07, 9,13, 6,60, 4,07 e 0,67 ninfas em 15, 18, 21, 24, 27, 30 e 33°C, com exceção do tratamento de 36°C, no qual todas as fêmeas morreram. O tratamento com maior número ninfas parasitadas no primeiro dia foi na temperatura de 24°C ($H=90,13$; $p<0,0001$) e o menor número foi observado na temperatura mais alta com fêmeas vivas, 33°C. Outro aspecto observado em todos os tratamentos foi a diminuição do parasitismo conforme o avanço da idade da fêmea. Os tratamentos com maior período de parasitismo foram 21 e 24°C, não sendo observado parasitismo após o décimo dia (Figura 2). Na Figura 3 é possível observar o padrão do parasitismo das fêmeas em todas as temperaturas.

Figura 2 – Parasitismo diário (médias $\pm$ desvio padrão) e acumulado de *Encarsia inaron* (Hymenoptera: Aphelinidae) em ninfas de *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) em diferentes temperaturas

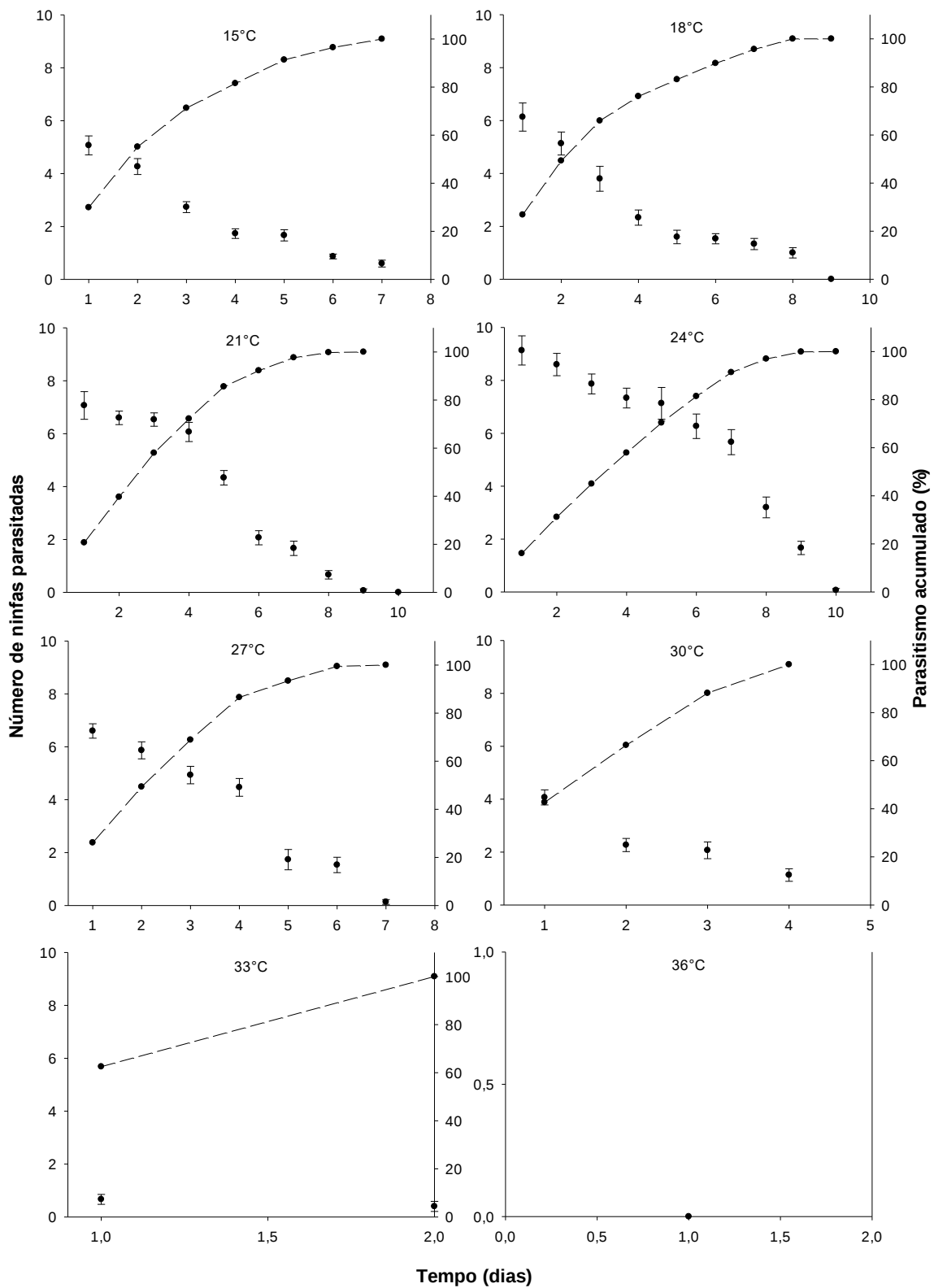
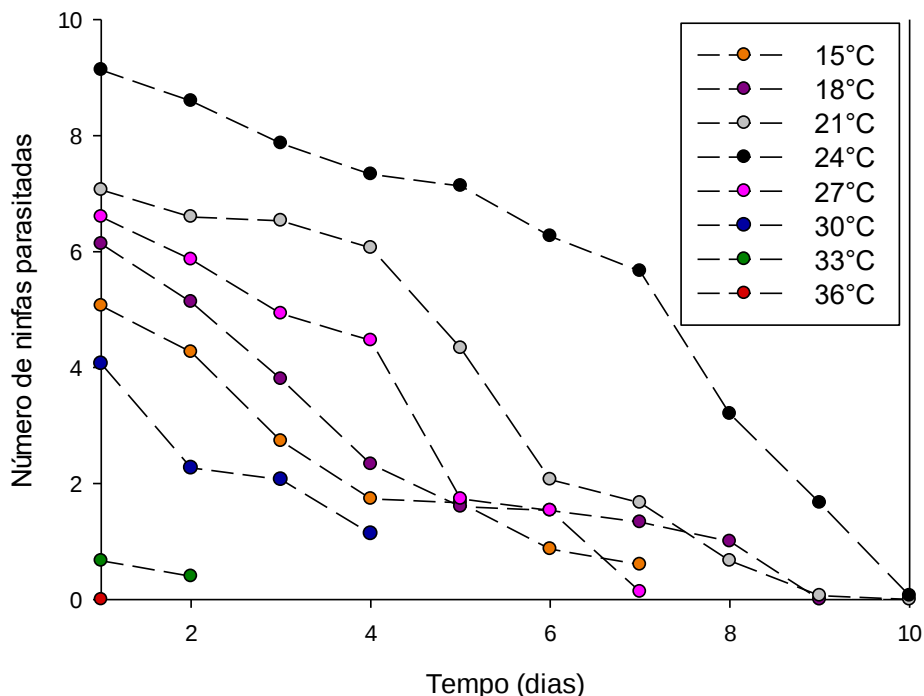


Figura 3 – Parasitismo de *Encarsia inaron* (Hymenoptera: Aphelinidae) em ninfas de *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) em diferentes temperaturas



Assim como o parasitismo diário, o número total de ninfas de *B. tabaci* parasitadas por *E. inaron*, a viabilidade da progênie e a longevidade das fêmeas com experiência de parasitismo variou de acordo com a temperatura. O maior número de ninfas de *B. tabaci* parasitadas foi observado em 24°C, e o menor na temperatura mais alta com fêmeas vivas, 33°C ($H = 109,10$; $p < 0,0001$) (Tabela 6 e Figura 4). A viabilidade mais alta de *E. inaron* também foi observada na temperatura de 24°C e a menor 33°C ($H = 41,83$; $p < 0,0001$) (Tabela 6 e Figura 4). A longevidade mais avançada de *E. inaron* foi observada na temperatura de 15, 18, e 21°C, respectivamente, e o menor tempo de vida foi observado em 36°C ($H = 94,44$ $p < 0,0001$). Em contraste aos demais parâmetros, a razão sexual de *E. inaron* não variou com as temperaturas e foi em geral tendenciosa para fêmeas ($H = 5,77$; $p = 0,3987$) (Tabela 6).

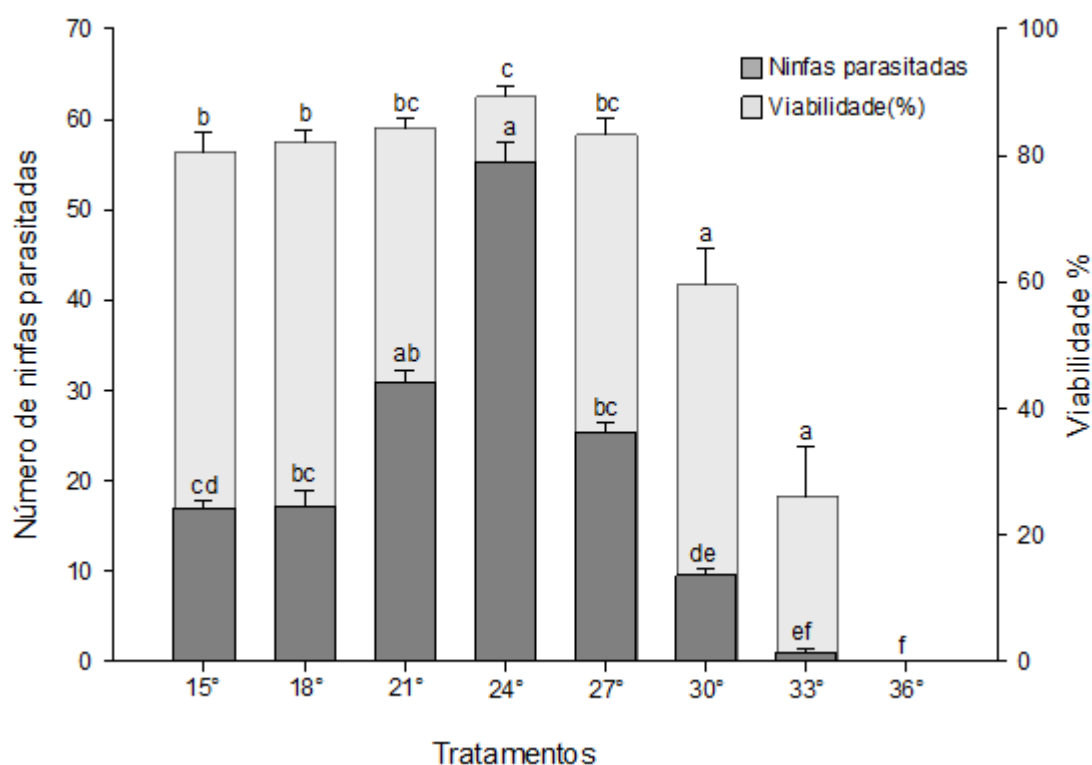
Tabela 6 – Número total de ninfas parasitadas, viabilidade (%), razão sexual e longevidade do parasitoide *Encarsia inaron* (Hymenoptera: Aphelinidae) em diferentes temperaturas

T (°C)	Ninfas parasitadas	Viabilidade	Razão sexual	Longevidade
15	16,9 ± 0,9cd	80,5 ± 3,2b	0,68 ± 0,02 ^{ns}	19,2 ± 1,9a

18	22,9 ± 1,7bc	82,0 ± 2,0b	0,70 ± 0,02	17,3 ± 1,4a
21	30,9 ± 1,3ab	84,2 ± 1,7ab	0,72 ± 0,03	16,9 ± 1,0a
24	55,2 ± 2,2a	89,3 ± 1,7a	0,75 ± 0,01	14,6 ± 0,7ab
27	25,3 ± 1,3bc	83,2 ± 2,5ab	0,70 ± 0,02	11,0 ± 0,6b
30	9,5 ± 0,7de	59,5 ± 5,9c	0,75 ± 0,06	5,8 ± 0,3c
33	1,1 ± 0,3ef	26,0 ± 7,9c	0,75 ± 0,13	0,5 ± 0,2c
36	0,0f -	-	-	0,0c -

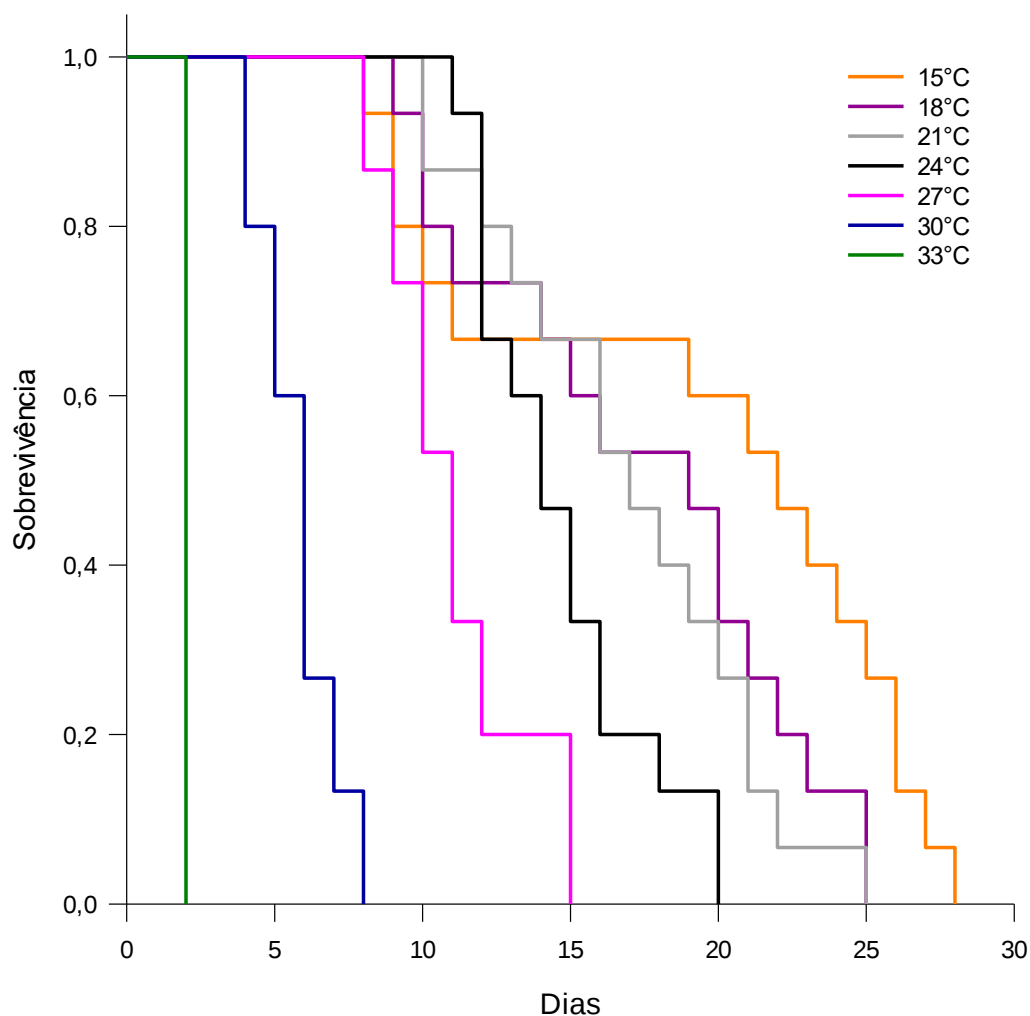
Medianas (médias ± erro padrão) seguidas por letras diferentes na coluna diferem entre si pelo teste de Kruskal-Wallis ($p < 0,05$).

Figura 4 – Número total de ninfas (médias ± erro padrão) de *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) parasitadas por *Encarsia inaron* (Hymenoptera: Aphelinidae) e viabilidade (%) (médias ± erro padrão) em diferentes temperaturas (1: 15°C; 2: 18°C; 3: 21°C; 4: 24°C; 5: 27°C; 6: 30°C; 7: 33°C; 8: 36°C. Barras (médias ± erro padrão) acompanhadas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Kruskal-Wallis ($p < 0,05$))



A sobrevivência das fêmeas com experiência de parasitismo pode ser observada na Figura 5, e variou de acordo com as temperaturas que *E. inaron* foi exposta ($p < 0,001$).

