

**VANUSA RODRIGUES HORAS**

**EMPREGO DE UMA NOVA MOLÉCULA INSETICIDA VISANDO  
O CONTROLE BIORRACIONAL DE *Cinara atlantica* WILSON,  
1919 (HEMIPTERA: APHIDIDAE) E *Thaumastocoris peregrinus*  
CARPINTEIRO & DELLAPÉ, 2006 (HEMIPTERA:  
THAUMASTOCORIDAE)**

Tese apresentada à Coordenação do Curso de Pós-Graduação em Ciências Biológicas, Área de Concentração em Entomologia, da Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial para a obtenção do título de Doutor em Ciências Biológicas.

**Orientador: Prof. Dr. Francisco de Assis Marques**

**Co-orientador: Prof. Dr. Mário Antonio Navarro da Silva**

**CURITIBA**

**2014**

**VANUSA RODRIGUES HORAS**

“EMPREGO DE UMA NOVA MOLÉCULA INSETICIDA VISANDO O  
CONTROLE BIORRACIONAL DE *Cinara atlantica* WILSON, 1919  
(HEMIPTERA: APHIDIDAE) E *Thaumastocoris peregrinus*  
CARPINTEIRO & DELLAPÉ, 2006 (HEMIPTERA:  
THAUMASTOCORIDAE)”

Tese aprovada como requisito parcial para obtenção do grau de “Doutor em Ciências” no Programa de Pós-graduação em Ciências Biológicas, Área de Concentração em Entomologia, da Universidade Federal do Paraná, pela Comissão formada pelos professores:

---

Prof. Dr. Francisco de Assis Marques (UFPR)

---

Profa. Dra. Lucia Massutti de Almeida (UFPR)

---

Dra. Susete do Rocio Chiarello Penteado (Embrapa/Florestas)

---

Prof. Dr. Mauricio Ursi Ventura (UEL)

---

Prof. Dr. Ayres de Oliveira Menezes Junior (UEL)

---

Dra. Scheila Ribeiro Messa Zaleski (UFPR)

Curitiba, de março de 2014

VANUSA RODRIGUES HORAS

“EMPREGO DE UMA NOVA MOLÉCULA INSETICIDA VISANDO O CONTROLE BIORRACIONAL DE *Cinara atlantica* WILSON, 1919 (HEMIPTERA: APHIDIDAE) E *Thaumastocoris peregrinus* CARPINTEIRO & DELLAPÉ, 2006 (HEMIPTERA: THAUMASTOCORIDAE)”

Tese aprovada como requisito parcial para obtenção do grau de “Doutor em Ciências”, no Programa de Pós-graduação em Ciências Biológicas, Área de Concentração em Entomologia, da Universidade Federal do Paraná, pela Comissão formada pelos professores:

---

Prof. Dr. Francisco de Assis Marques (Orientador)

(UFPR)

---

Prof. Dr. Mauricio Ursi Ventura

(UEL/PR)

---

Prof. Dr. Ayres de Oliveira Menezes Júnior

(UEL/PR)

---

Profa. Dra. Lúcia Massutti de Almeida

(UFPR)

---

Dra. Susete do Rocio Chiarello Pentead

(Embrapa Floresta – Colombo/PR)

Curitiba, 28 de março de 2014.

## **DEDICO**

**À minha filha Isabella, que deu um sentido especial à minha vida.**

*"O êxito da vida não se mede pelo caminho que você conquistou, mas sim pelas dificuldades que superou no caminho".*

*Abraham Lincoln*

## **AGRADECIMENTOS**

Ao meu estimado orientador Professor Dr. Francisco de Assis Marques, por ter aceitado o desafio de me orientar no pouco tempo que me restava. O seu apoio foi fundamental para eu poder acreditar e continuar desenvolvendo meu doutorado. “Por você terei uma eterna gratidão”.

Ao meu co-orientador Professor Dr. Mário Antonio Navarro da Silva cujas contribuições foram muito importantes para o desenvolvimento do meu trabalho.

À Profa. Dra. Rose Maria Carlos por sintetizar e conceder o inseticida para o desenvolvimento da minha tese.

Aos meus pais Francisco e Alda que mesmo à distância sempre me apoiaram, aconselharam e incentivaram nos meus estudos.

À Dra. Scheila Ribeiro Messa Zaleski pelas sugestões e ajuda desde o início do trabalho, pela companhia nos cafezinhos da tarde e conselhos. “Desejo a você muito sucesso”!

A minha família meu irmão Rogério, ao Sérgio pelos incentivos, e por acreditar nos meus projetos de vida.

À Dra. Susete do Rocio Chiarello Penteado pelo auxílio no aprendizado com a técnica EPG no Laboratório de Entomologia da Embrapa Florestas, sempre prestativa e auxiliando em minhas dúvidas, agradeço pela oportunidade de trabalhar com você.

Ao Dr. Leonardo Barbosa pelos insetos fornecidos bem como pelo auxílio na realização de parte dos experimentos desta tese realizados no Laboratório de Entomologia da Embrapa Florestas e pela amizade.

Aos membros da banca examinadora

Profa. Dra. Lucia Massutti de Almeida, Dra. Susete do Rocio Chiarello Pentead, Prof. Dr. Mauricio Ursi Ventura, Prof. Dr. Ayres de Oliveira Menezes Junior e Dra. Scheila Ribeiro Messa Zaleski, pelas sugestões e discussões.

Ao doutorando Vinícius Annies pela colaboração na preparação das soluções inseticidas.

À Rúbia Francielle Chiquito pela obtenção das mudas de Pinus e ajuda em experimentos.

Aos professores do curso pelos ensinamentos, em especial à Profa. Dra. Sonia Maria N. Lazzari, que além de uma excelente profissional se revelou como grande “amiga”.

Ao Edilson Batista de Oliveira e Vinícius Richardi, pelo auxílio com as análises estatísticas.

Ao Reuni pela bolsa e auxílio concedido durante o desenvolvimento desta pesquisa.

***Agradeço a Deus todos os dias pelas graças e bençãos recebidas.  
Obrigada meu Deus pela tua presença em minha vida!***

# SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS.....	X
LISTA DE TABELAS.....	xiv
LISTA DE SIGLAS, SÍMBOLOS E ABREVIATURAS.....	xvi
RESUMO.....	1
ABSTRACT.....	3
1. INTRODUÇÃO.....	5
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	15
2.1. <i>Cinara atlantica</i> (Hemiptera: Aphididae)	
2.1.1. Hospedeiros.....	15
2.1.2. Bioecologia de <i>Cinara atlantica</i> .....	16
2.1.3. Danos de <i>Cinara atlantica</i> em <i>Pinus</i> spp.....	17
2.1.4. Controle de <i>Cinara atlantica</i> .....	19
2.1.5. Técnica de Monitoramento Eletrônico – EPG.....	23
2.2. <i>Thaumastocoris peregrinus</i> (Hemiptera: Thaumastocoridae)	
2.2.1. Hospedeiros.....	25
2.2.2. Bioecologia de <i>Thaumastocoris peregrinus</i> .....	25
2.2.3. Distribuição geográfica de <i>Thaumastocoris peregrinus</i> .....	28
2.2.4. Danos causados por <i>Thaumastocoris peregrinus</i> em <i>Eucalyptus</i> spp..	29
2.2.5. Controle de <i>Thaumastocoris peregrinus</i> .....	30
2.6. Seletividade.....	32
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	34
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	50
5. CONCLUSÕES.....	80
6. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	81

<b>7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>83</b>
<b>ANEXOS.....</b>	<b>100</b>

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Estrutura do Imidacloprido.....	6
Figura 2. Estruturas da Clotianidina e do Tiametoxam.....	7
Figura 3. Porcentagem de sobrevivência da formiga cortadeira <i>Atta sexdens rubropilosa</i> alimentada com isca artificial contendo diferentes compostos.....	11
Figura 4. a) atividade da AChE de <i>Electrophorus electricus</i> na presença do complexo e b) atividade da AChE de <i>Atta sexdens rubropilosa</i> na presença do complexo. .....	11
Figura 5. Toxicidade de sulfato de zinco (a) e do composto 1 (b) frente a bactéria <i>Vibrio fischeri</i> .....	12
Figura 6. Imagens obtidas de análise via microscopia confocal de células HeLa a) controle (esquerda); b) células incubadas com composto 1 (5 uM) a 37 ° C durante 30 min (direita).....	13
Figura 7. Pulgão-gigante-do-pinus <i>Cinara atlantica</i> (Hemiptera: Aphididae).....	16
Figura 8. Alguns danos causados por <i>Cinara atlantica</i> . (A) morte dos ponteiros (B) clorose.....	18
Figura 9. Estrutura da nicotina.....	20
Figura 10. Estrutura do DDT.....	21
Figura 11. Estruturas química da flonicamida e da pimetozina.....	23
Figura 12. Adulto do percevejo bronzeado <i>Thaumastocoris peregrinus</i> (Hemiptera: Thaumastocoridae).....	27