Figura 5 – Sobrevivência das fêmeas de *Encarsia inaron* (Hymenoptera: Aphelinidae) com experiência de parasitismo em diferentes temperaturas



4.4 DISCUSSÃO

A duração do tempo de desenvolvimento ovo-adulto de *E. inaron* sobre ninfas de *B. tabaci* foi inversamente proporcional a temperatura. Em temperaturas baixas, como 15°C, o tempo em que *E. inaron* leva para completar o desenvolvimento aumenta, e isso é consequência do decréscimo de atividades metabólicas, onde ocorre a diminuição no processo de conversão de nutrientes em energia (REYNOLDS; NOTTINGHAM, 1985). Esse efeito ocorre em parasitoides e outros insetos porque estes são tipicamente pecilotérmicos, dessa forma, o metabolismo, crescimento,

movimentos e reprodução são dependentes da temperatura (FURLONG; ZALUCKI, 2017) sendo assim a performance e o desenvolvimento aumentam ou diminuem de acordo com a variação de temperatura (ZHANG et al., 2019). Adicionalmente, além de afetar o metabolismo do parasitoide a temperatura também pode influenciar a quantidade de compostos no hospedeiro que servem como fonte energética para parasitoides, como lipídios e carboidratos (ILTIS et al., 2019), dessa forma, com uma menor fonte de energia ao parasitoide, este leva mais tempo para se desenvolver.

Do mesmo modo ao encontrado para *E. inaron* sobre ninfas de *B. tabaci*, o tempo de desenvolvimento ovo-adulto de *E. inaron* observado sobre o hospedeiro *Neomaskellia andropogonis* Corbett (Hemiptera: Aleyrodidae) aumentou com a diminuição da temperatura, e variou de 31,7 a 15,0 dias a 20 e 30°C, respectivamente (MALEKMOHAMMADI; SHISHEHBOR; KOICHEILI, 2012). Em outro estudo, sobre ninfas de *Siphoninus phillyreae* (Haliday) (Hemiptera: Aleyrodidae), o tempo de desenvolvimento de *E. inaron* foi de 31,0 a 17,2 entre as temperaturas de 20 a 32°C (GOULD et al., 1995). Outras espécies de parasitoides parasitando *B. tabaci*, como *Encarsia formosa* (Gahan) (Hymenoptera: Aphelinidae) necessitou de 20,2 dias a 20°C, 14,5 dias a 25°C e 12,9 dias a 30°C para completar o desenvolvimento ovo-adulto (XU et al., 2003), enquanto *Encarsia bimaculata* (Heraty & Polaszek) apresentou tempo de desenvolvimento ovo-adulto de 34,3 a 8,7 dias entre as temperaturas de 20 e 32°C (QIU et al. 2006). A diferença observada entre os valores em ambos os estudos pode ser atribuída tanto a diferentes características entre os hospedeiros, como aspectos fisiológicos e morfológicos, ou ainda pela diferença nas linhagens de *E. inaron* utilizadas nos ensaios.

Como a temperatura exerce papel fundamental na taxa metabólica dos insetos, era esperado que a viabilidade de *E. inaron*, assim como o tempo de desenvolvimento, também sofresse alterações de acordo com a temperatura em que o parasitoide foi exposto. Apesar de números variados, os resultados não foram diferentes estatisticamente entre as temperaturas de 15 a 27°C, e diminuíram a partir de 30°C, até a temperatura onde a viabilidade foi 0, 36°C. A diminuição da viabilidade observada em temperaturas mais altas, além de ser consequência de respostas metabólicas do parasitoide, também pode ter sido influenciada devido a reações do hospedeiro. Altas temperaturas podem estimular a expressão de genes relacionados a respostas imunológicas no hospedeiro o que consequentemente impacta negativamente a sobrevivência e viabilidade do parasitoide (ILTIS et al., 2019). Assim

como o decréscimo da viabilidade com o aumento da temperatura observado neste trabalho, sobre ninfas de *N. andropogonis* a viabilidade máxima de *E. inaron* foi de 86,6% a 25°C, e a mínima de 64,4% a 32°C (MALEKMOHAMMADI; SHISHEHBOR; KOCHEILI, 2012).

Assim como no tempo de desenvolvimento ovo-adulto e a viabilidade, a longevidade dos adultos de *E. inaron* também é diretamente influenciada pela temperatura. Como o adulto não possui mais contato com o hospedeiro, a diminuição da longevidade pode ser consequência direta de alterações no metabolismo do inseto (ZHANG et al., 2019), entretanto, como o aumento da temperatura pode impedir o fornecimento de compostos energéticos ao parasitoide (ILTIS et al., 2019), é possível que na vida adulta sem esses componentes absorvidos na fase juvenil, alguns parasitoides se tornem incapazes de sintetizar gordura para a sobrevivência (VISSER; ELLERS, 2008), o que impacta diretamente na longevidade e pode explicar os resultados observados para *E. inaron*. No hospedeiro *N. andropogonis* a longevidade média de *E. inaron* variou de 22,3 a 4,5 dias a 20 e 32°C, respectivamente (MALEKMOHAMMADI; SHISHEHBOR; KOCHEILI, 2012), porém, como dito anteriormente, a diferença dos números em ambos os trabalhos provavelmente são consequência da diferença entre os hospedeiros, e possivelmente da linhagem. Como exemplo de outras espécies de parasitoide sobre *B. tabaci*, a longevidade de *E. bimaculata* variou de 8,4 a 5,4 dias entre as temperaturas de 20 e 32°C (QIU et al. 2006), e a de *E. formosa* 17,7 a 13,6 dias entre as temperaturas de 25°C a 30°C (XU et al., 2003).

Diferentemente dos outros parâmetros avaliados neste trabalho, a razão sexual não foi influenciada pela temperatura, o que contrasta ao observado para *E. inaron* em ninfas de *N. andropogonis*, onde a proporção sexual variou de 54 a 82% (MALEKMOHAMMADI; SHISHEHBOR; KOCHEILI, 2012). A diferença na razão sexual, além de potencialmente estar relacionada a interação específica entre parasitoide e hospedeiro e como esta funciona de acordo com as exposições a diferentes temperaturas, o resultado aqui encontrado também pode ser consequência da interação da temperatura com a presença de endossimbiontes associados. A população de *E. inaron* utilizada neste trabalho possuía como endossimbionte associado uma bactéria do gênero *Rickettsia*, as quais além de serem conhecidas por impactarem em aspectos nutricionais e de proteção, são frequentemente associadas a reprodução (MANN et al., 2017; HARUMOTO; FUKATSU; LEMAITRE, 2018),

entretanto, isso é uma hipótese e mais estudos são necessários para entender a possível interação entre temperatura e o efeito deste endossimbionte em *E. inaron*.

Do mesmo modo que a falta de reservas energéticas na fase adulta pode ter impactado a longevidade de *E. inaron*, é possível que a capacidade de parasitismo também possa ser influenciada uma vez que as fêmeas necessitam de compostos, principalmente relacionados a reserva de gordura, para a produção de ovos (VISSER; ELLERS, 2008). Entretanto, como as fêmeas utilizadas para a avaliação do parasitismo em todos os tratamentos emergiram a 24°C, essa explicação não pode ser aplicada a este estudo, além disso, este processo biológico explicaria apenas o resultado em temperaturas mais altas. Dessa forma, a redução da capacidade de parasitismo nas diferentes temperaturas pode ser consequência das atividades metabólicas, onde as fêmeas além de demandarem energia para a oviposição também necessitam desta para a sobrevivência. O número médio de ovos por fêmea de *E. inaron* parasitando ninfas de *N. andropogonis* variou de 12 a 74 entre as temperaturas de 20 a 32°C (MALEKMOHAMMADI; SHISHEHBOR; KOCHIL, 2012), enquanto que de acordo com GOULD et al (1995), *E. inaron* produziu em média 159 ovos sobre ninfas do hospedeiro *S. phillyreae*, o que contrasta com o resultado encontrado neste estudo, porém, a diferença possivelmente é resultado da interação específica entre parasitoide e hospedeiro, por exemplo, a espécie *Encarsia citrina* sobre o hospedeiro *Quadraspidotus perniciosus* (Comstock) (Hemiptera: Diaspididae) produziu 96,3 e 87,2 ovos sobre as temperaturas de 20 e 25°C, enquanto *E. bimaculata* (sobre ninfas de *B. tabaci* teve produção total de 24,3 ovos a 32°C, a 29,3 ovos a 20°C (QIU et al. 2006).

Em relação à taxa de desenvolvimento de *E. inaron* em diferentes temperaturas, como citado anteriormente, os resultados obtidos neste estudo foram aplicados a modelos lineares e não-lineares. Os modelos lineares são os mais antigos e os mais utilizados mundialmente para descrever o desenvolvimento de insetos em relação a temperatura (MIRHOSSEINI; FATHIPOUR; REDDY, 2017), entretanto, algumas vezes de acordo com as características biológicas e o comportamento de determinadas espécies em relação a temperatura, esses modelos podem estimar dados considerados irreais. Por exemplo, o modelo linear utilizado no estudo, apesar de apresentar ajuste adequado ($R^2_{aj} = 0,9280$), estimou que a limiar de temperatura inferior foi de 2,15°C, o que é inviável para *E. inaron*, o qual é levado a morte quando exposto a temperaturas próximas a esta, além disso, ao contrário de modelos não-

lineares, o modelo linear não estima limiar de temperatura superior e nem de temperatura ótima. Por isso, as vezes para estimar os parâmetros envolvidos no desenvolvimento de uma espécie é necessário que os dados sejam aplicados a modelos não-lineares, pois, de acordo com Mirhosseini; Fathipour e Reddy (2017), os modelos não-lineares podem descrever de forma mais precisa a taxa de desenvolvimento, entretanto, como isso não é certo em todos os casos e como são mais complicados de aplicar, ainda de acordo com os autores, é indicado que sejam realizadas comparações dos resultados em diferentes modelos, o que foi realizado no presente trabalho.

Assim como exposto anteriormente, todos os modelos não-lineares apresentaram bons ajustes a *E. inaron* neste estudo, devido ao fato de que o desenvolvimento de *E. inaron* apresenta uma resposta não-linear em relação a temperatura, onde a maior taxa de desenvolvimento ocorreu em uma temperatura ótima intermediária, entretanto em relação aos sete modelos testados, de acordo com os critérios utilizados, os dois modelos considerados mais adequados aos dados do estudo foram Shi e Bayoh. É importante ressaltar que o ajuste a um modelo específico não coloca os demais como modelos ruins, uma vez que as suposições sobre os efeitos de diferentes temperaturas e a estimativa dos limiares são diferentes para cada modelo usado, ou seja, os modelos possuem precisão diferentes, dessa forma, cada modelo pode ser mais adequado que outros de acordo para uma determinada espécie de parasitoide, ou qualquer outro organismo para qual essas características estão sendo avaliadas (MIRHOSSEINI; FATHIPOUR; REDDY, 2017; NEGAHBAN et al., 2021; QUINN, 2017).

Adicionalmente, além de levar em conta os critérios utilizados para a validação dos modelos é importante que a interpretação dos dados em relação as características biológicas sejam levadas em consideração. Por exemplo, seria incorreto inferir que o modelo não linear Shi é adequado para a explicação dos efeitos da temperatura na taxa de desenvolvimento de *E. inaron*, uma vez que mesmo apresentando um bom ajuste, o valor encontrado para o limiar de temperatura inferior em Shi foi próximo ao valor encontrado no modelo linear testado. Dessa forma, o modelo Bayoh, além de ser adequado em relação aos critérios utilizados, também estimou valores consideravelmente reais em relação ao observado para parasitoides dessa família na literatura.

A constante térmica (K) observada neste estudo para *E. inaron* parasitando ninfas de *B. tabaci* foi de 417,7 graus dia, enquanto que para o mesmo parasitoide em ninfas de *N. andropogonis* foram necessários 305,4 dias para o completo desenvolvimento (MALEKMOHAMMADI; SHISHEHBOR; KOICHEILI, 2012). Para outra espécie do mesmo gênero, *E. bimaculata* sobre ninfas de *B. tabaci*, foi estimado 181,4 graus dia para o desenvolvimento completo sobre o limiar de temperatura inferior 11,6°C. Em relação ao limiar de temperatura inferior (T_0) assumido (Bayoh), o valor observado foi de 13,3°C, e quando parasitando outros hospedeiros, o limiar de temperatura inferior de *E. inaron* foi de 10,8°C em ninfas de *N. andropogonis* (MALEKMOHAMMADI; SHISHEHBOR; KOICHEILI, 2012), e de 10,1°C em ninfas de *S. phillyeae* (GOULD et al., 1995). Os limiares de temperatura superior (T_s), onde a temperatura extrapola o máximo suportado por *E. inaron* e causa morte e injúrias irreversíveis, e a ótima (T_{op}) onde o desenvolvimento é mais rápido, foram de 35,9 e 32,5°C, respectivamente. Os limiares estimados neste estudo para *E. inaron* apontam que o parasitoide possui alta eficiência biológica em regiões tropicais devido aos valores observados, o que pode contribuir diretamente no controle de *B. tabaci* no Brasil devido as condições ambientais do país. Em relação a essas estimativas, como os estudos com o mesmo parasitoide ou parasitoides da mesma família em geral utilizam modelos lineares para estimar as taxas de desenvolvimento, não é possível a comparação com os resultados observados no presente estudo, uma vez que modelos lineares não conseguem estimar os parâmetros mencionados. Entretanto, nos outros estudos foram calculados o aumento da taxa intrínseca de *E. inaron*, e sobre ninfas de *N. andropogonis* o melhor desenvolvimento ocorreu a 25°C, enquanto para *E. bimaculata* o mais desenvolvimento ocorreu a 29°C sobre ninfas de *B. tabaci*.

Entre os fatores envolvidos no desenvolvimento dos insetos a temperatura é a principal e define os processos biológicos e ecológicos mais importantes em todos os insetos (DAMOS; SAVOPOULOU-SOULTANI 2012), por isso e devido as condições climáticas encontradas em diferentes épocas do ano e também em diferentes regiões no país, as temperaturas testadas no trabalho (15 – 36°C) são relevantes para o entendimento das características de *E. inaron* de acordo com o ambiente a qual a espécie é exposta. Esses resultados ajudam encontrar as condições adequadas para a criação em massa do parasitoide, além disso, também permitem o começo do entendimento de como será o comportamento deste inimigo natural diante de

diferentes situações em campo, e como podemos aproveitar de forma correta o potencial do organismo no controle de *B. tabaci*.

REFERÊNCIAS

- BAYOH, M.N., LINDSAY, S.W. Effect of temperature on the development of the aquatic stages of *Anopheles gambiae* sensu stricto (Diptera: Culicidae). **Bulletin of entomological research**, Farnham Royal, v. 93, n. 5, p. 375-81, 2003. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/14641976/>. Acesso em: 05 nov. 2021.
- BRIERE, J. F.; *et al.* A novel rate model of temperature-dependent development for arthropods. **Environmental Entomology**, College Park, v. 28, p. 22–29, 1999. Disponível em: <https://academic.oup.com/ee/article/28/1/22/501436>. Acesso em: 05 nov. 2021.
- CAMPBELL, A.; *et al.* Temperature requirements of some aphids and their parasites. **Journal of Applied Ecology**, Oxford, v. 11, p. 431–438, 1974. Disponível em: <https://www.jstor.org/stable/2402197>. Acesso em: 05 nov. 2021.
- DAMOS, P., SAVOPOULOU-SOULTANI, M. Temperature-driven models for insect development and vital thermal requirements. **Psyche: A Journal of Entomology**, Cambridge, v. 2012, p. 1-13, 2012. Disponível em: <https://www.hindawi.com/journals/psyche/2012/123405/>. Acesso em: 05 nov. 2021.
- ELZHOV, T. V.; *et al.* minpack.lm: R Interface to the Levenberg-Marquardt Nonlinear Least-Squares Algorithm Found in MINPACK, Plus Support for Bounds. R package version 1.2-1, 2016.
- FURLONG, M. J.; ZALUCKI, M. P. Climate change and biological control: the consequences of increasing temperatures on host–parasitoid interactions. **Current Opinion in Insect Science**, Amsterdam v. 20, p. 39–44, 2017. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S221457451730038X>. Acesso em: 05 nov. 2021.
- GOULD, J.R., BELLOWS, T.S., PAINE, T.R. Preimaginal development, adult longevity and fecundity of *Encarsia inaron* (Hym: Aphelinidae) parasitizing *Siphoninus phillyreae* (Hom.: Aleyrodidae) in California. **Entomophaga**, Paris v. 40, p. 55-68, 1995. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007%2FBF02372681>. Acesso em: 05 nov. 2021.
- GULLAN, P.J., CRANSTON, P.S. **Desenvolvimento e ciclo dos insetos**. In: Gullan, P.J., Cranston, P.S. Insetos: Fundamentos da Entomologia. 5.ed. Roca, Rio de Janeiro, 2017, p. 117-137.
- HARUMOTO, T.; FUKATSU, T.; LEMAITRE, B. Common and unique strategies of male killing evolved in two distinct *Drosophila* symbionts. **Proceedings of the Royal Society**, Edimburgo, v. 285, p. 2-10, 2018. Disponível em: <https://royalsocietypublishing.org/doi/10.1098/rspb.2017.2167>. Acesso em: 05 nov. 2021.
- ILTIS, C.; *et al.* Are life-history traits equally affected by global warming? A case study combining a multi-trait approach with fine-grain climate modeling. **Journal of Insect**

Physiology, Oxford, v. 117, p. 1-10, 2019. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31344391/>. Acesso em: 05 nov. 2021.