Figura 13. Acasalamento de adultos de <i>Thaumastocoris peregrinus</i> .....	28
Figura 14. Distribuição geográfica de <i>Thaumastocoris peregrinus</i> no Brasil.....	29
Figura 15. Altas infestações de <i>T. peregrinus</i> (A) alteração da coloração da copa das árvores (B).....	30
Figura 16. Fêmea e macho do parasitoide de ovos <i>Cleruchoides noackae</i> .....	31
Figura 17. Colônia de <i>Cinara atlantica</i> em caule de <i>Pinus taeda</i> .....	34
Figura 18. Preparação dos bioensaios de <i>Cinara atlantica</i> em laboratório.....	37
Figura 19. Componentes do sistema de monitoramento eletrônico utilizado para o estudo do comportamento alimentar de <i>Cinara atlantica</i> . (a) fêmea adulta áptera (b) muda de <i>Pinus taeda</i> (c) fio de ouro (d - e) eletrodos.....	40
Figura 20. A - Equipamento GIGA 4 – DC no interior da Gaiola de Faraday. B- quatro canais que registram as atividades de inserção do estilete das fêmeas adultas de <i>Cinara atlantica</i> nos tecidos das plantas de <i>Pinus taeda</i> .....	41
Figura 21. Criação em laboratório de <i>Thaumastocoris peregrinus</i> em buquês de folhas de <i>Eucalyptus benthamii</i> .....	43
Figura 22. Experimento para a toxicidade do novo inseticida a <i>Thaumastocoris peregrinus</i> em laboratório.....	44
Figura 23. Criação do parasitoide <i>Cleruchoides noackae</i> em ovos do percevejo bronzeado <i>Thaumastocoris peregrinus</i> : a) adulto de <i>Thaumastocoris peregrinus</i> ; b) folhas de <i>Eucalyptus benthamii</i> ; c) oviposição de fêmeas de <i>Thaumastocoris peregrinus</i> em tiras de papel toalha; d) tiras de papel toalha com posturas de <i>Thaumastocoris peregrinus</i> ; e) tubos de poliestireno com posturas de <i>Thaumastocoris</i>	

*peregrinus* e f) ovos de *Thaumastocoris peregrinus* sendo parasitado por *Cleruchoides noackae*.....46

Figura 24. Preparação e execução dos bioensaios para avaliar a seletividade da nova molécula inseticida sobre o parasitoide *Cleruchoides noackae* em ovos do percevejo *Thaumastocoris peregrinus*.....48

Figura 25. Percentual de mortalidade de ninfas de *Cinara atlantica* após a aplicação de diferentes concentrações do novo inseticida e do controle, avaliadas em diferentes períodos em intervalos de 24 horas ( n = 150).....52

Figura 26. Estruturas química do malathion e clorpirifós.....53

Figura 27. Caracterização do comportamento alimentar de adultos ápteros de *Cinara atlantica* em mudas de *Pinus taeda*. (0): “np”; (1): “pds-padrão”; (2): “R-pds” e (3): fase floemática.....60

Figura 28. Pd padrão e duração média, caracterizada pelas III sub-fases, com a seta indicando a sub-fase Ie (extra), observada para adultos ápteros de *Cinara atlantica* em mudas de *Pinus taeda*.....61

Figura 29. Detalhe de uma pd curta e duração média, registrada para o comportamento alimentar de *Cinara atlantica*, em mudas de *Pinus taeda* tratadas com o novo inseticida na concentração CL<sub>50</sub>.....62

Figura 30. Padrão de onda F detectada no registro do comportamento alimentar de *Cinara atlantica* em mudas de *Pinus taeda* tratadas com o novo inseticida na concentração CL<sub>50</sub>.....63

Figura 31. Ocorrência de fase floemática de curta duração detectada no registro do comportamento alimentar de <i>Cinara atlantica</i> em mudas de <i>Pinus taeda</i> tratadas com o novo inseticida na concentração CL <sub>50</sub> .....	63
Figura 32. Ondas geradas durante a fase floemática: E1 salivação seguida da fase E2 ingestão do floema detectada no registro do comportamento alimentar de <i>Cinara atlantica</i> em mudas de <i>Pinus taeda</i> .....	64
Figura 33. Estrutura química do neonicotinóide IPP-10.....	66
Figura 34. Percentual de mortalidade de ninfas de <i>Thaumastocoris peregrinus</i> após a aplicação de diferentes concentrações do novo inseticida e do controle, avaliadas em diferentes períodos em intervalos de 24 horas ( n = 50).....	70
Figura 35. Percentual de mortalidade de adultos de <i>Thaumastocoris peregrinus</i> após a aplicação de diferentes concentrações do novo inseticida e do controle, avaliadas em diferentes períodos em intervalos de 24 horas ( n = 50).....	71
Figura 36. Tempo de desenvolvimento, em dias, do parasitoide <i>Cleruchoides noakae</i> em ovos de <i>Thaumastocoris peregrinus</i> tratados com a nova molécula inseticida nas fases larval e pupal.....	77

## LISTA DE TABELAS

- Tabela 1. Porcentagem de mortalidade acumulada (Média  $\pm$  EP) de ninfas de 2<sup>o</sup> instar de *Cinara atlantica*, submetidas ao novo inseticida, em diferentes períodos e concentrações a intervalos de 24 horas (n = 150).....50
- Tabela 2. Concentrações letais (CL) para ninfas de *Cinara atlantica*, submetidas ao novo inseticida, determinada no período de 24 e 48 horas (n = 150).....54
- Tabela 3. Comparação da eficiência do produto comercial imidacloprido com novo inseticida.....55
- Tabela 4. Parâmetros (em horas) (Média  $\pm$  EP) avaliados e valores de t com os níveis de significância para o comportamento alimentar de adultos ápteros de *Cinara atlantica* em mudas de *Pinus taeda*, registrado com o auxílio do equipamento GIGA 4 – DC.....58
- Tabela 5. Duração média (horas) das fases floemáticas sustentadas ( $\geq 10$  min), observados para adultos ápteros de *Cinara atlantica* em mudas de *Pinus taeda*, registrado com o auxílio do equipamento GIGA 4 – DC.....59
- Tabela 6. Mortalidade acumulada (Média  $\pm$  EP) de ninfas de *Thaumastocoris peregrinus*, submetidas ao novo inseticida, em diferentes períodos e concentrações a intervalos de 24 horas (n = 50).....68
- Tabela 7. Mortalidade acumulada (Média  $\pm$  EP) de adultos de *Thaumastocoris peregrinus*, submetidas ao novo inseticida, em diferentes períodos e concentrações a intervalos de 24 horas (n = 50).....69
- Tabela 8. Concentrações letais (CL) para ninfas de *Thaumastocoris peregrinus*, submetidas ao novo inseticida, determinada no período de 24 e 48 horas (n=50).....72

Tabela 9. Concentrações letais (CL) para adultos de <i>Thaumastocoris peregrinus</i> , submetidas ao novo inseticida, determinada no período de 24 e 48 horas (n=50).....	72
Tabela 10. Comparação da eficiência do produto comercial e do novo inseticida utilizando para <i>Thaumastocoris peregrinus</i> .....	74
Tabela 11. Parâmetros biológicos (Média ± EP) de <i>Cleruchoides noackae</i> em ovos de <i>Thaumastocoris peregrinus</i> tratados com a nova molécula inseticida nas fases larval e pupal (n = 24).....	75
Tabela 12. Proporção e razão sexual (Média ± EP) de <i>Cleruchoides noackae</i> em ovos de <i>Thaumastocoris peregrinus</i> tratados com a nova molécula inseticida nas fases larval e pupal (n=24).....	76
Tabela 13. Tabela de distribuição de frequências do tempo de desenvolvimento, em dias, do parasitoide <i>Cleruchoides noackae</i> em ovos de <i>Thaumastocoris peregrinus</i> tratados com a nova molécula inseticida nas fases larval e pupal (n=24).....	77
Tabela 14. Efeito (E) do novo inseticida sobre larvas (ovos parasitados de 8 dias) e pupas (ovos parasitados de 15 dias) de <i>Cleruchoides noackae</i> (n = 24).....	78

## **LISTA DE SIGLAS, SÍMBOLOS E ABREVIATURAS**

**CL** concentração letal

**cm** centímetro

**DMSO** sulfóxido de dimetila

**E1** salivação

**E2** ingestão no floema

**EPG** electrical penetration graphs

**MM** massa molar

**mL** mililitro

**m/m** massa/massa

**np** não prova

**pd** picada de prova

**R-pds** repetitivas quedas de potencial

**UR** umidade relativa

**μM** micromolar

**μL** microlitro

**μm** micrômetro

## RESUMO

Emprego de uma nova molécula inseticida visando o controle biorracional de *Cinara atlantica* Wilson, 1919 (Hemiptera: Aphididae) e *Thaumastocoris peregrinus* Carpinteiro & Dellapé, 2006 (Hemiptera: Thaumastocoridae).

Os hemípteros *Cinara atlantica* (Wilson, 1919) e *Thaumastocoris peregrinus* Carpintero & Dellapé, 2006 são pragas florestais com ocorrência no sul do país. *C. atlantica* e *T. peregrinus* são importantes pragas do reflorestamento do *Pinus* spp. e *Eucalyptus* spp., respectivamente. Neste trabalho avaliou-se a toxicidade de uma nova molécula com ação inseticida sobre ninfas de *C. atlantica* e a influência no seu comportamento alimentar; a toxicidade sobre ninfas e adultos de *T. peregrinus* e a seletividade às fases imaturas de seu parasitoide de ovos, *Cleruchoides noackae* Lin & Huber, 2007 (Hymenoptera: Mymaridae). Os resultados dos estudos de toxicidade para *C. atlantica* revelaram sensibilidade dos insetos ao novo inseticida e permitiram o cálculo de várias concentrações letais para 24 e 48 horas. Após determinar as concentrações letais para *C. atlantica*, realizou-se o estudo do comportamento alimentar, utilizando a Técnica de Monitoramento Eletrônico (“Electrical Penetration Graphs” - EPG). A exposição de *C. atlantica* a nova molécula inseticida demonstra um provável efeito sistêmico nas mudas de *P. taeda*, alterando o comportamento alimentar de *C. atlantica*. Resultou em um maior tempo em não-prova e quando ocorreu a inserção dos estiletes na planta, 26,6% dos insetos mantiveram na planta por um menor tempo, além de apresentarem dificuldades de inserção do estilete, caracterizado pela onda F. Observou-se também uma diminuição da alimentação floemática, onde 60% dos insetos alcançaram o floema e destes, somente 26% apresentaram alimentação sustentada no floema. Na testemunha, 100% dos insetos alcançaram o floema e destes, 100% apresentaram fase floemática sustentada, as fêmeas permanecem como estilete inserido na célula floemática mais de 10 minutos. O estudo da toxicidade do novo inseticida às ninfas e adultos de *T. peregrinus* revelou que todos os indivíduos tratados com o novo inseticida morreram em um período de até 96 h a partir da concentração de 30 µM. Os estudos envolvendo a determinação da toxicidade da nova molécula inseticida em fases imaturas do parasitoide de ovos *Cleruchoides noackae* Lin & Huber, 2007 (Hymenoptera: Mymaridae), em condições

de laboratório, permitiram classificá-lo como levemente nocivo (classe II), abrindo perspectivas para que o controle de *T. peregrinus* possa ser efetuado integrando o controle químico ao controle biológico.

**Palavras-chave:** Pulgão-gigante-do-pinus, percevejo bronzeado, novo inseticida, comportamento alimentar, controle químico, seletividade, controle biológico, *Pinus taeda*, *Eucalyptus benthamii*.

## ABSTRACT

Application of a new insecticide aiming at the biorrational control of *Cinara atlantica* Wilson, 1919 (Hemiptera: Aphididae) and *Thaumastocoris peregrinus* Dellape & Carpenter, 2006 (Hemiptera: Thaumastocoridae).

The Hemiptera *Cinara atlantica* (Wilson, 1919) and *Thaumastocoris peregrinus* (Carpintero & Dellape, 2006) are forest pests occurring in the Southern part of Brazil. *C. atlantica* is a major pest of reforestation of *Pinus* spp. and *T. peregrinus* is the newest pest of *Eucalyptus* spp. which is dispersing rapidly across the country. In this work it was evaluated the toxicity of a new molecule with insecticidal action on nymphs of *C. atlantica* and its influence on the feeding behavior this pest as well its toxicity on nymphs and adults of *T. peregrinus*. The selectivity of the new pesticide towards the egg parasitoid *Cleruchoides noackae* Lin & Huber, 2007 (Hymenoptera: Mymaridae) in their immature stages was also evaluated. The results of the toxicity studies showed sensitivity of *C. atlantica* to the new insecticide and allowed the calculation of several lethal concentrations for 24 and 48 hours. After determining the lethal concentrations it was conducted a study in order to evaluate the influence of the new pesticide on the feeding behavior of *C. atlantica*, using the Electrical Penetration Graphs technique (EPG). Exposure of *C. atlantica* to the new insecticide resulted in a longer time in non-proof and when the insect inserted the stylet in the plant, 26.6% kept the stylet in the plant for a shorter period of time. In addition it was observed that the insects showed difficulties to insert the stylet in the plant which was characterized by the F wave. It was also observed a decrease in phloem feeding since 60% of the insects reached the phloem and of these, only 26% had sustained feeding in the phloem. In the control treatment 100% of the insects reached the phloem and 100% showed sustained phloematic phase. The study of the toxicity of new insecticide in

biorrational control of nymphs and adults of *T. peregrinus* revealed that all insects treated with the new pesticide died in a period of up to 96 h starting with a concentration of 30  $\mu$ M. The studies involving the determination of the toxicity of new insecticide on the immature stages of the egg parasitoid *Cleruchoides noackae* Lin & Huber, 2007 (Hymenoptera: Mymaridae), under laboratory conditions, allowed to classify it as slightly harmful, opening prospects for the control of *T. peregrinus* integrating chemical and biological control.

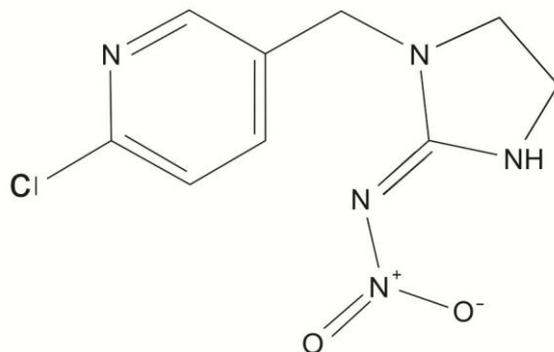
**Keywords:** Pine aphids, true bug, new insecticide, feeding behavior, chemical control, selectivity, biological control, *Pinus taeda*, *Eucalyptus benthamii*.

## 1. INTRODUÇÃO

Nos últimos dez anos, o mercado mundial de agrotóxicos cresceu 93% sendo que o mercado brasileiro cresceu 190%, em decorrência da expansão agrícola do País, setor superavitário que hoje representa aproximadamente um terço do Produto Interno Bruto do Brasil. Em 2008, o Brasil passou os Estados Unidos e assumiu o posto de maior consumidor mundial de agrotóxicos, com base nos relatórios de reavaliação de agrotóxicos da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa, 2013).

Estudos visando o desenvolvimento de pesticidas que possuam consistência de segurança humana e ambiental devem ser realizados, pois as informações obtidas podem ser utilizadas nas tomadas de decisão com relação ao produto a ser aplicado, minimizando os efeitos indesejáveis decorrente do uso de pesticidas não apropriados no controle de pragas (Degrande *et al.*, 2002).

Atualmente, os neonicotinóides são os inseticidas mais utilizados mundialmente. Apresentam ação sistêmica nas plantas sendo transportados para diferentes partes pelo xilema e floema, podendo ser usados no tratamento de sementes. Neste caso, pulgões e insetos sugadores em geral, que se alimentam do floema são intoxicados após a primeira ingestão da seiva (Quillec & Dedryver, 1992). O imidacloprido foi o primeiro composto desta classe produzido comercialmente e foi introduzido na década de 1990, com o intuito de substituição dos pesticidas já empregados, tais como, os organofosforados, carbamatos, organoclorados e piretróides (Figura 1) (Bonmatin *et al.*, 2005).