KANG, Z. W.; *et al.* The potential coordination of the heat-shock proteins and antioxidant enzyme genes of *Aphidius gifuensis* in response to thermal stress. **Frontiers in Physiology**, Lausanne, v. 8, p. 1-12, 2017. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fphys.2017.00976/full>. Acesso em: 05 nov. 2021.

LACTIN, D. J.; *et al.* Improved rate model of temperature-dependent development by arthropods. **Environmental Entomology**, College Park, v. 24, 68–75, 1995. Disponível em: <https://academic.oup.com/ee/article-abstract/24/1/68/2394752>. Acesso em: 05 nov. 2021.

LIU, X.; *et al.* Role of TRP channels and HSPs in thermal stress response in the aphid parasitoid *Aphelinus asychis* (Hymenoptera: Aphelinidae). **Journal of Integrative Agriculture**, v. 19, n. 6, p. 1530–1542, 2020. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2095311919628698>. Acesso em: 05 nov. 2021.

LOGAN, J.; *et al.* An analytic model for description of temperature dependent rate phenomena in arthropods. **Environmental Entomology**, College Park, v. 5, p. 1133–1140, 1976. Disponível em: <https://academic.oup.com/ee/article/5/6/1133/2395882>. Acesso em: 05 nov. 2021.

MALEKMOHAMMADI, A.; SHISHEHBOR, P.; KOCHIL, F. Influence of constant temperatures on development, reproduction and life table parameters of *Encarsia inaron* (Hymenoptera: Aphelinidae) parasitizing *Neomaskellia andropogonis* (Hemiptera: Aleyrodidae). **Crop Protection**, Guildford, v. 34, p. 1-5, 2012. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0261219411003978>. Acesso em: 05 nov. 2021.

MANN, E. C. M.; *et al.* Transcriptome sequencing reveals novel candidate genes for *Cardinium hertigii*-caused cytoplasmic incompatibility and host-cell interaction. **mSystems**, Washington, v. 2, e00141-17, 2017. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29181449/>. Acesso em: 05 nov. 2021.

MATADHA, D.; HAMILTON, G. C.; LASHOMB, J. H. Effect of temperature on development, fecundity, and life table parameters of *Encarsia citrina* Craw (Hymenoptera: Aphelinidae), a parasitoid of *Euonymus* Scale, *Unaspis euonymi* (Comstock), and *Quadraspidiotus perniciosus* (Comstock) (Homoptera: Diaspididae). **Environmental Entomology**, College Park, v. 33, n. 5, p. 1185-1191, 2004. Disponível em: <https://academic.oup.com/ee/article/33/5/1185/354814?login=true>. Acesso em: 05 nov. 2021.

MIRHOSSEINI, M. A.; FATHIPOUR, Y.; REDDY, G. V. P. Arthropod development's response to temperature: a review and new software for modeling. **Annals of the Entomological Society of America**, College Park, v. 110, n. 6, p. 507–520, 2017. Disponível em: <https://academic.oup.com/aesa/article/110/6/507/4168773>. Acesso em: 05 nov. 2021.

NEGAHBAN, M.; *et al.* Response of *Trichogramma brassicae* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) to temperature: utilizing thermodynamic models to describe curvilinear development. **Crop Protection**, Guildford, v. 143, p. 1-9, 2021. Disponível em: www.researchgate.net/publication/348948951_Response_of_Trichogramma_brassicae_Hym_Trichogrammatidae_to_temperature_Utilizing_thermodynamic_models_to_describe_curvilinear_development. Acesso em: 05 nov. 2021.

OLIVEIRA, M. R. V.; *et al.* Natural Enemies of *Bemisia tabaci* (Gennadius) B Biotype and *Trialeurodes vaporariorum* (Westwood) (Hemiptera: Aleyrodidae) in Brasília, Brazil. **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 32, n. 1, p. 151-154, 2003. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/ne/a/cspqhXn5b6MzgvMNxTmrzjq/?lang=en>. Acesso em: 05 nov. 2021.

PARK, C.G.; SEO, B.Y.; CHOI, B.R. The temperature-dependent development of the parasitoid fly, *Exorista japonica* (Townsend) (Diptera: Tachinidae). **Korean Journal of Applied Entomology**, v. 55, p. 445–452, 2016. Disponível em: www.researchgate.net/publication/311966619_The_Temperature-Dependent_Development_of_the_Parasitoid_Fly_Exorista_Japonica_Townsend_Diptera_Tachinidae. Acesso em: 05 nov. 2021.

QIU, B. L.; *et al.* Effect of temperature on the life history of *Encarsia bimaculata* (Hymenoptera: Aphelinidae), a parasitoid of *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae). **European Journal of Entomology**, Branisovska, v. 103, p. 787–792, 2006. Disponível em: https://www.eje.cz/artkey/eje-200604-0013_Effect_of_temperature_on_the_life_history_of_Encarsia_bimaculata_Hymenoptera_Aphelinidae_a_parasitoid_of_Be.php. Acesso em: 05 nov. 2021.

QU, C.; *et al.* Lethal and sublethal effects of dinotefuran on two invasive whiteflies, *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae). **Journal of Asia-Pacific Entomology**, v. 2, p. 325–330, 2017. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S122686151630543X>. Acesso em: 05 nov. 2021.

QUINN, B. L. A critical review of the use and performance of different function types for modeling temperature-dependent development of arthropod larvae. **Journal of Thermal Biology**, Oxford, v. 63, p. 65-77, 2017. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0306456516301267>. Acesso em: 05 nov. 2021.

R Core Team. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing. Vienna, Austria, 2021. Disponível em: <https://www.R-project.org/>.

SHI, P.; *et al.* A simple model for describing the effect of temperature on insect developmental rate. **Journal of Asia-Pacific Entomology**, v.14, n. 1, p. 15-20, 2011. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1226861510001214>. Acesso em: 05 nov. 2021.

XU, W.H.; *et al.* Influence of temperature on the biology of *Encarsia formosa* parasitizing the whitefly *Bemisia tabaci*. **Chinese Journal of Biological Control**, v. 19, p. 103–106, 2003. Disponível em: https://en.cnki.com.cn/Article_en/CJFDTot-ZSWF200303002.htm. Acesso em: 05 nov. 2021.

CAPÍTULO 5

SELETIVIDADE DE PRODUTOS FITOSSANITÁRIOS AO PARASITOIDE DE *Encarsia inaron* (WALKER) (HYMENOPTERA: APHELINIDAE)

RESUMO

O uso de produtos fitossanitários é uma das ferramentas mais importantes no manejo de pragas e doenças, entretanto, apesar de causarem efeitos deletérios desejados na praga alvo, também podem impactar negativamente inimigos naturais presentes no ambiente. Para que esse efeito seja minimizado é importante entender como diversos produtos formulados podem agir em organismos benéficos por meio do estudo da seletividade. Por esse motivo, o objetivo deste estudo foi avaliar efeitos diretos de inseticidas e fungicidas utilizados em culturas hospedeiras de *Bemisia tabaci*, sobre o endoparasitoide de ninfas *Encarsia inaron*. O parasitoide foi exposto em fase adulta e fase de pupa, e os parâmetros avaliados foram mortalidade, viabilidade e longevidade. Os inseticidas utilizados foram ciantranilprole, sulfoxaflor, flupiradifurone + espiromesifeno, piriproxifen, acetamiprido, acefato, espiromesifeno, azadiractina, *Beauveria bassiana*, metaflumizone, tiametoxan + lamba-cialotrina, imidacloprido, teflubenzuron, e os fungicidas foram epoxiconazol + fluxapiroxade + piraclostrobina, bixafem + protioconazol + trifloxistrobina, mancozebe e oxicloreto de cobre. Em fase de pupa de forma geral os produtos tiveram menor impacto em relação a fase adulta, porém, os únicos ingredientes que apresentaram seletividade nesta fase foram azadiractina e metaflumizone, sendo que os demais apresentaram nocividade de leve a extrema. Para adultos de *E. inaron* os únicos ingredientes ativos seletivos foram os fungicidas bixafem + protioconazol + trifloxistrobina, mancozebe e oxicloreto de cobre, e os demais também apresentaram diferentes graus de nocividade. Os experimentos realizados no presente estudo constituem a primeira fase das três previstas para avaliação da seletividade de acordo com as normas da IOBC, por isso, para afirmar quais produtos são ou não seletivos são necessários estudos em ambiente protegido e em situação de campo. Até o momento, com os resultados obtidos aqui para *E. inaron*, de forma geral, a utilização da seletividade ecológica pode ser vantajosa para a integração das ferramentas de controle, para que ambos controles, químico e biológico, não entrem em contato no mesmo momento para que a efetividade de ambos não seja prejudicada e *E. inaron* possa exercer o parasitismo em ninfas de *B. tabaci*.

Palavras-chave: Manejo Integrado de Pragas (MIP); mosca-branca, *Bemisia tabaci*, sustentabilidade.

ABSTRACT

The use of phytosanitary products is one of the most important tools in the management of pests and diseases, however, despite causing desired deleterious effects on the target pest, they can also negatively affect natural enemies present in the environment. In order to minimize this effect, it is important to understand how formulated products can act on beneficial organisms through the study of selectivity. For this reason, the objective of this study was to evaluate the direct effects of insecticides and fungicides used in host cultures of *Bemisia tabaci*, on the endoparasitoid of nymphs *Encarsia inaron*. The parasitoid was exposed in adult and pupa stage, and the parameters evaluated were mortality, viability and longevity. The insecticides used were cyantraniliprole, sulfoxaflo, flupyradifurone + spiromesifen, pyriproxyfen, acetamiprid, acefate, spiromesifen, azadirachtin, *Beauveria bassiana*, metaflumizone, thiamethoxan + lambda-cyhalothrin, imidacloprido, teflubenzuron, and fungicides were epoxiconazol + fluxapyroxade + pyraclostrobin, bixafen + prothioconazol + trifloxystrobin, mancozeb and copper oxychloride. In the pupae stage in general, the products had less impact compared to the adult stage, however, the only ingredients that showed selectivity in this stage were azadirachtin and metaflumizone, and the others were slightly harmful to harmful. For adults of *E. inaron*, the only selective ingredients were the fungicides bixafen + prothioconazol + trifloxystrobin, mancozeb and copper oxychloride, and the others also presented different degrees of harmfulness. The experiments carried out in this study constitute the first phase of the three planned for the evaluation of selectivity in accordance with the IOBC standards. Therefore, in order to state which products are or are not selective, studies in a protected environment and in a field situation are necessary. For now, with the results obtained here for *E. inaron*, in general, the use of ecological selectivity can be advantageous for the integration of control tools, so that both chemical and biological controls do not come into contact at the same time for effectiveness of both is not harmed and *E. inaron* can exert the parasitism in *B. tabaci* nymphs.

Keywords: Integrated Pest Management (IPM); whitefly, *Bemisia tabaci*, sustainability.

5.1 INTRODUÇÃO

O controle da mosca-branca, *Bemisia tabaci* (GENNADIUS) (Hemiptera: Aleyrodidae) biótipo B ou Middle East-Asia Minor 1 (MEAM1), ocorre majoritariamente por meio da utilização de produtos fitossanitários (ŽANIC, 2018), deste modo, o controle químico é uma ferramenta importante nas culturas onde ocorre o ataque da praga. Apesar disso, com a utilização excessiva e o posicionamento incorreto, os produtos fitossanitários podem oferecer riscos e problemas de utilização, como por exemplo o desequilíbrio ambiental e a seleção de espécies resistentes (QU et al., 2017), além disso, esses produtos afetam não somente a praga como também a entomofauna benéfica, o que é ruim para o controle biológico natural que os inimigos naturais exercem em um ambiente equilibrado (MAC LOUGHLIN; PELUSO; MARINO, 2017).

Para que os efeitos da má utilização de produtos fitossanitários sejam minimizados é essencial que ocorra a adoção do Manejo Integrado de Pragas (MIP). O MIP preconiza a utilização em conjunto de diversas estratégias de controle de pragas, não somente o químico, mas o biológico, o comportamental, o genético, e todas as ferramentas que estiverem disponíveis (BUENO et al., 2017). Além disso, adicionalmente a adoção de diferentes táticas de manejo, outro ponto importante é a utilização de produtos seletivos a inimigos naturais. O ataque dos inimigos naturais constitui a fonte de mortalidade mais frequente para diversos insetos (CORNELL; HAWKINS, 1995), entretanto, muitas vezes a utilização inadequada de produtos fitossanitários impossibilitam a ação desses inimigos. O uso de produtos seletivos causa um impacto reduzido a todos os organismos dos sistemas, ou seja, estes produtos conseguem controlar a praga com sucesso e não possuem grandes efeitos nos inimigos naturais.

Para que um produto possa ser considerado seletivo, ou seja, para verificar a compatibilidade entre produtos químicos e agentes de controle biológico é necessário que a seletividade seja estudada (HASSAN, 1992). Por meio desses estudos é possível avaliar o grau de seletividade que cada produto possui em relação a um determinado inimigo natural, ou seja, é por meio dessas avaliações que surgem informações necessárias para a integração de diferentes táticas de manejo, no caso controle químico e controle biológico. Os métodos de avaliação possuem a padronização atribuída à “International Organization of Biological and Integrated

Control of Noxious Animal and Plants” (IOBC), sendo que essa organização tem o como objetivo reunir os dados obtidos pelos pesquisadores ao redor do mundo.

As pesquisas no Brasil sobre seletividade de químicos em diversas culturas crescem todos os anos e uma atenção especial é dada aos parasitoides de ovos (GIOLO et al., 2005), porém, avaliação do efeito de produtos fitossanitários sobre outras espécies também se faz necessário, como por exemplo, em inimigos naturais de *B. tabaci*, tendo em vista os problemas brevemente expostos e a necessidade de um manejo eficaz para esse inseto. Um dos organismos associados a esta praga é o parasitoide de ninfas *Encarsia inaron* (WALKER) (Hymenoptera: Aphelinidae), inimigo natural de inúmeras espécies de moscas-branca no mundo, inclusive no Brasil onde foi associado a *B. tabaci* em diversas culturas (OLIVEIRA et al., 2003). Ainda são poucos os estudos sobre seletividade envolvendo este organismo no país, dessa forma, objetivou-se avaliar o impacto de produtos fitossanitários utilizados no controle de *B. tabaci*, ou utilizados em culturas onde *B. tabaci* ocorre, sobre o inimigo natural *E. inaron*.