**Figura 1.** Estrutura do Imidacloprido.

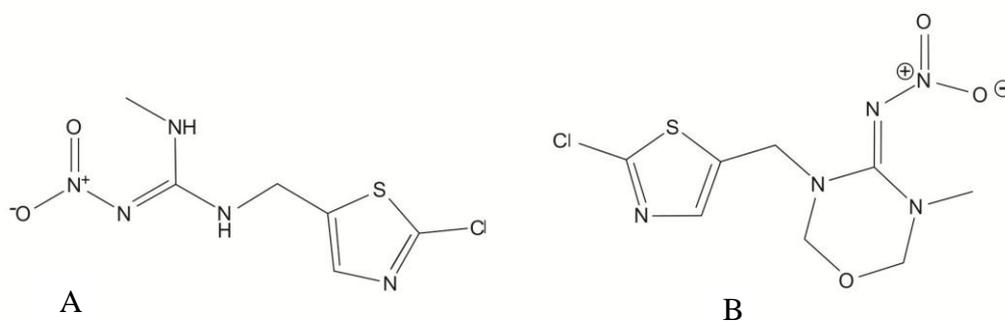
Os neonicotinóides funcionam como neurotoxinas que interferem no sistema nervoso dos insetos, atuando como agonistas dos receptores nicotínicos da acetilcolina (Buckingham *et al.*, 1997; Ihara *et al.*, 2006; Elbert *et al.*, 2008).

Tratando-se de um inseticida sistêmico que persiste nas plantas durante todo o período de crescimento, eles afetam organismos não-alvo, tais como polinizadores. Por exemplo, resíduos deixados pelo imidacloprido no pólen e néctar, que são produtos finais da alimentação dos polinizadores, prejudicam seriamente o olfato e a memória, elementos essenciais para o comportamento de forrageamento das abelhas operárias (Rortais *et al.*, 2005; Halm *et al.*, 2006). Atualmente, em diversos países do mundo, vem ocorrendo o declínio das colônias de abelhas *Apis mellifera* Linnaeus, 1758 (Hymenoptera: Apidae). As pesquisas relatam que o imidacloprido está associado ao distúrbio do colapso das colônias, com ameaças de extinção das abelhas (Laurent & Rathahao, 2003; Chauzat *et al.*, 2006).

De acordo com o Departamento de Agricultura dos Estados Unidos (USDA), ocorreu uma diminuição de cerca de 30 a 60% das abelhas, sobretudo as silvestres, na Califórnia e mais de 70% em algumas regiões da costa leste dos Estados Unidos e do Texas. Na França, cerca de 90 bilhões de abelhas morreram no prazo de dez anos,

reduzindo a produção de mel em até 60% (Albajes *et al.*, 2003; Kilpatrick *et al.*, 2005).

Em março de 2013, a American Bird Conservancy, publicou uma revisão de 200 estudos sobre os neonicotinóides, pedindo uma proibição do uso desses pesticidas para tratamento de sementes devido à sua toxicidade para as aves, invertebrados aquáticos, e outros animais selvagens (Pierre & Palmer, 2013). Em Abril de 2013, a Comissão Européia banuiu três dos principais neonicotinoides (imidacloprido, clotianidina e tiametoxam) em todos os países membros na União Europeia (Figura 2).



**Figura 2.** Estruturas da (A) Clotianidina e do (B) Tiametoxam.

Entre 2010 e 2012, o Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis (IBAMA, 2012) identificou mais de cem casos de mortes em massa de abelhas pelo Brasil. Isso motivou a publicação de uma portaria que proíbe a aplicação do imidacloprido por via aérea, prática que pode produzir maior deriva e consequentemente maior exposição para as populações de abelhas.

Embora os inseticidas sintéticos ainda sejam o principal meio de proteção às culturas, o uso de métodos alternativos tem aumentado em função da necessidade atual de superar problemas como resistência e redução dos riscos de contaminação ambiental provocados pelos produtos sintéticos.

As alternativas que estão sendo investigadas incluem a utilização de compostos menos tóxicos, chamados de biorracionais, pois são relativamente inócuos para organismos não-alvos e podem ser utilizados de maneira integrada ao controle biológico. Como possuem alvo específico, eles reduzem o risco do uso, preservam a saúde ambiental e humana, promovendo sustentabilidade e reduzindo os riscos ambientais, sendo, em alguns casos, necessárias quantidades relativamente pequenas para o controle efetivo ( Horowitz & Ishaaya, 2004). Insetidas classificados como biorracionais incluem várias classes de reguladores de crescimento de insetos, produtos microbianos, moléculas sintéticas com novos modos de ação e compostos derivados de plantas (Sadeghi *et al.*, 2009).

No Brasil existem várias pragas que ameaçam os sistemas florestais e sua sustentabilidade, principalmente a indústria brasileira de celulose e papel, que tornou-se mundialmente competitiva, colocando o Brasil entre os principais produtores mundiais. O País detém uma parcela significativa dos plantios globais estimado em 7,0 milhões de hectares. No Brasil, 100% da produção de celulose e papel têm como origem florestas plantadas de eucalipto e pínus de acordo com a Associação Brasileira de Celulose e Papel (Bracelpa, 2013).

Dentre as pragas florestais que ocorrem nestes plantios são incluídas duas espécies de hemípteros *Thaumastocoris peregrinus* Carpintero & Dellapé, 2006 (Hemiptera: Thaumastocoridae) em eucalipto e *Cinara atlantica* (Wilson,1919) (Hemiptera:Aphididae) em pínus espécies exóticas e com ocorrência no Brasil. Ambas as espécies, se destacam por serem pragas de grande importância econômica. O *T. peregrinus*, vulgarmente conhecido como percevejo bronzeado, foi registrado no Brasil em 2008 (Wilcken *et al.*, 2010) e citado como o mais novo inseto-praga do eucalipto. Nativo da Austrália, vem se dispersando rapidamente pelo mundo, tendo

sido registrado na África do Sul (Jacobs & Naser, 2005), Zimbábue, Malawi (Nadel *et al.*, 2010), Argentina (Noack & Coviella, 2006), Uruguai (Martínez & Bianchi, 2010), Quênia (Noack *et al.*, 2011), Chile (Ide *et al.*, 2011), Itália (Laudonia & Sasso, 2012) e Nova Zelândia (Sopow *et al.*, 2012), infestando diferentes espécies e híbridos de *Eucalyptus* spp. (Jacobs & Naser, 2005; Carpintero & Dellapé, 2006; Noack & Coviella, 2006; Bouvet & Vaccaro, 2007; Martínez & Bianchi, 2010).

O pulgão-gigante-do-pínus, *C. atlantica*, foi registrado pela primeira vez no Brasil em 1998 (Lazzari & Zonta-de-Carvalho, 2000). É considerado atualmente uma importante praga dos reflorestamentos de Pinus no Brasil. Introduzido acidentalmente em nosso país, este afídeo, é originário dos Estados Unidos e Canadá (Johnson & Lion, 1976), apresentando capacidade de dispersão por todas as áreas de pínus do Brasil.

A busca por informações e medidas que controlem o percevejo bronzeado é hoje uma preocupação em todos os países onde sua presença foi diagnosticada. No Brasil, os estudos ainda são iniciais e há a necessidade de se desenvolver metodologia de controle desta praga com urgência, tendo em vista os danos que essa praga tem provocado nessa importante cultura.

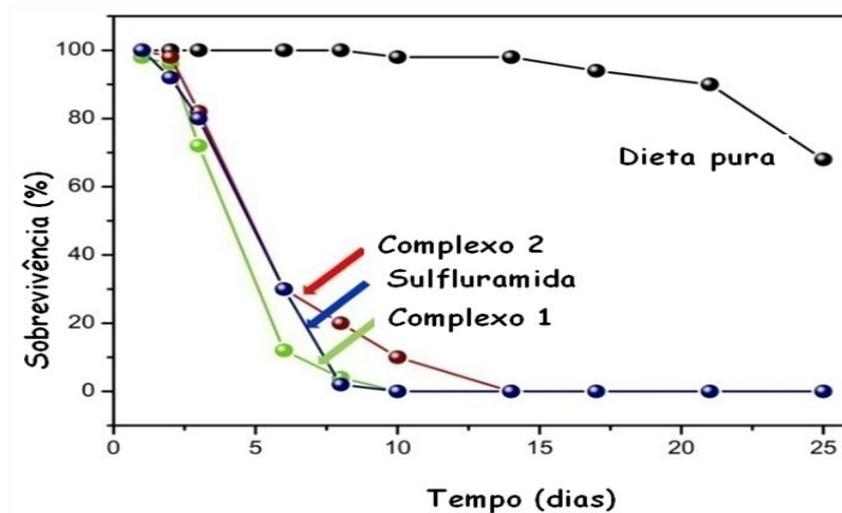
Em relação ao controle de *C. atlantica*, o inseticida registrado para uso é o imidacloprido (Agrofit, 2013), que apresenta risco considerável para o homem e outros organismos não alvos, desenvolvimento de resistência da praga e contaminação do meio ambiente.

Considerando a necessidade de se desenvolver novos compostos com ação inseticida que sejam menos tóxicos ao meio ambiente e ao homem, foi iniciado um estudo que faz parte de um projeto amplo financiado pelo CNPq e intitulado “INCT – Controle Biorracional de Insetos-Praga” visando a síntese de novas moléculas que

atendam aos requisitos de eficiência sem as desvantagens dos inseticidas convencionais. Esse projeto levou à síntese de alguns compostos, entre eles um composto de baixa toxicidade para o homem e com baixo potencial poluente de sistemas aquáticos, que pode, quando decomposto, gerar fragmentos com ação benéfica ao desenvolvimento de plantas em geral. Tal composto, é denominado de complexo 1, apresentou resultados promissores no combate às formigas cortadeiras do gênero *Atta* e às larvas do mosquito *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) (Diptera, Culicidae) (Souza, 2012).

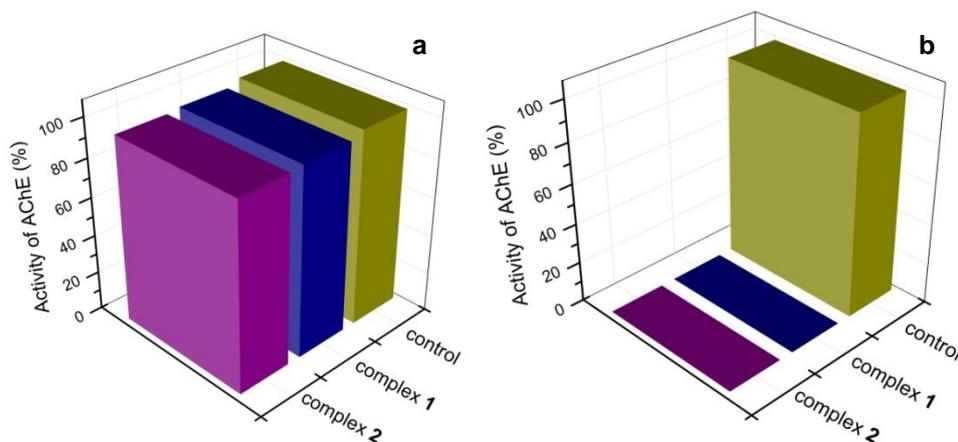
Ressalta-se que o controle das formigas cortadeiras, é difícil de ser realizado e inseticidas sintéticos como a sulfluramida e o fipronil, incorporados à dieta alimentar, são os mais utilizados. No entanto, tais pesticidas não poderão mais ser empregados para o controle de pragas, como é o caso do fipronil e do endossulfan que, de acordo com a ANVISA, só poderão ser usados até julho de 2013 (Anvisa, 2012).

Os resultados dos estudos preliminares foram protegidos com o depósito de uma patente em 2012 (Fernandes *et al.*, 2012). A ação desse novo pesticida se mostrou lenta, como no caso da sulfluramida, possibilitando que as formigas carreguem a isca para o formigueiro, o que acarreta um controle efetivo, conforme demonstrado na Figura 3.



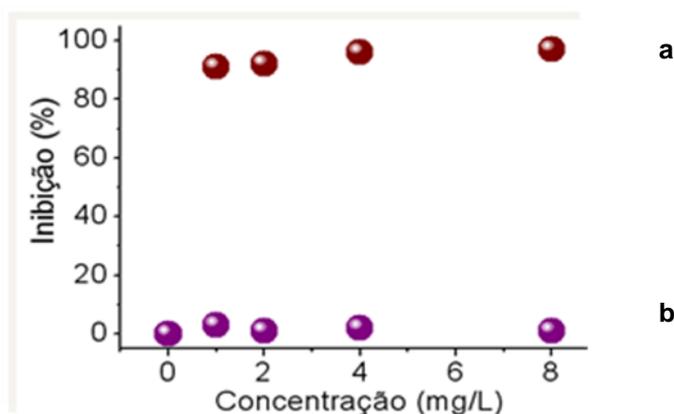
**Figura 3.** Porcentagem de sobrevivência da formiga cortadeira *Atta sexdens rubropilosa* alimentada com isca artificial contendo diferentes compostos.

Estudos preliminares realizados sobre o mecanismo de ação desse inseticida (resultados em fase de publicação) indicaram que a enzima acetilcolinesterase, nas formigas *Atta sexdens rubropilosa*, foi totalmente inibida ao contrário do que foi observado para a enzima da enguia *Electrophorus electricus*, animal utilizado como modelo de vertebrado neste tipo de estudo (Figura 4).



**Figura 4.** : a) atividade da AChE de *Electrophorus electricus* na presença do complexo e b) atividade da AChE de *Atta sexdens rubropilosa* na presença do complexo.

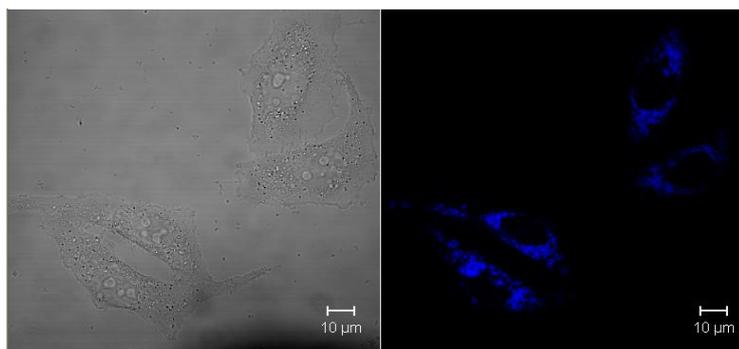
Aliada à desejada ação seletiva desse complexo na inativação da enzima AChE de animais invertebrados, frente à de animais vertebrados, observou-se também uma baixa toxicidade desse complexo frente a animais aquáticos em estudo utilizando a bactéria *Vibrio fisheri* (resultados em fase de publicação) (Figura 5).



**Figura 5.** Toxicidade de sulfato de zinco (a) e do complexo 1 (b) frente a bactéria *Vibrio fisheri*.

Além das características desejáveis do complexo 1, como sua baixa toxicidade a animais aquáticos e sua seletividade na inibição da enzima AChE de invertebrados, ressalta-se que se trata de um composto fácil de ser sintetizado, o que lhe confere um custo competitivo com os pesticidas sintéticos empregados atualmente.

Outra propriedade interessante do complexo 1 é sua fotoluminescência, ou seja, quando submetido à luz com um determinado comprimento de onda, ele emite luz em um comprimento de onda que lhe confere uma coloração azul intensa. Essa propriedade é ilustrada na Figura 6 ao se analisar células HeLa que foram incubadas com uma solução do complexo 1.



**Figura 6.** Imagens obtidas de análise via microscopia confocal de células HeLa a) controle (esquerda); b) células incubadas com composto 1 (5 uM) a 37 ° C durante 30 min (direita).

Essa proposta de trabalho foi, portanto, baseada em resultados inéditos e promissores envolvendo o desenvolvimento de um novo inseticida visando o controle biorracional de importantes pragas florestais, como *C. atlantica* e *T. peregrinus*, cujos objetivos foram:

### 1.1. Objetivo Geral

Avaliar-se a eficiência de uma nova molécula inseticida no controle de ninfas do pulgão-gigante-do-pínus, *C. atlantica* e o efeito subletal no seu comportamento alimentar, assim como o efeito da toxicidade em ninfas e adultos do percevejo bronzeado, *T. peregrinus*, e sobre seus parasitoides *Cleruchoides noackae* Lin & Huber, 2007 (Hymenoptera: Mymaridae).

#### 1.1.1. Objetivos Específicos

- Avaliar a toxicidade e o período de ação do novo inseticida de origem sintética no controle de ninfas de *C. atlantica* e ninfas e adultos de *T. peregrinus*.
- Determinar as concentrações letais CL<sub>50</sub> e CL<sub>90</sub> para ninfas de *C. atlantica* e ninfas e adultos de *T. peregrinus*.