5.2 MATERIAL E MÉTODOS

Os bioensaios de seletividade foram realizados no laboratório do Grupo de Pesquisa em Manejo Integrado de Pragas na Agricultura (AGRIMIP), localizado no Departamento de Proteção Vegetal da Faculdade de Ciências Agronômicas (FCA), da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, UNESP, Campus de Botucatu, São Paulo. A metodologia utilizada em testes de seletividade é padronizada pela International Organization for Biological and Integrated Control of Noxious Animals and Plants/West Palearctic Regional Section (IOBC/WPRS), entretanto, devido ao inseto alvo se tratar de um parasitoide de ninfas, as quais necessitam do hospedeiro vegetal para sobreviver, a metodologia em questão necessitou de algumas modificações para se adequar ao objeto de estudo. De acordo com as normas da IOBC/WPRS os testes relacionados a seletividade devem ser realizados e três etapas, laboratório, casa de vegetação e campo, dessa forma, o presente estudo abordou apenas a primeira das etapas previstas.

A definição dos tratamentos, ou seja, os produtos utilizados nos testes (Tabela 1), foi realizada de acordo com levantamento dos principais inseticidas e fungicidas utilizados em culturas onde é recorrente a presença de *B. tabaci*, mesmo que os

produtos sejam destinados ao controle de outras pragas. As doses foram definidas conforme descrito em bula para o controle de *B. tabaci*, ou quando não registrado para a praga, foi definida de acordo com a cultura onde a mesma é comumente encontrada. Os parâmetros avaliados nos experimentos foram mortalidade, longevidade e viabilidade. A redução da capacidade benéfica do parasitoide foi calculada por meio da equação: $E (\%) = (100 - (\text{porcentagem média geral do tratamento} / \text{porcentagem média geral do tratamento testemunha}) \times 100)$, onde $E (\%)$ é a porcentagem de redução da capacidade benéfica do parasitoide (MANZONI et al., 2007; STERK et al., 1999). Todos os resultados foram submetidos a análise de variância (ANOVA) e as médias comparadas por teste de Tukey a 0,5%. Todas as etapas seguiram o delineamento experimental inteiramente casualizado (DIC).

Os produtos, correspondentes a cada tratamento, foram enquadrados de acordo com as normas da IOBC em: classe 1 – inócuo, quando $E < 30\%$; classe 2 – levemente nocivo, quando $30 \leq E \leq 79\%$; classe 3 – moderadamente nocivo, quando $80 \leq E \leq 99\%$; e classe 4, quando $E > 99\%$ (HASSAN, 1992).

Tabela 1 - Inseticidas e fungicidas selecionados para os testes de seletividade a *Encarsia inaron* (Hymenoptera: Aphelinidae)

Nome comercial	Ingrediente ativo (i.a)	Grupo químico	Sítio de ação¹	Dosagem	
				IA²	PC³
Classe Inseticida					
Benevia®	Ciantraniliprole	Diamida antranílica	Moduladores de receptores de rianodina	100 g/L	1250 mL
Closer®	Sulfoxaflor	Sulfoxaminas	Moduladores competitivos de receptores nicotínicos da acetilcolina	240 g/L	400 mL
Sivanto®	Flupiradifurone + Espiromesifeno	Butenolida + Derivados de ácido tetrônico e tetrâmico	Moduladores competitivos de receptores nicotínicos da acetilcolina + Inibidores da acetil CoA carboxilase	120 - 120 g/kg	1 L
Tiger®	Piriproxifem	Éter piridiloxipropílico	Mímicos do hormônio juvenil	100 g/L	250 mL
Mospilan®	Acetamiprido	Neonicotinoide	Moduladores competitivos de receptores nicotínicos da acetilcolina	200 g/kg	100 g
Orthene®	Acefato	Organofosforado	Inibidores da acetilcolinesterase	750 g/kg	0,50 kg
Oberon®	Espiromesifeno	Derivados de ácido tetrônico e tetrâmico	Inibidores da acetil CoA carboxilase	240 g/L	0,6 L
Azamax®	Azadiractina	Tetranortriterpenóide	Compostos com modo de ação desconhecido ou incerto	1 g/L	600 mL
Ecobass®	Beauveria bassiana	Produto microbiológico	Mecanismos múltiplos de ação	11 g/kg	750 g
Verismo®	Metaflumizone	Semicarbazonas	Bloqueadores de canais de sódio dependentes da voltagem	240g/L	1000 mL
Engeo Pleno S®	Tiametoxan + Lambda-cialotrina	Neonicotinoide + Piretroide	Moduladores competitivos de receptores nicotínicos da acetilcolina + Moduladores de canais de sódio	141 - 106g/L	250 mL
Warrant®	Imidacloprido	Neonicotinoide	Moduladores competitivos de receptores nicotínicos da acetilcolina	700g/kg	250 g
Nomolt®	Teflubenzuron	Benzoilureias	Inibidores da biossíntese de quitina	150g/L	150 mL
Classe Fungicida					
Ativum®	Epoxiconazol + Fluxapiroxade + Piraclostrobina	Triazol + Carboxamida + Estrobilurina	Biossíntese de esterol em membranas + Respiração + Respiração	50 - 50 - 81g/L	1000 mL
Fox Xpro®	Bixafem + Protiocanazol + Trifloxistrobina	Carboxamida + Triazolinthione + Estrobilurina	Respiração + Biossíntese de esterol em membranas + Respiração	125 - 175 - 150g/L	500 mL
Unizeb®	Mancozebe	Ditiocarbamato	Atividade de contato multissítio	750g/kg	3 kg
Status®	Oxicloreto de cobre	Inorgânico	Diversos	588g/L	1,5 L

¹Fonte: IRAC/BR (2021), FRAC/BR (2021); ²Concentração de i.a; ³Dosagem do produto por hectare

5.2.1 Testes em diferentes fases de desenvolvimento de *Encarsia inaron*

Os testes foram realizados em fase adulta e de pupa do parasitoide de ninfas *E. inaron*. Para os testes com adultos, ninfas parasitadas foram previamente separadas e após a emergência, foram individualizados em tubos de fundo chato previamente tratados com os produtos, para isso, antes da introdução do parasitoide foi realizado uma pulverização com auxílio de aerógrafo (10 psi) de acordo com as doses recomendadas em bula. Os tubos foram naturalmente secos e após secagem total os adultos foram inseridos.

Para os testes com fase de pupa de *E. inaron*, o alvo foi exposto aos tratamentos quando atingiu a referida fase no interior das ninfas de *B. tabaci*, para isso, ninfas parasitadas receberam pulverização direta dos tratamentos com auxílio de aerógrafo (10 psi). Após a secagem, as ninfas foram individualizadas em tubos de Duran para a avaliação de emergência, longevidade e redução de E%. Ambos os testes foram compostos por 18 tratamentos (Tabela 1 + água) e 20 repetições, sendo Orthene® e água testemunhas positiva e negativa, respectivamente.

5.3 RESULTADOS

Os produtos fitossanitários utilizados no estudo tiveram diferentes efeitos sobre *E. inaron* em fase adulta e fase de pupa (Tabelas 2 e 3). Foram classificados como inócuos ($E < 30\%$) os tratamentos Fox Xpro® (bixafem + protioconazol + trifloxistrobina), Unizeb® (mancozebe) e Status® (oxicloreto de cobre) (Tabela 2). O único tratamento classificado como levemente nocivo ($30 \leq E \leq 79\%$) foi o produto Verismo® (metaflumizone) (Tabela 2) e os tratamentos inseticidas Closer® (sulfoxaflor), Sivanto® (flupiradifurone + espiromesifeno), Tiger® (piriproxifem), Mospilan® (acetamiprido), Oberon® (espiromesifeno), Azamax® (azadiractina), Ecobass® (*Beauveria bassiana*), Engeo Pleno S® (tiametoxan + lambda-cialotrina), Nomolt® (teflubenzuron) e o fungicida Ativum® (epoxiconazol + fluxapiroxade + piraclostrobina) foram classificados como moderadamente nocivos ($80 \leq E \leq 99\%$) a *E. inaron* em fase adulta (Tabela 2). Os classificados como nocivos ($E > 99\%$) a fase adulta de *E. inaron* foram Benevia® (ciantraniliprole), Orthene® (acefato) e Warrant® (imidacloprido) (Tabela 2).

Tabela 2 – Seletividade de produtos fitossanitários ao parasitoide *Encarsia inaron* (Hymenoptera: Aphelinidae) em fase adulta. Temperatura 25±2°C, UR 70±10% e fotofase de 14 horas

Tratamento	Princípio ativo	M% (24h)	M% (48h)	M% (72h)	E%	Classe IOBC 24 h	Classe IOBC Geral
Testemunha negativa	Água destilada	0,0 ± 0,0a	0,0 ± 0,0a	0,0 ± 0,0a	0,0	-	-
Benevia®	Ciantranilprole	100 ± 0,0c	100 ± 0,0c	100 ± 0,0c	100,0	4	4
Closer®	Sulfoxaflor	95,0 ± 0,1c	100 ± 0,0c	100 ± 0,0c	98,3	3	3
Sivanto®	Flupiradifurone + Espiromesifeno	95,0 ± 0,1c	100 ± 0,0c	100 ± 0,0c	98,3	3	3
Tiger®	Piriproxfem	80,0 ± 0,1bc	92,3 ± 0,1c	100 ± 0,0c	90,8	3	3
Mospilan®	Acetamiprido	90,0 ± 0,1bc	100 ± 0,0c	100 ± 0,0c	96,7	3	3
Orthene®	Acefato	100 ± 0,0c	100 ± 0,0c	100 ± 0,0c	100,0	4	4
Oberon®	Espiromesifeno	95,0 ± 0,1c	100 ± 0,0c	100 ± 0,0c	98,3	3	3
Azamax®	Azadiractina	75,0 ± 0,1bc	84,6 ± 0,1c	92,3 ± 0,1c	84,0	2	3
Ecobass®	<i>Beauveria bassiana</i>	75,0 ± 0,1bc	100 ± 0,0c	100 ± 0,0c	91,7	2	3
Verismo®	Metaflumizone	65,0 ± 0,1c	85,0 ± 0,1c	85,0 ± 0,1c	78,3	3	3
Engeo Pleno S®	Tiametoxan + Lambda- cialotrina	90,0 ± 0,1bc	100,0 ± 0,0c	100 ± 0,1c	96,7	3	3
Warrant®	Imidacloprido	100 ± 0,0c	100 ± 0,0c	100 ± 0,0c	100,0	4	4
Nomolt®	Teflubenzuron	90,0 ± 0,1bc	90,0 ± 0,1c	100 ± 0,0c	93,3	3	3
Ativum®	Epoxiconazol + Fluxapiroxade + Piraclostrobina	80,0 ± 0,1bc	90,0 ± 0,1c	100 ± 0,0c	90,0	3	3
Fox Xpro®	Bixafem + Protioconazol + Trifloxistrobina	20,0 ± 0,1a	20,0 ± 0,1b	30,0 ± 0,1b	23,3	1	1
Unizeb®	Mancozebe	10,0 ± 0,1a	10,0 ± 0,1ab	25,0 ± 0,1b	15,0	1	1
Status®	Oxicloreto de cobre	0,0 ± 0,0a	0,0 ± 0a	0,0 ± 0,0a	0,0	1	1

Médias ± Erro Padrão seguidos pela mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey (0,5%). ¹M%: mortalidade corrigida (Abbott); ²Classificação dos produtos segundo IOBC: classe 1 - inócuo (E < 30%), classe 2 - levemente nocivo (30 ≤ E ≤ 79%), classe 3 - moderadamente nocivo (80 ≤ E ≤ 99%) e classe 4 - nocivo (E > 99%).

Quando exposto em fase de pupa, o resultado dos tratamentos foi diferente do observado em adultos. Nesse experimento os tratamentos nas doses utilizadas (Tabela 1) Azamax® (azadiractina) e Verismo® (metaflumizone) foram classificados como inócuos ($E < 30\%$) (Tabela 3). Os tratamentos compostos por produtos inseticidas, Benevia® (ciantraniliprole), Orthene® (acefato), Oberon® (espiromesifeno), Ecobass® (*Beauveria bassiana*), Warrant® (imidacloprido), Nomolt® (teflubenzuron) e os fungicidas Ativum® (epoxiconazol + fluxapiroxade + piraclostrobina), Fox Xpro® (bixafem + protioconazol + trifloxistrobina), Unizeb® (mancozebe), Status® (oxicloreto de cobre) foram todos classificados como levemente nocivos a *E. inaron* em fase de pupa ($30 \leq E \leq 79\%$) (Tabela 3). Os inseticidas Closer® (sulfoxaflor), Tiger® (piriproxifem) e Mospilan® (acetamiprido) foram classificados como moderadamente nocivos ($80 \leq E \leq 99\%$), e Sivanto® (flupiradifurone + espiromesifeno), Engeo Pleno S® (tiametoxan + lambda-cialotrina) como nocivo ($E > 99\%$) (Tabela 3).

Tabela 3 – Seletividade de produtos fitossanitários ao parasitoide *Encarsia inaron* (Hymenoptera: Aphelinidae) em fase de pupa. Temperatura $25 \pm 2^\circ\text{C}$, UR $70 \pm 10\%$ e fotofase de 14 horas

Tratamento	Princípio ativo	M% (24h) ¹	Classe ²
Água	Água destilada	$0,0 \pm 0,0a$	-
Benevia®	Ciantraniliprole	$64,3 \pm 0,0 bcde$	2
Closer®	Sulfoxaflor	$92,9 \pm 0,1de$	3
Sivanto®	Flupiradifurone + Espiromesifeno	$100,0 \pm 0,0e$	4
Tiger®	Piriproxifem	$85,7 \pm 0,1cde$	3
Mospilan®	Acetamiprido	$85,7 \pm 0,1cde$	3
Orthene®	Acefato	$42,9 \pm 0,1abc$	2
Oberon®	Espiromesifeno	$78,6 \pm 0,1bcde$	2
Azamax®	Azadiractina	$21,4 \pm 0,1ab$	1
Ecobass®	<i>Beauveria bassiana</i>	$35,7 \pm 0,1abc$	2
Verismo®	Metaflumizone	$13,3 \pm 0,1ab$	1
Engeo Pleno S®	Tiametoxan + Lambda-cialotrina	$100 \pm 0, 0 e$	4
Warrant®	Imidacloprido	$73,3 \pm 0,1bcde$	2
Nomolt®	Teflubenzuron	$46,7 \pm 0,1abcd$	2
Ativum®	Epoxiconazol + Fluxapiroxade + Piraclostrobina	$60,0 \pm 0,1abcde$	2
Fox Xpro®	Bixafem + Protioconazol + Trifloxistrobina	$60,0 \pm 0,1abcde$	2
Unizeb®	Mancozebe	$46,7 \pm 0,1abcd$	2
Status®	Oxicloreto de cobre	$53,3 \pm 0,1abcde$	2

Médias $\pm$ Erro Padrão seguidos pela mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey (0,5%). ¹M%: mortalidade corrigida (Abbott); ²Classificação dos produtos segundo IOBC: classe 1 - inócuo ($E < 30\%$), classe 2 - levemente nocivo ($30 \leq E \leq 79\%$), classe 3 - moderadamente nocivo ($80 \leq E \leq 99\%$) e classe 4 - nocivo ($E > 99\%$).

A mortalidade de *E. inaron* foi maior quando exposto em fase adulta em relação a fase de pupa (Figuras 1 e 2). Com exceção da testemunha positiva Orthene® (acefato), a maior mortalidade em adultos nas primeiras 24 horas foi observada nos tratamentos com inseticidas Benevia® (ciantraniliprole) e Warrant® (imidacloprido) (Figura 1) enquanto a maior mortalidade em pupas foi observada no tratamento com inseticida Sivanto® (flupiradifurone + espiromesifeno) (Figura 2). A menor mortalidade em adultos em 24 horas foi observada no tratamento com o fungicida Status® (oxicloreto de cobre) (Figura 1), enquanto a menor mortalidade em pupa ocorreu no tratamento com o inseticida Verismo® (metaflumizone) (Figura 2).