- Estudar o comportamento alimentar de fêmeas ápteras de *C. atlantica* em mudas de *P. taeda* tratadas com o novo inseticida na concentração subletal CL<sub>50</sub> (24 h), através da Técnica de Monitoramento Eletrônico (EPG).
- Testar a seletividade do novo inseticida para *C. noackae*, parasitoide de ovos de *T. peregrinus*.

## 2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1. *Cinara atlantica* (Hemiptera: Aphididae)

#### 2.1.1. Hospedeiros

O pulgão-gigante-do-pínus tem como seu hospedeiro, no Brasil, espécies do gênero *Pinus* que são originárias da América do Norte e foram introduzidas no Brasil, no século XIX, trazidas pelos imigrantes europeus, com finalidade ornamental. Elas pertencem à família Pinaceae e o gênero possui, aproximadamente, 90 espécies (Dossa *et al.*, 2002).

Os plantios de *Pinus* spp. no Brasil estão concentrados em uma área de 2 milhões de hectares, com a finalidade de fornecer madeira para a produção de papel e celulose, madeira serrada e madeira para laminação (ABRAF, 2013). A ampla variação na adaptabilidade e crescimento das espécies de *Pinus* permite ganhos elevados em produtividade. As espécies originárias do sul dos Estados Unidos (*P. taeda* e *P. elliotti*) estão sendo muito utilizadas no Estado de São Paulo e na região Sul do Brasil.

O desequilíbrio ambiental provocado pela intensificação da monocultura e a utilização de práticas silviculturais inadequadas, têm tornado estes plantios suscetíveis ao ataque de pragas e doenças, assim como, têm facilitado a colonização, estabelecimento e dispersão de pragas introduzidas (Penteado *et al.*, 2000a).

As espécies de *Cinara* estão associadas a gêneros de Pinaceae e Cupressaceae. A especificidade hospedeira pode ser ao nível de espécie ou em um único gênero, ou até mesmo entre vários gêneros. Entretanto, a maioria das espécies é encontrada em *Pinus* spp. (Voegtlin, 2003). Os hospedeiros de *C. atlantica* são espécies, *P. canariensis*, *P. clausa*, *P. cubensis*, *P. douglasiana*, *P. duragensis*, *P. echinata*, *P. elliottii*, *P. glabra*,

*P. gregii*, *P. lumholtzii*, *P. muricata*, *P. nigra*, *P. occidentalis*, *P. oocarpa*, *P. palustris*, *P. patula*, *P. pungens*, *P. radiata*, *P. resinosa*, *P. rigida*, *P. roxburghii*, *P. serotina*, *P. strobilus*, *P. sylvestris*, *P. taeda*, *P. virginiana* (Voegtlin, 2003).

### 2.1.2. Bioecologia de *Cinara atlantica*

O gênero *Cinara* (Hemiptera: Aphididae) é composto por espécies que infestam coníferas, distribuídas por várias regiões do mundo, com cerca de 200 espécies descritas (Blackman & Eastop, 1984). No Brasil, foram registradas as espécies de afídeos, *Cinara pinivora*, (Wilson, 1919), em 1996 (Iede *et al.*, 1998) e *Cinara atlantica*, (Wilson, 1919), em 1998 (Lazzari & Zonta-de-Carvalho 2000), (Lachninae, Cinarini). Esses afídeos, que são nativos da América do Norte e Canadá, atacam somente plantas do gênero *Pinus*. De acordo com Eastop (1972), *C. atlantica* é considerado um grupo primitivo, devido as seguintes características: grande tamanho dos seus indivíduos (2 a 7 mm), venação das asas completa, vestígios de um terceiro segmento tarsal, 4º segmentos do estilete bem definidos, olhos compostos.



**Figura 7.** Pulgão-gigante-do-Pinus *Cinara atlantica* (Hemiptera: Aphididae) (Foto: Vanusa Rodrigues Horas).

O desenvolvimento desses insetos depende da área geográfica em que se encontram, sendo que em regiões tropicais e subtropicais ocorrem várias gerações anuais, com exclusiva reprodução partenogenética, dando origem a fêmeas vivíparas, desenvolvendo rapidamente colônias numerosas. Em condições desfavoráveis como, por exemplo, em condições de baixa qualidade de alimento e alta densidade populacional, surgem indivíduos alados, responsáveis pela migração/dispersão da espécie (Pereira *et al.*, 2009).

Nas regiões temperadas, no final do outono e começo do inverno, as fêmeas deixam de se reproduzir por partenogênese e ocorre a reprodução bissexuada, dando origem a machos e fêmeas ovíparas (Carver *et al.*, 1991).

Atualmente esses afídeos encontram-se distribuídos pelos estados do Rio Grande do Sul, Santa Catarina, Paraná, São Paulo e Minas Gerais, mas com capacidade para dispersar a longas distâncias por correntes de vento e através de mudas, infestando novas áreas de plantio de pinus no Brasil (Penteado *et al.*, 2004).

### **2.1.3. Danos de *Cinara atlantica* em *Pinus* spp.**

Os afídeos são exclusivamente fitófagos, causando danos diretos e indiretos em suas plantas hospedeiras. Os danos diretos, são ocasionados pela sucção do floema, desviando assim nutrientes necessários para o crescimento e reprodução das plantas para seu próprio benefício. Os danos indiretos são causados pelo fungo fumagina, sendo o seu desenvolvimento favorecido pelo produto da excreção açucarada dos afídeos o “honeydew”. O fungo apresenta uma coloração escura, que recobre os ramos e as folhagens reduzindo a atividade fotossintética, dificultando os processos de respiração e transpiração da planta, interferindo no seu desenvolvimento (Penteado *et al.*, 2000b).

A espécie *C. atlantica* alimenta-se em colônias localizadas nos brotos, ramos, caule e podem até ser detectadas nas raízes, causando a dessecação dos tecidos e, em altas densidades populacionais, provocam queda das acículas e até a morte da planta (Fox & Griffith, 1977). Os ataques mais intensos e com danos mais significativos ocorrem em mudas e em plantios novos, durante o inverno, porém, *C. atlantica* possui grande adaptação para sobreviver nos períodos mais quentes, podendo ser encontradas ao longo do ano (Penteado *et al.*, 2000a; Cardoso & Lazzari, 2003).

As árvores atacadas por *C. atlantica* podem apresentar os seguintes sintomas: clorose, redução do crescimento em diâmetro e altura das plantas, entortamento do fuste, seca dos brotos e superbrotção pela destruição do broto apical; a alimentação pode causar a seca do ramo e progressivamente a morte das plantas, contribuindo para redução do valor econômico da madeira (Penteado *et al.*, 2000b) (Figura 8).



**Figura 8.** Alguns danos causados por *Cinara atlantica*. (A) morte dos ponteiros (B) clorose (Foto: Google).

#### 2.1.4. Controle de *Cinara atlantica*

Quanto ao controle desta praga, tem sido observada no campo, a ocorrência de insetos predadores, tais como: espécies das famílias Coccinellidae, Syrphidae, Crhrysopidae, Hemerobiidae, Staphilinidae, Cecidomyiidae e Nabidae, que ocorrem naturalmente nas condições brasileiras (Penteado, 2007).

Visando otimizar o controle biológico, a Embrapa Florestas, em colaboração com o Funcema (Fundo Nacional de Controle de Pragas Florestais), Epagri e Universidade de Illinois, implantaram em 2001, o Programa de Controle Biológico do pulgão-gigante-do-pínus, introduzindo o parasitoide *Xenostigmus bifasciatus* Ashmed 1891 (Hymenoptera: Braconidae), do Leste do Estados Unidos da América (Reis Filho *et al.*, 2004).

Os parasitoides foram criados na Embrapa Florestas e posteriormente liberados em diversas florestas de pínus dos estados de Santa Catarina, Paraná e São Paulo. Isso resultou numa ampla dispersão do parasitoide, que se estabeleceu em todos os locais de liberação, dispersando-se, a cada ano, num raio de aproximadamente 80 km, havendo casos de 90% de controle de algumas colônias de pulgão (Reis Filho *et al.*, 2004). Atualmente esse afídeo é parasitado por esse inimigo natural no campo (Penteado *et al.*, 2004).

O fungo entomopatógeno *Lecanicillium lecanii* (Moniliaceae) causa epizootia natural em ninfas e adultos do pulgão-gigante-do-pínus e demonstra um grande potencial para ser aplicado no controle dessa praga (Penteado, 2007). A patogenicidade de *L. lecanii* tem sido testada contra várias pragas, como o hemíptero *Trialeurodes vaporariorum*, os pulgões *Aphis gossypii* (Hall, 1982); *Myzus persicae*, *Brachycaudus helichrysi* e *Macrosiphoniella sanborni* (Hall & Burges, 1979). Penteado *et al.* (2001) registraram a ocorrência do fungo

entomopatogênico *Lecanicillium* sp. (Moniliaceae), no ano de 2000, infectando colônias de *C. atlantica* e *C. pinivora*, em campo e relataram que este fungo se desenvolve naturalmente no ambiente quando encontra as condições favoráveis.

Além do controle natural, como medidas preventivas, os produtores devem dispor de sementes e mudas de boa qualidade e procedência garantida e de efetuar a manutenção da cobertura vegetal visando proporcionar um ambiente favorável ao desenvolvimento de fungos entomopatogênicos. Porém, outros fatores como época e sistema de plantio e manutenção de sub-bosque são extremamente importantes, utilizando-se técnicas que facilitem o desenvolvimento radicular e que favoreçam a presença de vegetação secundária entre as filas de pinus. Devem ser realizadas apenas roçadas na fila e, se necessário, o coroamento da muda plantada. Estas ações favorecerão a ocorrência dos inimigos naturais dos pulgões uma vez que permitirão um bom desenvolvimento das plantas (Penteado *et al.*, 2004).

Com relação ao controle químico, antes mesmo da Segunda Guerra Mundial, o único inseticida realmente eficiente para o controle de pulgões era a nicotina, extraída de folhas do tabaco e vendido na forma de sulfato. A nicotina foi registrada na Europa e utilizada até meados da década de 1990. Matando pelo efeito de contato, a sua ação não é persistente. A nicotina é extremamente tóxica para os vertebrados e, conseqüentemente, foi substituída por outros produtos sintéticos (Figura 9).

**Figura 9.** Estrutura da nicotina.

O primeiro inseticida organoclorado, dicloro-difenil-tricloroetano, DDT, foi descoberto em 1939 (Figura 10).

**Figura 10.** Estrutura do DDT.

Após a segunda guerra mundial, o controle químico de pulgões passou a ser efetuado também com outros compostos organoclorados, com organofosforados na década de 50, carbamatos na década de 1960 e piretróides a partir de 1970.

Desde o início do uso intenso de aficidas, clones resistentes de diferentes espécies de afídeos tem surgido e, uma ou mais famílias de inseticidas foram selecionados nos tratamentos das áreas agrícolas no mundo. Em meados dos anos 1980, em torno de 20 espécies de afídeos tinham desenvolvido clones resistentes para um ou mais inseticidas (Devonshire, 1989).

No início dos anos 90, uma nova família de inseticida foi desenvolvida, os neonicotinóides, subclasse das cloronicotinilas e tianicotinilas, os quais possuem uma ação sistêmica nas plantas e são utilizados para o controle de insetos sugadores (Tomizawa & Casida, 2003). Em geral eles são usados no tratamento de sementes e neste caso, pulgões e insetos sugadores que se alimentam do floema são intoxicados após a primeira ingestão da seiva (Quillec & Dedryver, 1992).

Embora os neonicotinóides atuem de modo totalmente distinto dos organofosforados e carbamatos, os sintomas resultantes da intoxicação são semelhantes e incluem tremores, convulsões (eventualmente, colapso do sistema nervoso central) e morte (Marçon, 2003; Tomizawa & Casida, 2003; Angelini *et al.*, 1997).

Atualmente, para o controle químico de *C. atlantica* encontra-se registrado um produto comercial com o princípio ativo imidacloprido, pertencente à classe química dos neonicotinóides, cuja estrutura está ilustrada na Figura 1, p. 6 (Agrofit, 2013).

O imidacloprido apresenta ação sistêmica e atua como um agonista dos receptores da acetilcolina, fazendo com que o inseto reduza ou pare a alimentação e mobilidade (Boiteau & Osborn, 1997; Elbert *et al.*, 1998; Nauen *et al.*, 1998).

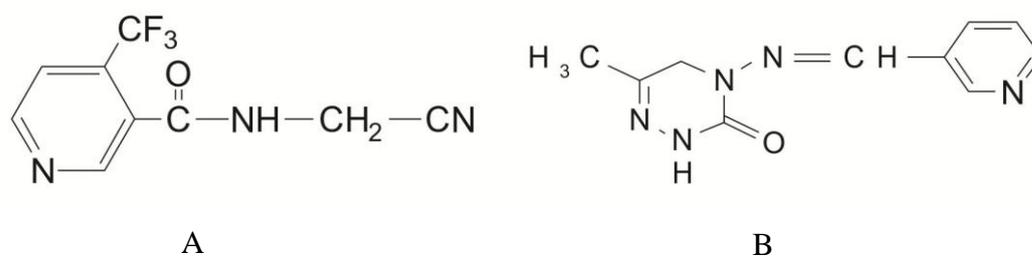
Esse inseticida é recomendado para controlar alta infestação em plantações de alto valor comercial, pomares de semente e em viveiro de pínus (Agroads, 2013). O imidacloprido se enquadra na classificação toxicológica II - altamente tóxico, segundo o Ministério da Saúde e sua classificação ambiental III - perigoso ao meio ambiente, segundo o Ibama (Anvisa, 2014).

Em viveiros comerciais, há registros da ocorrência de *C. atlantica*, causando a morte de diversas mudas. Tratando-se de uma praga que ocorre nos primeiros três anos do plantio, bioensaios laboratoriais são necessários, para a avaliação das melhores concentrações do novo inseticida, para redução do ataque de *C. atlantica* na fase de adaptação das mudas de pínus no campo, já que se trata de uma praga de difícil controle, devido ao tipo de cultura que atacam e ao hábito de ficarem protegidos no caule das árvores.

Devido aos efeitos nocivos conhecidos dos agrotóxicos convencionais, há uma crescente demanda para a utilização de alternativas para reduzir os riscos destes

produtos. As alternativas estão sendo atualmente investigadas e incluem o uso de compostos biorracionais que são compatíveis com o manejo integrado de pragas (Horowitz & Ishaaya, 2004).

Flonicamida e pimetrozina são dois novos inseticidas com atividade seletiva contra insetos sugadores, atuando como inibidores de alimentação, causando mortalidade devido à falta de nutrientes (Harrewijn & Kayser, 1997; Denholm *et al.*, 1998; Morita *et al.*, 2007) (Figura 11).



**Figura 11.** Estruturas químicas da flonicamida (A) e pimetrozina (B).

### 2.1.5. Técnica de Monitoramento Eletrônico - EPG

A técnica de monitoramento eletrônico foi introduzida por McLean & Kinsey (1964) para estudo da penetração dos estiletes dos insetos nos tecidos vegetais e foi originalmente denominada “Electrical Monitoring System” (EMS). Este sistema foi modificado e melhorado por Tjallingii (1988), que o nomeou como “Electrical Penetration Graphs” (EPG). Esta técnica consiste da análise detalhada dos caminhos percorridos pelos estiletes dos insetos sugadores pelos tecidos da planta, bem como as atividades biológicas envolvidas. Baseia-se no princípio de que o inseto e a planta fazem parte de um circuito elétrico primário juntamente com uma fonte de voltagem e

uma resistência, e assim a variação da voltagem é gravada e registrada em diferentes padrões e ondas (McLean & Kinsey, 1964; Tjallingii, 1978).

No dorso do inseto é fixado, com o auxílio de uma gota de cola especial (tintura de prata) condutiva, um fino eletrodo de ouro (10 a 20  $\mu\text{m}$ ). O outro eletrodo é conectado ao substrato que contém as plantas (solo, dieta ou água), sendo suplementado com uma fonte de baixa voltagem. A partir do momento que o inseto penetra o seu estilete na planta, o circuito elétrico é fechado (Tjallingii, 1978).

De acordo com Tjallingii (1978; 1988), diferentes formas de ondas relacionadas às atividades do afídeo foram caracterizadas como: A não-prova (np), que corresponde ao tempo que o inseto permanece com os estiletos fora da planta. Após a penetração e o caminhar intercelular dos estiletos, ocorrem outras ondas, A, B, F e C, normalmente consolidadas como onda C. Os afídeos fazem breves penetrações intracelular, as conhecidas como quedas de potencial (“pds”) seguido de repetitivas quedas de potencial (“R-pds”) que antecede à fase do floema, que é dividida em duas subfases, a E1, que corresponde à salivagem dentro dos tubos crivados, e a E2 que consiste na ingestão da seiva do floema.