Figura 1 – Mortalidade de *Encarsia inaron* (Hymenoptera: Aphelinidae) quando exposto a produtos fitossanitários em fase adulta. Temperatura 25±2°C, UR 70±10% e fotofase de 14 horas

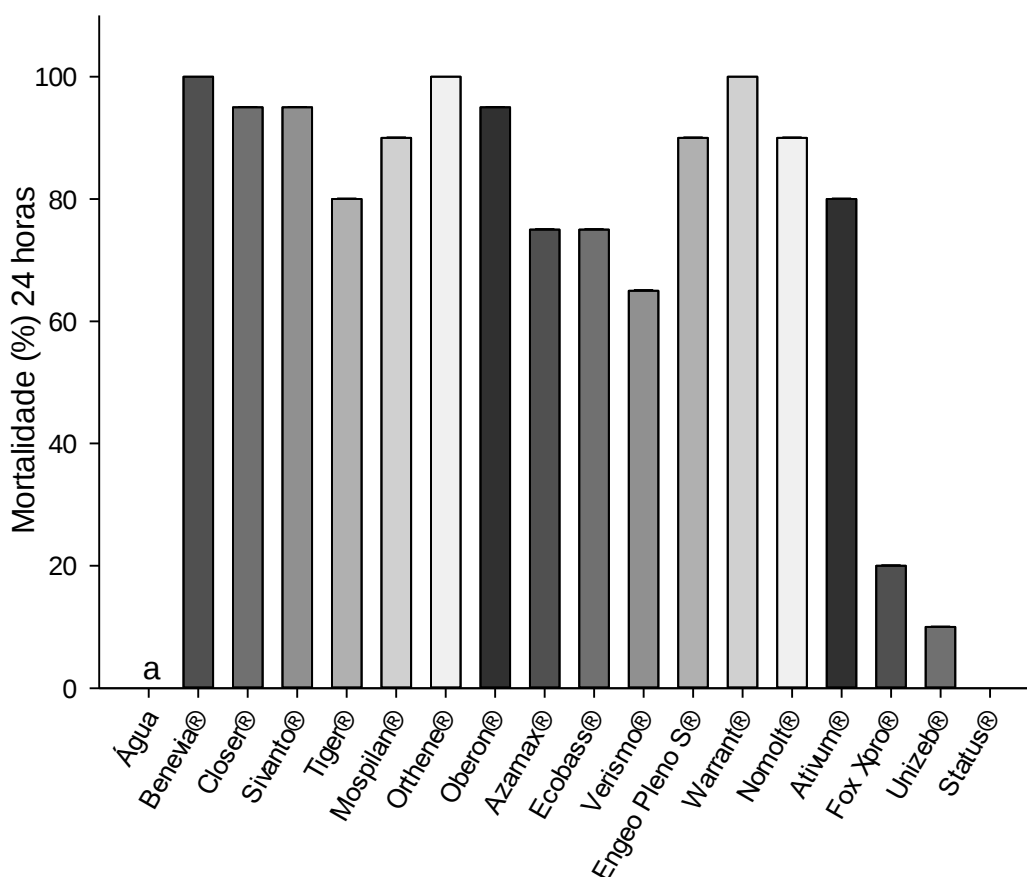
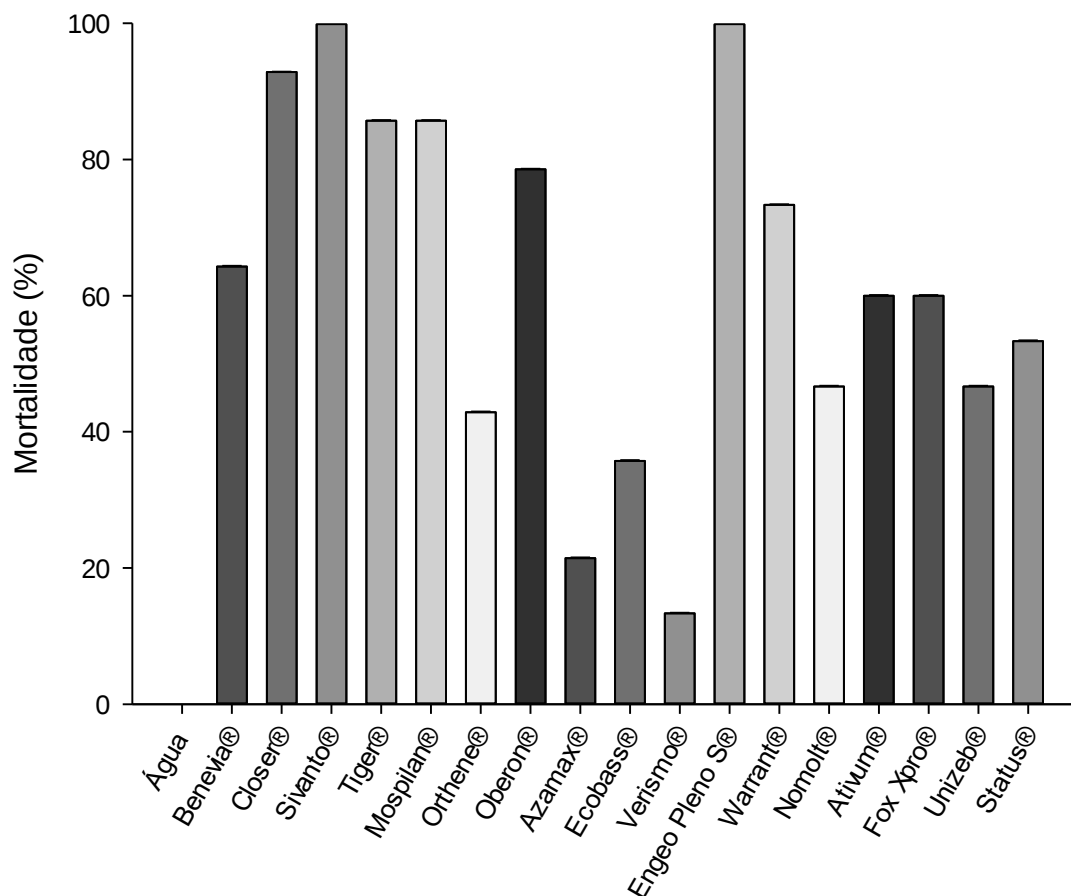
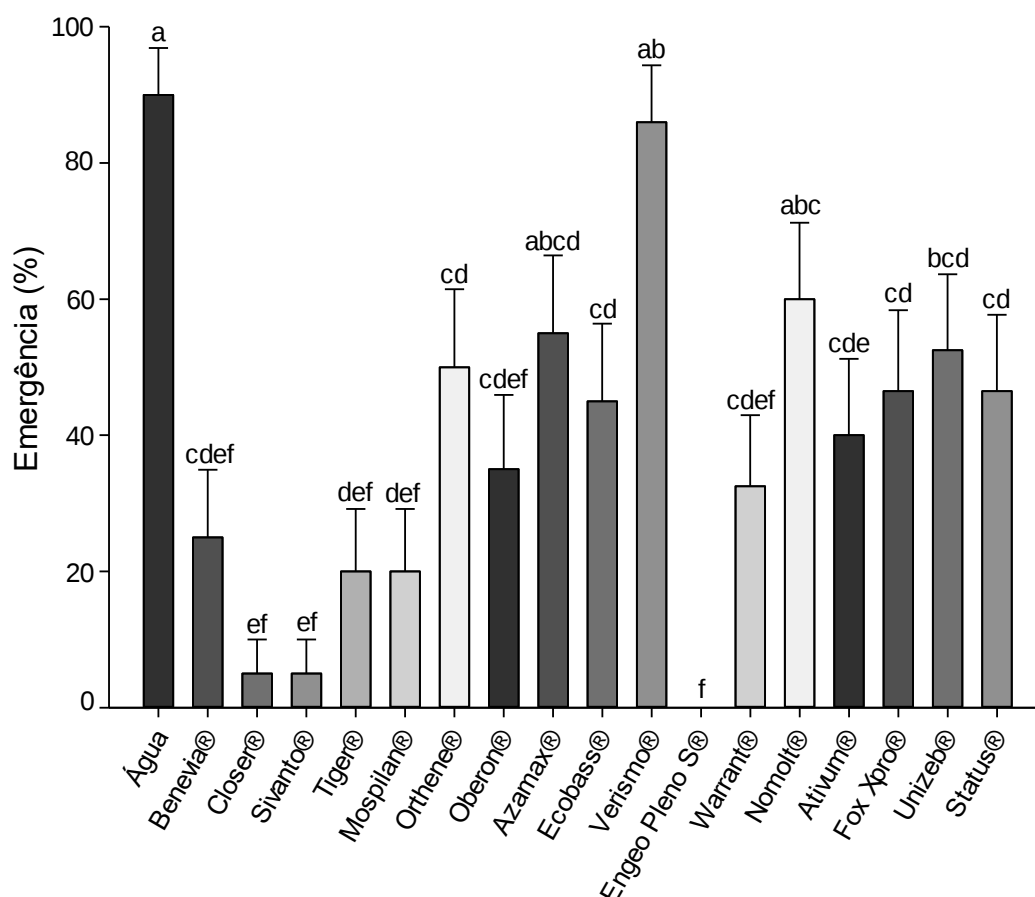


Figura 2 – Mortalidade de *Encarsia inaron* (Hymenoptera: Aphelinidae) quando exposto a produtos fitossanitários em fase de pupa. Temperatura 25±2°C, UR 70±10% e fotofase de 14 horas



Além da mortalidade, a viabilidade de adultos oriundos de pupas tratadas foi avaliada e o resultado pode ser observado na Figura 3. Com exceção do tratamento controle (água), a maior emergência foi observada em indivíduos tratados com o inseticida Verismo® (metaflumizone), e a menor emergência observada no tratamento com inseticida Engeo Pleno S® (tiametoxan + lambda-cialotrina) (Figura 3).

Figura 3 – Efeito dos tratamentos na emergência de *Encarsia inaron* (Hymenoptera: Aphelinidae) quando exposto a produtos fitossanitários em fase de pupa. Temperatura $25\pm 2^{\circ}\text{C}$, UR $70\pm 10\%$ e fotofase de 14 horas. Barras (médias $\pm$ erro padrão) acompanhadas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Kruskal-Wallis ($p < 0,05$)



Da mesma forma que a mortalidade, a longevidade de adultos foi menor quando comparado a fase de pupa de *E. inaron* (Figuras 4 e 5). De forma geral, os parasitoides em fase de pupa apresentaram longevidade maior que os adultos quando expostos aos tratamentos. A maior longevidade em adultos foi observada com o fungicida Status® (oxicloreto de cobre) (Figura 4), enquanto que a maior em pupas foi observada no tratamento com o inseticida Verismo® (metaflumizone) (Figura 5). Com exceção da testemunha positiva Orthene® (acefato), a menor longevidade em adultos foi observada nos inseticidas Benevia® (ciantraniliprole), e Warrant® (imidacloprido)

(Figura 4), enquanto em pupas ocorreu com o tratamento Engeo Pleno S® (tiametoxan + lambda-cialotrina) (Figura 5).

Figura 4 – Longevidade de *Encarsia inaron* (Hymenoptera: Aphelinidae) quando exposto a produtos fitossanitários em fase adulta. Temperatura 25±2°C, UR 70±10% e fotofase de 14 horas. Barras (médias ± erro padrão) acompanhadas pela mesma letra não diferem entre si teste de Kruskal-Wallis (p<0,05)

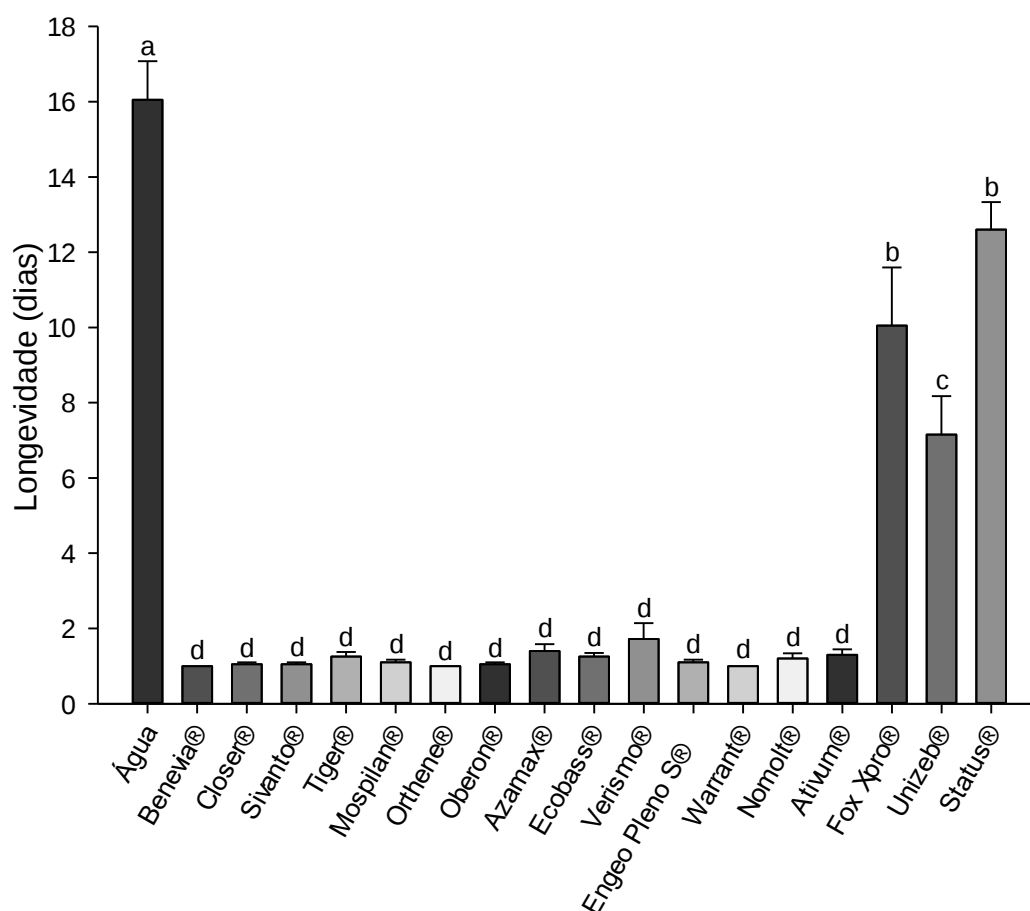
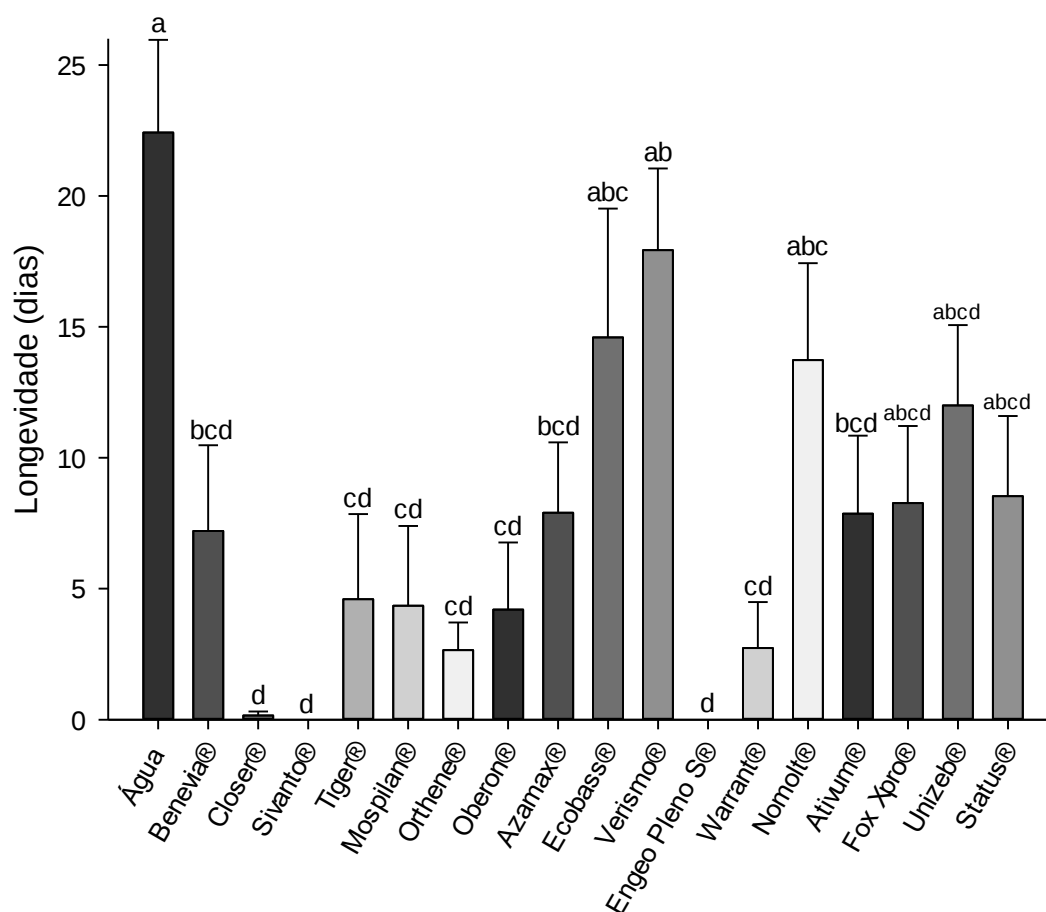


Figura 5 – Longevidade de *Encarsia inaron* (Hymenoptera: Aphelinidae) quando exposto a produtos fitossanitários em fase de pupa. Temperatura 25±2°C, UR 70±10% e fotofase de 14 horas. Barras (médias ± erro padrão) acompanhadas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Kruskal-Wallis (p<0,05)



5.4 DISCUSSÃO

O presente estudo fornece novos dados toxicológicos para os inseticidas e fungicidas utilizados sobre o inimigo natural *E. inaron*. De maneira geral, todos os produtos avaliados afetaram o parasitoide nos estágios de pupa e/ou adulto, embora tenham se manifestado em diferentes graus de toxicidade nas duas fases. A molécula inseticida escolhida como testemunha positiva no presente trabalho foi o acefato (Orthene®) devido a conhecida ação deletéria em inimigos naturais, entretanto, outros tratamentos foram de forma geral mais deletérios que a testemunha escolhida. Essas moléculas conseguem interromper a transmissão de impulsos nervosos quando se ligam a acetilcolinesterase, consequentemente levando o inseto a morte (IRAC, 2021). Isso é importante a fim de comparar o impacto de outras moléculas, uma vez que acefato é bastante estudada e têm impacto negativo comprovado, sendo de forma geral classificado como nocivo a inimigos naturais expostos em diferentes fases de

desenvolvimento devido à baixa seletividade e amplo espectro de ação (ZANTEDESCHI et al., 2018; WANG et al., 2019; RAKES et al., 2021).

Em relação a fase de pupa, os resultados observados neste estudo sobre a ação da azadiractina apontam que o composto possui a capacidade de penetrar a cutícula do hospedeiro e interromper o desenvolvimento de *E. inaron*, do mesmo modo que afeta o parasitoide *Eretmocerus mundus* Mercet (Hymenoptera: Aphelinidae) (FRANCESENA; SCHNEIDER, 2018). Entretanto, neste trabalho, a azadiractina não foi o tratamento mais agressivo em relação a *E. inaron* em fase de pupa, e possivelmente a diferença encontrada pode ser atribuída tanto a diferença entre espécies quando as de doses utilizadas em ambos os trabalhos. Sobre a diferença da ação entre espécies, alguns autores levantam a hipótese de que para alguns inimigos naturais esse composto se comporte mais como um repelente do que causador de mortalidade e outros efeitos (LUNA CRUZ et al., 2011). Apesar de não ter sido o pior tratamento em relação a mortalidade para indivíduos em fase de pupa, a longevidade destes foi afetada, o que mostra que não apenas efeitos diretos, mas como indiretos podem ser comprometidos por produtos fitossanitários. Sobre os efeitos em adultos, azadiractina foi mais tóxica, porém, não é possível inferir em qual sítio o composto atua neste inimigo natural uma vez que não é claro o modo de ação.

Nos tratamentos com neonicotinóides, os ingredientes ativos acetamiprido (Mospilan®) e imidacloprido (Warrant®), foram considerados tóxicos em ambos os estágios da *E. inaron* neste trabalho, o que está diretamente relacionado a ativação contínua dos receptores nicotínicos da acetilcolina, que faz com que ocorra a superexcitação no organismo do inseto, causando a morte (IRAC, 2021). A ação do acetamiprido observada neste trabalho é semelhante à observada para os parasitoides *E. mundus* (FRANCESENA; SCHNEIDER, 2018) e *Trichogramma chilonis* (Ishii) (Hymenoptera: Trichogrammatidae) (KHAN, 2019). Além disso, por meio dos resultados é possível a confirmação de que para *E. inaron* o imidacloprido reduz a emergência quando aplicado em fase de pupa (SOHRABI et al., 2012). É importante ressaltar que quando se trata de seletividade faz-se necessário o estudo de diversos produtos comerciais, ou seja, não é correto generalizar a ação de um ingrediente ativo, pois, na formulação de cada produto existem componentes que podem alterar o impacto causado em inimigos naturais. Porém, de forma geral o funcionamento é semelhante, e para neonicotinóides é comum que os efeitos

causados em parasitoides sejam de toxicidade significativa, principalmente em adultos (WANG et al., 2019).

Outro produto utilizado no estudo, além de possuir em sua composição um neonicotinoide (tiametoxan), também é composto por um piretroide (lambda-cialotrina). Os piretroides, assim como neonicotinoides, agem no sistema nervoso e muscular dos insetos e interferem na abertura e fechamento do canal de sódio, aumentando o tempo que estes íons entram nas células e consequentemente interrompendo a transmissão de impulsos nervosos e ocasionando em morte. A junção do modo de ação do tiametoxan e da lambda-cialotrina explica porque o produto comercial Engeo Pleno S® foi um dos mais tóxicos para *E. inaron* tanto em fase adulta como em fase de pupa. Tiametoxan também causa alta mortalidade no parasitoide de pulgões *Aphidius colemani* Viereck (Hymenoptera: Braconidae) (RICUPERO et al., 2020) e é classificado como nocivo aos parasitoides de ovos de percevejo *Telenomus podisi* (Ashmead 1893) e *Trissolcus basalis* (Wollaston 1858) (Hymenoptera: Platygasteridae) (ZANTEDESCHI et al., 2019).

As diamidas são moléculas moduladoras de receptores de rianodina no sistema nervoso dos insetos (IRAC, 2021), e no presente estudo a testada foi ciantraniliprole (Benevia®), que foi considerado levemente nocivo a fase de pupa, podem nocivo a fase adulta de *E. inaron*, apontando que a primeira fase tolera melhor os efeitos desse inseticida, assim como ocorre com *Encarsia formosa* Gahan (Hymenoptera: Aphelinidae), para qual ciantraniliprole é nocivo a fase adulta e levemente nocivo a fase de pupa do parasitoide (WANG et al., 2019).

O produto utilizado pertencente ao grupo químico sulfoxaflor foi Closer®, que, assim como ciantraniliprole, é amplamente utilizado no controle de *B. tabaci*. Ambos os ingredientes ativos (sulfoxaflor e ciantraniliprole) são inseticidas sistêmicos modernos e eficazes no controle de adultos e imaturos de mosca-branca. Entretanto, como o encontrado neste estudo, sulfoxaflor é consideravelmente tóxico a *E. inaron*, assim como é para *E. formosa* (WANG et al., 2019), e para o parasitoide de cochonilhas *Aenasius arizonensis* (Girault) (Hymenoptera: Encyrtidae), no qual a molécula foi classificada como nociva em relação a emergência de adultos (KARMAKAR; SHERA, 2018). Em contraste a molécula é considerada inócua ao ácaro predador de mosca-branca *Amblyseius swirskii* Athias-Henriot (Acari: Phytoseiidae) (FERNÁNDEZ et al., 2017), apontando que essa ferramenta quando

usada corretamente, além de ser eficaz no controle de *B. tabaci*, também pode ser aliada a alguns inimigos naturais.

O produto Verismo® tem como componente o ingrediente ativo metaflumizone, que atua como bloqueador de canais de sódio dependentes da voltagem, para isso, se liga aos poros de canais abertos enquanto a membrana está despolarizada e bloqueia esses canais, interrompendo a transmissão dos impulsos e matando o inseto por paralisia. Em geral, inseticidas que agem no sistema nervoso e muscular dos insetos são classificados como tóxicos, o que ocorreu com *E. inaron* em fase adulta, consequentemente pelo modo de ação de amplo espectro desta molécula, resultado semelhante ao encontrado para os inimigos naturais *Nesidiocoris tenuis* (Reuter) (Hemiptera: Miridae) e *Macrolophus basicornis* (Stal) (Heteroptera: Miridae) (WANUMEN et al., 2016). Entretanto, o mesmo tratamento foi classificado como inócuo para o parasitoide em fase de pupa, o que pode ser consequência tanto da proteção conferida pela estrutura da ninfa de *B. tabaci*, na qual a pupa fica localizada, como pelo fato de que metaflumizone em comparação a outros inseticidas, é mais ativado através da ingestão e possui propriedades translaminar moderadas (TOMLIN 2009), desse modo, talvez pelo tamanho a molécula não tenha conseguido atravessar a cutícula de *B. tabaci* até chegar no indivíduo de *E. inaron*.

O produto com ingrediente ativo piriproxifen (Tiger®) atua no crescimento e desenvolvimento dos insetos, especificamente agindo como mímicos do hormônio juvenil (IRAC, 2021), e teve impacto tanto na fase adulta como na fase de pupa, diminuindo a viabilidade e também a longevidade de *E. inaron*, semelhante ao observado para *E. mundus* que também apresentou redução na emergência e a sobrevivência de adultos oriundos de pupas previamente tratadas com piriproxifen (FRANCESENA; SCHNEIDER, 2018). Na fase de pupa esses resultados são consequência do modo de ação, já que o inseticida imita o hormônio juvenil, e pode causar interrupção na metamorfose, além de possível má-formação em adultos (SOHRABI et al., 2013). Em contraste, para *E. formosa*, piriproxifen foi inofensivo para adultos, porém, foi prejudicial para formas jovens do parasitoide, como o ocorrido no presente trabalho (WANG et al., 2019).

Outra molécula com ação no crescimento e desenvolvimento, testada no presente trabalho, foi espiromesifeno sozinha (Oberon®) e em conjunto com flupiradifurone (Sivanto®). A ação do espiromesifeno é como inibidor da acetil CoA carboxilase que interrompe a biossíntese de lipídios (IRAC, 2021). Devido ao modo

de ação essa molécula normalmente é classificada como levemente nociva a inimigos naturais, como por exemplo a *T. chilonis* (KHAN, 2019) para o qual não foi responsável por alta mortalidade, entretanto, para *A. arizonensis* espiromesifeno não foi considerado inócuo para adultos da espécie (KARMAKAR; SHERA, 2018), o que é semelhante ao encontrado neste trabalho, já que molécula foi tóxica em ambas as fases de *E. inaron*. A diferença dos resultados pode estar relacionada às características fisiológicas de cada espécie, o que pode tornar uma mais tolerante a outra em relação a efeitos de produtos fitossanitários. Além disso, o modo de exposição aos tratamentos também pode ser o responsável pelas diferentes respostas obtidas, em adição, além da molécula inseticida, outros componentes presentes em cada produto formulado podem ser responsáveis pela mortalidade observada.

Ainda sobre espiromesifeno, a fase de pupa suportou melhor a ação o produto, o que mostra novamente que a ninfa de *B. tabaci* funciona como uma barreira contra a ação de produtos fitossanitários, entretanto, não foi suficiente para que não atingisse e afetasse *E. inaron*. O outro produto testado com essa molécula foi Sivanto®, que é a mistura com flupiradifurone, molécula que age no sistema nervoso e muscular como modulador competitivo de receptores nicotínicos da acetilcolina (IRAC, 2021). A soma dos efeitos dessas duas moléculas não aumentou a toxicidade observada em adultos, porém, o efeito foi maior em relação a fase de pupa, dessa forma, comparando os dois produtos aqui descritos, pode-se inferir que o maior impacto em fase de pupa foi causado por flupiradifurone, e que a barreira exercida pela ninfa de *B. tabaci* foi ineficaz.

Outra molécula utilizada no estudo com ação no crescimento e desenvolvimento foi teflubenzuron (Nomolt®) que pertence ao grupo das benzoiluréia, responsáveis pela inibição da biossíntese de quitina em Lepidoptera (IRAC, 2021). Produtos que atuam neste este sítio de ação podem ser encontrados na literatura como inócuos ou levemente nocivos a inimigos naturais devido ao modo de ação, entretanto no presente estudo o tratamento apesar de variar o grau de nocividade, não apresentou seletividade a *E. inaron*. Além disso, produtos reguladores de crescimento afetam de forma mais significativa estágios imaturos dos insetos, como o observado no predador *Podisus nigrispinus* (Dallas) (Hemiptera: Pentatomidae) (STECCA et al., 2017), onde a molécula foi classificada como nociva a ninfas do inseto, mas levemente nociva a adultos, enquanto que para *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae) foi classificada como moderadamente

nociva em relação a emergência de pupas tratadas, porém inócua em relação a mortalidade de adultos (FELTRIN-CAMPOS et al., 2019), resultado este contrastante com o observado no presente estudo. Apesar do maior impacto em formas juvenis, outros efeitos podem ocorrer na fase adulta, como por exemplo, o efeito transovariano em algumas espécies (PRATISSOLI et al., 2004). Além da mortalidade observada no presente estudo, o tratamento com teflubenzuron também diminuiu a longevidade de indivíduos expostos em fase adulta e em fase de pupa, assim como o ocorrido com *T. pretiosum*, onde teflubenzuron apesar de não apresentar toxicidade aguda reduziu a longevidade da espécie (PAIVA et al., 2021).

Em contraste com os exemplos citados acima, para o parasitoide *T. podisi*, teflubenzuron é seletivo para ambas as fases de pupa e adulto da espécie (STECCA et al., 2018), o que mostra que além de fatores como diferença de doses, tipos de exposição e outros, os efeitos também podem ser diferentes de espécie para espécie, não apenas para teflubenzuron como também para todos os produtos testados no trabalho.

Inseticidas formulados a partir de agentes microbiológicos como *Beauveria bassiana* são geralmente classificados como inócuos ou levemente nocivos a inimigos naturais, o que foi observado para *E. inaron* em fase de pupa, entretanto, o tratamento foi mais tóxico a adultos. A longevidade, assim como nos demais tratamentos diminuiu em ambas as fases do parasitoide, porém o maior impacto foi em indivíduos adultos, assim como ocorre com *E. formosa* (DROBNJAKOVIĆ et al., 2019), o que aponta que nessa fase ambos os parasitoides são consideravelmente mais suscetíveis em relação ao estágio de pupa. Para o parasitoide de ovos *Cleruchoides noackae* Lin & Huber (Hymenoptera: Mymaridae), *B. bassiana* foi levemente nocivo em fase adulta, resultado que pode ser associado à produção de metabólitos secundários, como os ácidos orgânicos envolvidos no processo de infecção e toxinas como a beauvericina (DOMINGUES et al., 2020).

Os resultados de diferentes graus de toxicidade encontrados podem estar associados a formulação do produto biológico, uma vez que os componentes presentes nesses produtos têm como objetivo proteger o agente biológico de fatores abióticos como condições climáticas, e podem ser responsáveis pelos danos negativos encontrados em inimigos naturais. Outros fatores que são associados aos efeitos de *B. bassiana* a inimigos naturais são tempo de aplicação, a linhagem do inimigo natural e fatores abióticos envolvidos como umidade. Todos esses pontos

citados podem aumentar ou diminuir o impacto em agentes de controle biológico, por esse motivo, os casos precisam ser estudados isoladamente. Com esses dados, pode-se inferir que mesmo se tratando de um produto biológico, é importante que ocorra um intervalo entre a utilização desse tipo de produto e a liberação de agentes de controle biológico, uma vez que esse intervalo pode permitir a sobrevivência desses organismos no ambiente.

Ao contrário do o ocorrido com a maioria dos inseticidas testados, os fungicidas em geral tiveram maior impacto em pupas em relação a adultos. Assim como inseticidas biológicos, os fungicidas geralmente são menos tóxicos ou não tóxicos a inimigos naturais quando comparados a outros produtos formulados como piretroides e organofosforados, entretanto, alguns podem apresentar efeitos diretos ou indiretos em inimigos naturais diversos. O fungicida Fox Xpro® impactou nas pupas, porém foi inócuo aos adultos, entretanto, como se trata de uma mistura de três ingredientes ativos é incorreto inferir qual destes foi responsável pelo efeito em pupas, sendo necessário o estudo das moléculas isoladas, dessa forma, atribuímos o efeito a mistura até a realização de mais estudos. Provavelmente a ação em pupas se deu pela capacidade de deslocamento do produto até o interior da ninfa de *B. tabaci* e possível alimentação de *E. inaron*. Assim como neste estudo, os ingredientes ativos trifloxistrobina + protioconazol, presentes no fungicida Fox Xpro® (+bixafem), foram classificados como inócuos ao parasitoide *T. podisi* (PAZINI et al., 2017) e levemente nocivo a *T. basalis* (ZANTEDESCHI et al., 2018) e também a *T. pretiosum* (MAGANO et al., 2015). A ação isolada de bixafem necessita de melhor investigação.

Ainda em relação aos fungicidas, assim como observado para *E. inaron*, as moléculas fungicidas epoxiconazol + piraclostrobina, presentes no produto Ativum® (+fluxapiroxada) foram classificadas como levemente nocivas à *T. pretiosum*, entretanto, quando separada a molécula piraclostrobina foi classificada como inócua (MAGANO et al., 2015). Ativum® no presente trabalho foi o único fungicida que impactou em *E. inaron* em fase adulta, com a toxicidade semelhante à observada em inseticidas de amplo espectro testadas no trabalho. Este resultado pode ser consequência da mistura dos três ingredientes ativos presentes na formulação, principalmente da mistura entre um triazol e uma estrobilurina, que podem ter efeitos adversos em parasitoides. O ingrediente ativo fluxapiroxade foi lançado no ano de 2010 e pertence a um grupo consideravelmente novo de fungicidas, por esse motivo, os trabalhos envolvendo a seletividade dessa molécula são escassos, e como neste

trabalho foi testado em mistura, não é correto inferir que o maior ou menor efeito de Ativum® é consequência desta ou da ação das três utilizadas na formulação, desse modo, estudos com a ação isolada em *E. inaron*, são necessários.

Produtos à base de cobre são importantes e utilizados por fazendeiros há muitos anos no controle de doenças em diversas culturas. Esses produtos apresentam resultados diferentes de acordo com as espécies de inimigos naturais testadas, como por exemplo, o oxiclreto de cobre não apresenta efeitos deletérios sobre o parasitoide *Psytalia concolor* (Szepligeti) (Hymenoptera: Braconidae) em fase adulta e de pupa (BENGOCHEA et al., 2014), o que contrasta com o presente trabalho onde o produto apesar de inócuo a fase adulta, foi considerado levemente nocivo a fase de pupa, o que pode indicar a capacidade de penetração pela ninfa de *B. tabaci*, além disso, oxiclreto de cobre possui atividade bactericida conhecida, o que pode ter atuado nas bactérias endossimbiontes necessárias no desenvolvimento larval, causando a morte das pupas (ROSI et al. 2007).

O mancozebe (Unizeb®), assim como produtos à base de cobre como o citado acima, também é importante para produtores no controle de doenças em muitas culturas, principalmente por possuir ação multissítio e ajudar no manejo de resistência de organismos causadores de doenças. Para *E. inaron* adulto, o produto não apresentou grandes efeitos negativos, assim como em *Trichogramma atopovirilia* (Oatman & Platner) (Hymenoptera: Trichogrammatidae) para o qual o fungicida é considerado inócuo (Pratissoli et al., 2010), entretanto em fase de pupa o produto foi levemente nocivo a *E. inaron*, o que pode ter ocorrido pela ingestão do produto que possivelmente se deslocou para o interior da ninfa de *B. tabaci*, enquanto em adultos não ocorreu a digestão devido ao tipo de exposição. De acordo com a IOBC, no geral, mancozebe mostra ter baixa ou nenhuma toxicidade para inimigos naturais em diversas ordens (JANSEN, 2014; MILES, 2006), e por isso se torna aliado em relação ao manejo integrado de pragas. Entretanto, assim como o observado para pupas de *E. inaron*, mancozebe não foi seletivo ao parasitoide da mesma família *Aphytis melinus* (DeBach) (Hymenoptera Aphelinidae) (GONZALEZ-ZAMORA; CASTILLO; AVILLA, 2013), o que ressalta mais uma vez a importância dos testes em cada espécie de inimigo natural, uma vez que cada uma pode ter reações diferentes aos mesmos produtos e doses.

Ainda em relação aos fungicidas, mesmo quando são considerados inócuos a inimigos naturais podem causar problemas em relação a entomofauna benéfica, como

a redução de bactérias e fungos em flores. A redução destes microrganismos pode diminuir a qualidade do néctar que serve como alimento para inimigos naturais no ambiente, conseqüentemente afetando a sobrevivência destes (SCHAEFFER et al., 2017), e esse fato é importante tendo em vista a necessidade da utilização desses produtos no controle de doenças com as quais os produtores não podem se tranquilizar caso não queiram grandes prejuízos econômicos, como por exemplo, a ferrugem asiática causada pelo fungo *Phakopsora pachyrhizi* (Sydow & Sydow), responsável por grandes quantidades de pulverização na soja.

Sobre os resultados de forma gera, como discutido na maioria dos tratamentos acima, uma das maiores diferenças nos resultados deste experimento é relacionada ao estágio de desenvolvimento de *E. inaron*. Com algumas exceções, como ocorreu com os fungicidas, o adulto foi mais afetado em relação a fase ninfa. Os resultados observados no estudo não diferem nesse quesito de outros encontrados na literatura, tendo em vista que o menor grau de nocividade observado pode ser explicado devido as condições de proteção do parasitoide em fase de pupa, pois, durante essa fase o mesmo se encontra protegido pela estrutura da ninfa, que funciona como uma barreira contra a ação de produtos fitossanitários em geral, fazendo com que essa fase do parasitoide tolere melhor a ação de alguns dos tratamentos, assim como ocorre com parasitoides de ovos, além disso, pode ser que assim como o córion dos ovos, a estrutura da ninfa torne difícil a penetração de moléculas grandes, o que protege a pupa contra produtos com essa característica (HASSAN, 1992; STECCA et al., 2016).

Além disso, a diferença observada na ação de produtos fitossanitários a *E. inaron* e a outros inimigos naturais pode ser explicada por outros motivos como a características de cada espécie relacionadas a composição química e a estrutura da cutícula, a diferença em relação a metabolismo, comportamento, tamanho e características biológicas (BUENO et al., 2017), e mais afundo, além da influência específica de cada espécie, é possível que diferentes linhagens também possuam tolerâncias diferentes a produtos fitossanitários (CARVALHO; PARRA; BAPTISTA, 2001).

A tolerância de *E. inaron* a alguns produtos testados também pode ser consequência da ação de enzimas de degradação (RIGITANO; CARVALHO, 2001), capacidade de metabolização das moléculas (FERNANDES et al., 2010), e/ou por outros mecanismos ainda desconhecidos. Em relação a degradação, assim como a resistência de espécies pragas como *B. tabaci* (ULUSOY, 2021), enzimas do

citocromo P450 estão envolvidas na detoxificação de moléculas inseticidas, que são convertidas em metabolitos os quais os insetos são capazes de eliminar através da excreção. No parasitoide *Meteorus pulchricornis* (Wesmael) (Hymenoptera: Braconidae) foram identificados e silenciados genes responsáveis por enzimas do P450, e após o silenciamento a espécie foi mais afetada pela ação de produtos fitossanitários em relação a população controle (XING et al., 2021), o que aponta a importância das P450s em relação a seletividade fisiológica de inimigos naturais. Entretanto, apesar de ser conhecido que P450s estão na linha de frente na tolerância a químicos (BUENO et al. 2017), estudos em inimigos naturais ainda estão em desenvolvimento devido à maior importância no entendimento e controle da resistência em insetos praga.

Outro fator que pode influenciar nos diferentes resultados em diversas espécies é relacionado a características biológicas e fisiológicas do hospedeiro, por exemplo, um mesmo inimigo natural em diferentes hospedeiros poder ser mais ou menos tolerantes a diferentes produtos químicos (PRATISSOLI et al., 2009), o que indica que os mesmos produtos utilizados neste experimento poderiam ter efeitos adversos se o hospedeiro fosse outro ao invés de *B. tabaci*. Todos esses pontos levantados acima podem explicar os resultados observados, porém, estudos mais específicos são necessários.

Os resultados encontrados neste trabalho são importantes pois apresentam uma possibilidade de integração de métodos de controle, entretanto, de acordo com os protocolos preconizados pela IOBC, os testes em condições de laboratório constituem a primeira fase da avaliação da seletividade de produtos fitossanitários, sendo que testes em casas de vegetação e a campo são necessários para o veredito da nocividade de um determinado produto, uma vez que em condições de laboratório a exposição dos inimigos naturais é a máxima possível e não condiz com o que ocorre em condições de semi-campo e campo. Entretanto, com os resultados disponíveis no momento, como os produtos em geral não foram seletivos a ambas as fases de *E. inaron* é importante que a integração seja realizada de forma a minimizar os impactos dos produtos neste inimigo natural de acordo com a fase escolhida para liberação, e isso pode ser alcançado por meio da utilização da seletividade ecológica, que é relacionada as diferenças comportamentais entre praga e inimigo natural o (RIPPER; GREENSLADE; HARTEY, 1951), e no caso do experimento em questão pode ser alcançada por meio do manejo de janelas de aplicação de ambas as ferramentas, para

que dessa forma uma não ocorra no mesmo período que a outra e não sejam inviabilizadas. Adicionalmente, além da possibilidade da seletividade ecológica, há também a possibilidade do manejo de doses para que os impactos sob o parasitoide sejam reduzidos, uma vez que todos os tratamentos foram realizados com a dose máxima recomendada em bula.

REFERÊNCIAS

BENGOCHEA, P.; *et al.* Are kaolin and copper treatments safe to the olive fruit fly parasitoid *Psytalia concolor*? **Journal of Pest Science**, v. 87, p. 351–359, 2013. Disponível em: Acesso em: 07 nov. 2021.

BUENO, A.F.; *et al.* Pesticide selectivity to natural enemies: challenges and constraints for research and field recommendation. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 47, n. 6, p. 1-10, 2017. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/cr/a/6pDsKxHL3MkgWWZ3jSVTY5w/abstract/?lang=en>. Acesso em: 07 nov. 2021.

CARVALHO, G.A.; PARRA, J. R. P.; BAPTISTA, R. C. Selectivity of some pesticides to two strains of *Trichogramma pretiosum* Riley, 1879 (Hymenoptera: Trichogrammatidae). **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.25, p. 583-591, 2001. Disponível em: https://www.researchgate.net/profile/Geraldo-Carvalho/publication/228834008_Seletividade_de_alguns_produtos_fitossanitarios_a_duas_linhagens_de_Trichogramma_pretiosum_Riley_1879_Hymenoptera_Trichogrammatidae/links/00b7d53c308a550808000000/Seletividade-de-alguns-produtos-fitossanitarios-a-duas-linhagens-de-Trichogramma-pretiosum-Riley-1879-Hymenoptera-Trichogrammatidae.pdf. Acesso em: 07 nov. 2021.

CORNELL, H. V.; HAWKINS, B. A. Survival patterns and mortality sources of herbivorous insects: some demographic trends. **The American Naturalist**, Chicago, v. 145, n. 4, p. 563–593, 1995. Disponível em: <https://www.jstor.org/stable/2462969>. Acesso em: 07 nov. 2021.

DOMINGUES, M. M.; *et al.* Selectivity of mycoinsecticides and a pyrethroid to the egg parasitoid *Cleruchoides noackae* (Hymenoptera: Mymaridae). **Scientific Reports**, Londres, v. 10:14617, 2020. Disponível em: Acesso em: 07 nov. 2021.

DROBNJAKOVIĆ, T.; *et al.* Sublethal effects of a *Beauveria bassiana*-based mycopesticide on Dutch and Serbian populations of *Encarsia formosa* (Hymenoptera: Aphelinidae). **Biocontrol Science and Technology**, Oxford, v. 29, p. 1-18, 2019. Disponível em: www.researchgate.net/publication/334037895_Sublethal_effects_of_a_Beauveria_bassiana_-based_mycopesticide_on_Dutch_and_Serbian_populations_of_Encarsia_formosa_Hymenoptera_Aphelinidae. Acesso em: 07 nov. 2021.

FELTRIN-CAMPOS, E.; *et al.* Selectivity of insecticides against adult *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae) on cassava. **Journal of Agricultural Science**, Ottawa, v. 11, n. 1, p. 546-552, 2019. Disponível em: <https://ccsenet.org/journal/index.php/jas/article/view/0/37815>. Acesso em: 07 nov. 2021.

FERNÁNDEZ, M. M.; *et al.* Compatibility of sulfoxaflor and other modern pesticides with adults of the predatory mite *Amblyseius swirskii*. Residual contact and persistence studies. **BioControl**, Dordrecht, v. 62, p. 197-208, 2017. Disponível em:

<https://link.springer.com/article/10.1007/s10526-017-9784-1>. Acesso em: 07 nov. 2021.

FRANCESENA, N.; SCHNEIDER, M. I. Selectivity assessment of two biorational insecticides, azadirachtin and pyriproxyfen, in comparison to a neonicotinoid, acetamiprid, on pupae and adults of a Neotropical strain *Eretmocerus mundus* Mercet. **Chemosphere**, Oxford, v. 206, p. 349-358, 2018. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29754059/>. Acesso em: 07 nov. 2021.

GALVAN, T. L.; KOCH, R. L.; HUTCHISON, W. D. Toxicity of indoxacarb and spinosad to the multicolored Asian lady beetle, *Harmonia axyridis* (Coleoptera: Coccinellidae), via three routes of exposure. **Pest Management Science**, Sussex, v. 62, n. 9, p. 797–804, 2006. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16794989/>. Acesso em: 07 nov. 2021.

GONZALEZ-ZAMORA, J. E.; CASTILLO, M. L.; AVILLA, C. Side effects of different pesticides used in citrus on the adult stage of the parasitoid *Aphytis melinus* DeBach (Hymenoptera Aphelinidae) and its progeny. **Spanish Journal of Agricultural Research**, Madri, v. 11, n. 2, p. 494-504, 2013. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/268109353_Side_effects_of_different_pesticides_used_in_citrus_on_the_adult_stage_of_the_parasitoid_Aphytis_melinus_DeBach_Hymenoptera_Aphelinidae_and_its_progeny. Acesso em: 07 nov. 2021.

HASSAN, S.A. Guidelines for testing the effects of pesticides on beneficials organisms: description of test methods. In: _____. **Guidelines for testing the effects of pesticides on beneficials organism**. Montfavet: Bulletin OILB/SROP, 1992, p.18-39.

JENSEN, J. P. Selectivity list of plant protection products on beneficial arthropods in potato. **Pesticides and Beneficial Organisms IOBC-WPRS Bulletin**, v. 103, p. 67-71, 2014. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/268443511_Selectivity_list_of_plant_protection_products_on_beneficial_arthropods_in_potato. Acesso em: 07 nov. 2021.

KARMAKAR, P.; SHERA, P. S. Lethal and sublethal effects of insecticides used in cotton crop on the mealybug endoparasitoid *Aenasius arizonensis*. **International Journal of Pest Management**, Londres, v. 66, p. 13-22, 2018. Disponível em: <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/09670874.2018.1538544?journalCode=ttpm20>. Acesso em: 07 nov. 2021.

KHAN, M. A. Lethal and parasitism effects of selected novel pesticides on adult *Trichogramma chilonis* (Hymenoptera: Trichogrammatidae). **Journal of Plant Diseases and Protection**, Braunschweig, v. 127, p. 81–90, 2019. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s41348-019-00280-2>. Acesso em: 07 nov. 2021.

LUNA CRUZ, J.; *et al.* Toxicity of four insecticides on *Tamarixia triozae* (Burks) (Hymenoptera: Eulophidae) and its host *Bactericera cockerelli* (Sulc) (Hemiptera: Triozidae). **Acta Zoologica Mexicana**, México, v. 27, p. 509-526, 2011. Disponível

em: <https://academic.oup.com/jee/article/108/5/2289/2379730?login=true>. Acesso em: 07 nov. 2021.

MAC LOUGHLIN, T.M., PELUSO, L., MARINO, D.J.G. Pesticide impact study in the peri-urban horticultural area of Gran La Plata, Argentina. **Science of the Total Environment**, Amsterdam, v. 598, p. 572-580, 2017. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28454030/>. Acesso em: 07 nov. 2021.

MAGANO, D. A. *et al.* Evaluating the selectivity of registered fungicides for soybean against *Trichogramma pretiosum* Riley, 1879 (Hymenoptera: Trichogrammatidae). **African Journal of Agricultural Research**, v. 10, n. 40, p. 3825-3831, 2015. Disponível em: <https://academicjournals.org/journal/AJAR/article-abstract/8ED195C55660>. Acesso em: 07 nov. 2021.

MANZONI, C.G.; *et al.* Seletividade de agroquímicos utilizados na produção integrada de maçã aos parasitoides *Trichogramma pretiosum* Riley e *Trichogramma atopovirilia* Oatman & Platner (Hymenoptera: Trichogrammatidae). **Bio Assay**, v.2, p.1-11, 2007. Disponível em: <https://www.seb.org.br/biosay/arquivos/journals/1/articles/50/public/50-248-1-PB.pdf>. Acesso em: 07 nov. 2021.

MILES, M. Mancozeb: a profile of effects on beneficial and non-target arthropods. **Pesticides and Beneficial Organisms IOBC/wprs Bulletin**, v. 29, n. 10, p. 67-79, 2006. Disponível em: https://www.iobc-wprs.org/pub/bulletins/iobc-wprs_bulletin_2006_29_10.pdf#page=77. Acesso em: 07 nov. 2021.

PAIVA, A. C. R.; *et al.* Acute toxicity and duration of harmful activity of nine insecticides on *Trichogramma pretiosum*, a parasitoid used in augmented biological control of *Helicoverpa* spp. in Brazilian soybean fields. **International Journal of Pest Management**, Londres, v. p., 2021. Disponível em: <https://www.tandfonline.com/doi/citedby/10.1080/09670874.2021.1969468?scroll=top&needAccess=true>. Acesso em: 07 nov. 2021.

PAZINI, J. B.; *et al.* Side-effects of pesticides used in irrigated rice areas on *Telenomus podisi* Ashmead (Hymenoptera: Platygasteridae). **Ecotoxicology**, Nova York v. 26, p. 782–791, 2017. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28439681/>. Acesso em: 07 nov. 2021.

PRATISSOLI, D.; *et al.* Side effects of fungicides used in cucurbitaceous crop on *Trichogramma atopovirilia* Oatman & Platner (Hymenoptera: Trichogrammatidae). **Chilean Journal of Agricultural Research**, Chillán, v. 70, n.2, p. 323-327, 2010. Disponível em: https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S0718-58392010000200016&lng=en&nrm=iso. Acesso em: 07 nov. 2021.

PRATISSOLI, D. *et al.* Seletividade de inseticidas a *Trichogramma pretiosum* Riley. (Hymenoptera: Trichogrammatidae) em diferentes hospedeiros. **Boletín de Sanidad Vegetal Plagas**, Madri, v. 35, p. 347-353, 2009. Disponível em: https://www.miteco.gob.es/ministerio/pags/Biblioteca/Revistas/pdf_Plagas%2FBSVP_35_03_347_353.pdf. Acesso em: 07 nov. 2021.

PRATISSOLI, D. *et al.* Transovarian action of lufenuron (50 G / L) on adults of *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) and its effect on the parasitoid of eggs *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae). **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.28, p.9-14, 2004.

Disponível em:

<https://www.scielo.br/j/cagro/a/5YM7NpB9PLS9BbHG6yrkKZd/?lang=pt>. Acesso em: 07 nov. 2021.

QU, C.; *et al.* Lethal and sublethal effects of dinotefuran on two invasive whiteflies, *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae). **Journal of Asia-Pacific Entomology**, v. 2, p. 325–330, 2017. Disponível em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S122686151630543X>. Acesso em: 07 nov. 2021.

RAKES, M.; *et al.* Pesticide selectivity to the parasitoid *Trichogramma pretiosum*: A pattern 10-year database and its implications for Integrated Pest Management.

Ecotoxicology and Environmental Safety, Nova York, v. 208, p. 1-8, 2021.

Disponível em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0147651320313415>. Acesso em: 07 nov. 2021.

RICUPERO, M.; *et al.* Target and non-target impact of systemic insecticides on a polyphagous aphid pest and its parasitoid. **Chemosphere**, Oxford, v. 247, p. 1-7, 2020. Disponível em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0045653519329698>. Acesso em: 07 nov. 2021.

RIGITANO, R.L.O.; CARVALHO, G.A. **Toxicologia e seletividade de inseticidas**. Lavras: UFLA/FAEPE, 2001. 72p.

RIPPER, W.E.; GREENSLADE, R.M.; HARTLEY, G.S. Selective insecticides and biological control. **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v. 44, p. 448-449, 1951. Disponível em: Acesso em: 07 nov. 2021.

ROSI, M. C.; *et al.* Effectiveness of different copper products against the olive fly in organic olive groves. Integrated protection of olive crops. **IOBC/WPRS Bull**, v. 30, n. 9, p. 277–281, 2007. Disponível em: <https://academic.oup.com/jee/article-abstract/44/4/448/2204924>. Acesso em: 07 nov. 2021.

SCHAEFFER, R.N.; *et al.* Non-target effects of fungicides on nectar-inhabiting fungi of almond flowers. **Environmental Microbiology**, Oxford, v. 9, p. 79–84, 2017.

Disponível em: <https://sfamjournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/1758-2229.12501>. Acesso em: 07 nov. 2021.

SOHRABI, F.; *et al.*, Lethal and sublethal effects of imidacloprid and buprofezin on the sweetpotato whitefly parasitoid *Eretmocerus mundus* (Hymenoptera:

Aphelinidae). **Crop Protection**, Guildford, v. 45, p. 98-103, 2013. Disponível em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0261219412003390>. Acesso em: 07 nov. 2021.

SOHRABI, F.; *et al.* Lethal and sublethal effects of imidacloprid and buprofezin on the whitefly parasitoid *Encarsia inaron* (Hymenoptera: Aphelinidae). **Crop Protection**, Guildford, v. 32, p. 83-89, 2012. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0261219411003279>. Acesso em: 07 nov. 2021.

STECCA, C. S.; *et al.* Impact of insecticides used in soybean crops to the egg parasitoid *Telenomus podisi* (Hymenoptera: Platygasteridae). **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 47, p. 281-291, 2018. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s13744-017-0552-9>. Acesso em: 07 nov. 2021.

STECCA, C. S.; *et al.* Selectivity of insecticides used in soybean crop to the predator *Podisus nigrispinus* (Hemiptera: Pentatomidae). **Semina: Ciências Agrárias**, v. 38, n. 6, p. 3469-3480, 2017. Disponível em: <https://www.alice.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/1080612/1/Steccaetal2017SeletividadePNSemina.pdf>. Acesso em: 07 nov. 2021.

STECCA, C.S. *et al.* Side-effects of glyphosate to the parasitoid *Telenomus remus* Nixon (Hymenoptera: Platygasteridae). **Neotropical Entomology**, Londrina, v.45, n.2, p.192-200, 2016. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26842914/>. Acesso em: 07 nov. 2021.

STERK, G.; *et al.* Results of the seventh joint pesticide testing programme carried out by the IOBC/WPRS- Working Group 'Pesticides and Beneficial Organisms'. **BioControl**, Dordrecht, v.44, p.99-117, 1999. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1023/A:1009959009802>. Acesso em: 07 nov. 2021.

TOMLIN, C. **The pesticide manual**. A world compendium. Hampshire: British. Crop. Production Council (BCPC), 2009. 1457 p.

ULUSOY, S. Comprasion of in vitro carboxylesterase inhibition in *Bemisia tabaci* (Genn.) (Hemiptera:Aleyrodidae) and *Aphis gossypii* Glover (Hemiptera: Aphididae) by allelochemical and some insecticides. **Phytoparasitica**, Beit Dagan, p. 1-13, 2021. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s12600-021-00958-0#citeas>. Acesso em: 07 nov. 2021.

XING, X.; *et al.* Cytochrome P450s are essential for insecticide tolerance in the endoparasitoid wasp *Meteorus pulchricornis* (Hymenoptera: Braconidae). **Insects**, Basileia, v.12, p. 1-13, 2021. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2075-4450/12/7/651>. Acesso em: 07 nov. 2021.

ŽANIC, K.; *et al.* *Bemisia tabaci* MED population density as affected by rootstock-modified leaf anatomy and amino acid profiles in hydroponically grown tomato. **Frontiers in Plant Science**, Lausanne, v.9, n.86, p.86, 2018. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29459878/>. Acesso em: 07 nov. 2021.

ZANTEDESCHI, R.; *et al.* Selectivity of pesticides registered for soybean crop on *Telenomus podisi* and *Trissolcus basal*. **Pesquisa Agropecuária Tropical**,

Goiânia, v. 48, n. 1, p. 52-58, 2018. Disponível em:
<https://www.scielo.br/j/pat/a/kBRhMrzxqLjkj5gtrTc9xSM/?lang=en>. Acesso em: 07 nov. 2021.

WANG, Z.; *et al.* Selectivity of novel and traditional insecticides used for management of whiteflies on the parasitoid *Encarsia Formosa*. **Pest Management Science**, Sussex, v. 75, p. 2716–2724, 2019. Disponível em:
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30784200/>. Acesso em: 07 nov. 2021.

WANUMEN, A. C.; *et al.* Residual acute toxicity of some modern insecticides toward two mirid predators of tomato pests. **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v.109, n. 3, p. 1079–1085, 2016. Disponível em:
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27034114/>. Acesso em: 07 nov. 2021.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados obtidos neste estudo mostram quais são as melhores condições de temperatura para o estabelecimento da criação massal do parasitoide de ninfas *Encarsia inaron*, que é uma espécie promissora no controle biológico de *Bemisia tabaci*. A possibilidade da criação utilizando diferentes espécies vegetais permite a opção de escolhas, entretanto, estudos das características de desenvolvimento de *B. tabaci* não foram realizadas neste trabalho e podem ser decisivas para a implementação de uma das espécies vegetais na criação.

Além disso, maiores investigações sobre *Wolbachia* são necessárias tendo em vista que a reintrodução da bactéria na população é algo vantajoso pois a presença desta induziu a produção de fêmeas, as quais são as únicas responsáveis pelo parasitismo.

Os resultados dos bioensaios de seletividade mostram que o parasitoide em fase de pupa tolera melhor a ação de alguns produtos em relação a fase adulta, entretanto, estudos em condições de semi-campo e campo são necessários para a conclusão da ocorrência de seletividade.

Os dados obtidos neste estudo fazem parte das etapas iniciais previstas na construção de um programa de controle biológico e fornecem informações para o entendimento de características biológicas básicas de *E. inaron* sobre ninfas de *B. tabaci* MEAM1 (ou biótipo B), porém, estudos que investiguem a qualidade do parasitoide e aspectos relacionados a ecologia de *E. inaron* e *B. tabaci* são necessários.

REFERÊNCIAS

- BARRO, P. J.; *et al.* *Bemisia tabaci*: a statement of species status. **Annual review of entomology**, Palo Alto, v. 56, p. 1-19, 2011. Disponível em: <https://www.annualreviews.org/doi/abs/10.1146/annurev-ento-112408-085504>. Acesso em: 17 out. 2021.
- BOSCH, R.; MESSENGER, P. S.; GUTIERREZ, A. P. **An introduction to biological control**. New York, Plenum Press, 1982, 247p.
- BOYKIN, L.M.; *et al.* Is agriculture driving the diversification of the *Bemisia tabaci* species complex (Hemiptera: Sternorrhyncha: Aleyrodidae)? Dating, diversification and biogeographic evidence revealed. **Evolutionary biology**, London, v. 13, p. 228–238, 2013. Disponível em: <https://bmcecolevol.biomedcentral.com/articles/10.1186/1471-2148-13-228>. Acesso em: 17 out. 2021.
- BRADY, C. M.; WHITE, J. A. Everyone's a Loser: parasitism of late instar whiteflies by *Encarsia inaron* has negative consequences for both parasitoid and host. **Annals of the Entomological Society of America**, Lanham, v. 105, n. 6, p. 840-845, 2012. Disponível em: <https://academic.oup.com/aesa/article/105/6/840/77850>. Acesso em: 16 nov. 2021.
- BROWN, J. K.; *et al.* Revision of Begomovirus taxonomy based on pairwise sequence comparisons. **Archives of Virology**, Viena v. 160, n. 6, p. 1593-1619, 2015. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25894478/>. Acesso em: 17 out. 2021.
- DÂNGELO, R.A.C.; *et al.* Insecticide resistance and control failure likelihood of the whitefly *Bemisia tabaci* (MEAM1; B biotype): a neotropical scenario. **Annals of Applied Biology**, Warwick, v. 172, p. 88-99, 2018. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/aab.12404>. Acesso em 16 nov. 2021.
- 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**, Brasília, v. 34, n. 1, p. 8-18, 2016. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/hb/a/gRKSc8zFFNkb3wZWKpb3bwz/?lang=en&format=html>. Acesso em: 17 out. 2021.
- 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, p. 19-40, 2015.
- KRAUSE-SAKATE, R.; *et al.* Population Dynamics of Whiteflies and Associated Viruses in South America: Research Progress and perspectives. **Insects**, Basileia, v. 11, n. 847, 2020. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2075-4450/11/12/847>. Acesso em: 09 nov. 2021.

MALEKMOHAMMADI, A.; SHISHEHBOR, P.; KOCHIELI, F. Influence of constant temperatures on development, reproduction and life table parameters of *Encarsia inaron* (Hymenoptera: Aphelinidae) parasitizing *Neomaskellia andropogonis* (Hemiptera: Aleyrodidae). **Crop Protection**, v. 34, p. 1-5, 2012. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0261219411003978>. Acesso em: 17 out. 2021.

OLIVEIRA, M. R. V.; *et al.* Natural Enemies of *Bemisia tabaci* (Gennadius) B Biotype and *Trialeurodes vaporariorum* (Westwood) (Hemiptera: Aleyrodidae) in Brasília, Brazil. **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 32, n. 1, p. 151-154, 2003. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/ne/a/cspqhXn5b6MzgvMNxTmrzjq/?lang=en>. Acesso em: 09 nov. 2021.

PARRA, J. R. P.; COELHO- JUNIOR, A. Applied biological control in Brazil: from laboratory assays to field application. **Journal of Insect Science**, v. 19, n. 2, p. 1-6, 2019. Disponível em: <https://academic.oup.com/jinsectscience/article/19/2/5/5368158?login=true>. Acesso em: 16 nov. 2021.

PARRA, J. R. P.; *et al.* Controle biológico: uma visão inter e multidisciplinar. In: PARRA, *et al.* (Eds.). **Controle biológico no Brasil: parasitóides e predadores**. São Paulo: Manole, 2002. p. 125-137.

PICKETT, C. H.; *et al.* Establishment of the ash whitefly parasitoid *Encarsia inaron* (Walker) and its economic benefit to ornamental street trees in California. **Biological Control**. San Diego, v. 6, p. 260-272, 1996. Disponível em: [https://www.semanticscholar.org/paper/Establishment-of-the-Ash-Whitefly-inaron\(Walker\)-to-Pickett-Ball/f6d17b2af3679f99bff3303882324f869c79b45e](https://www.semanticscholar.org/paper/Establishment-of-the-Ash-Whitefly-inaron(Walker)-to-Pickett-Ball/f6d17b2af3679f99bff3303882324f869c79b45e). Acesso em: 17 out. 2021.

QU, C.; *et al.* Lethal and sublethal effects of dinotefuran on two invasive whiteflies, *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae). **Journal of Asia-Pacific Entomology**, v. 2, p. 325–330, 2017. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S122686151630543X>. Acesso em: 17 out. 2021.