Esta técnica tem sido aplicada principalmente para auxiliar em diferentes tipos de estudos, tais como mecanismo de transmissão de fitopatógenos (Martin *et al.*, 1997; Fereres & Collar, 2001), ação de inseticidas (Nisbet *et al.*, 1993), avaliação de plantas transgênicas (Liu *et al.*, 2005) e a resistência de plantas a insetos sugadores (Caillaud *et al.*, 1995; Lei *et al.*, 1998).

## **2.2. *Thaumastocoris peregrinus* (Hemiptera: Thaumastocoridae)**

### **2.2.1. Hospedeiros**

O percevejo bronzeado tem como seu hospedeiro espécies de *Eucalyptus* e *Corymbia*. O gênero *Eucalyptus* tem a sua origem na Austrália, Tasmânia e outras ilhas da Oceania. O Brasil apresenta condições edafoclimáticas (clima e solo), favoráveis ao plantio do eucalipto, o que lhe confere rápido crescimento, atingindo os mais altos índices de produtividade do mundo. Estima-se que existam, aproximadamente, 4,87 milhões hectares de florestas plantadas de eucalipto no Brasil. Nos últimos cinco anos, as florestas plantadas com eucaliptos têm crescido a uma taxa anual de 2,5% (ABRAF, 2012). A grande parte das plantações de eucalipto estão concentrados na América do Sul (Brasil e Chile) e na Ásia (Paine *et al.*, 2011).

A presença do percevejo bronzeado foi detectada em 26 espécies do gênero *Corymbia* e *Eucalyptus* da família Myrtaceae sendo elas, *C. citriodora*, *C. henryi*, *C. maculata*, *E. argophloia*, *E. benthamii*, *E. botryoides*, *E. canldulensis*, *E. dorrigoensis*, *E. dunnii*, *E. globulus* ssp. *bicostata*, *E. globulus* ssp. *globulus*, *E. globulus* ssp. *maidenii*, *E. grandis*, *E. longirostrata*, *E. macarthurii*, *E. microcorys*, *E. nicholii*, *E. paniculata*, *E. pauciflora*, *E. punctata*, *E. saligna*, *E. scoparia*, *E. sideroxylon*, *E. smithii*, *E. urophylla*, *E. tereticornis*, *E. viminalis* (Never, 2005; Noack & Coviella, 2006; Bouvet & Vacarro, 2007; Nadel *et al.*, 2010; Wilcken *et al.*, 2010).

### **2.2.2. Bioecologia de *Thaumastocoris peregrinus***

O gênero *Thaumastocoris* (Hemiptera: Thaumastocoridae) é composto por 14 espécies descritas, distribuídas por várias regiões do mundo. Esse percevejo, que é

nativo da Austrália, foi detectado no Brasil em 2008 em São Francisco de Assis, RS (Wilcken *et al.*, 2010).

O percevejo bronzeado é um inseto sugador. O adulto mede aproximadamente 3 mm de comprimento (Figura 12), possui corpo fortemente achatado, alongado dorsoventralmente, dorso moderadamente reluzente, com perfurações setosas relativamente rasas, cabeça larga contendo olhos pedicelados. Estes são caracterizados por placas mandibulares recurvadas, pronoto com constrição mediana, fêmures engrossados, apêndices apicais nas tíbias, fóssula esponjosa alongada e cápsula genital masculina assimétrica predominantemente orientada para a direita. *T. peregrinus* alimenta-se de folhas maduras dos hospedeiros e as ninfas recém-emergidas iniciam a alimentação na superfície das folhas quase imediatamente após emergirem (Noack *et al.*, 2011).

A reprodução é sexuada (Figura 13), sendo que cada fêmea ovípara, em média, 60 ovos. Estes possuem coloração preta e geralmente ficam agrupados nas folhas e ramos (Jacobs & Naser, 2005). Apresentam formato oval (0,5 mm de comprimento e 0,2 mm de largura) cório esculturado, opérculo arredondado e uma depressão dorso-lateral. O período embrionário é de seis dias (Laudomia & Sasso, 2012).



**Figura 12.** Adulto do percevejo bronzeado *Thaumastocoris peregrinus* (Hemiptera: Thaumastocoridae) (Foto: Vanusa Rodrigues Horas).

A fase ninfal possui cinco ínstaes (Noack & Rose, 2007), apresentando coloração laranja ou marron claro com pontuações negras no tórax e nos primeiros segmentos abdominais (Laudonia & Sasso, 2012); corpo achatado dorso-ventralmente e um par de tecas alares visíveis a partir do quarto estágio, com crescimento durante o quinto estágio (Soliman *et al.*, 2012).

O ciclo de vida (ovo/adulto) é de aproximadamente 50 dias (Barbosa *et al.*, 2010). Pode ocorrer várias gerações do inseto ao longo do ano (Button, 2007).

Os machos apresentam comportamento de agregação que está associado à presença de feromônio (González *et al.*, 2012). No entanto, este semioquímico também é produzido por fêmeas, em pequenas quantidades, sugerindo que este composto não está associado à agregação para o acasalamento (Martins *et al.*, 2012).



**Figura 13.** Acasalamento de adultos de *Thaumastocoris peregrinus* (Foto: Vanusa Rodrigues Horas).

### **2.2.3. Distribuição geográfica de *Thaumastocoris peregrinus***

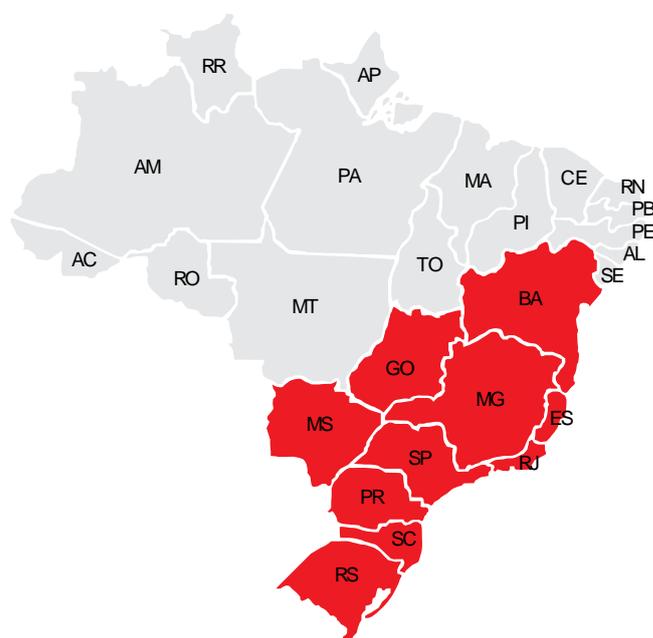
A importância econômica de *T. peregrinus* já observada em 2002 quando foi registrado pela primeira vez infestando árvores de eucalipto na área urbana de Sidney, Austrália (Noack & Coviella, 2006). Em abril de 2003 foi registrado na África do Sul (Jacobs & Naser, 2005), chegando em 2007 em Zimbábue, em 2008 em Malawi (Nadel *et al.*, 2010) e no Quênia, em 2009 (Noack *et al.*, 2011).

Na América do Sul, o inseto se dispersou rapidamente desde o primeiro registro na Argentina, em 2005 (Noack & Coviella, 2006), no Uruguai em 2008 (Martínez & Bianchi, 2010), no Chile em 2009 (Ide *et al.*, 2011).

Em 2011 *T. peregrinus* foi detectado na Itália, marcando o primeiro registro na Europa (Laudonia & Sasso, 2012) e na Nova Zelândia e Portugal em 2012 (Sopow *et al.*, 2012; Garcia *et al.*, 2013), infestando diferentes espécies e híbridos de *Eucalyptus*

(Jacobs & Nesar, 2005; Carpintero & Dellapé, 2006; Noack & Coviella, 2006; Bouvet & Vaccaro, 2007; Martínez & Bianchi, 2010).

No Brasil foi registrado em 2008 inicialmente no Estado do Rio Grande do Sul, disseminando-se rapidamente para os principais estados produtores. Sua presença foi confirmada em São Paulo, Minas Gerais, Espírito Santo, Rio de Janeiro, Mato Grosso do Sul (Wilcken *et al.*, 2010), Bahia (Lima *et al.*, 2010), Paraná (Barbosa *et al.*, 2010), Santa Catarina (Savaris *et al.*, 2011) e Goiás (Pereira *et al.*, 2013) (Figura 14).

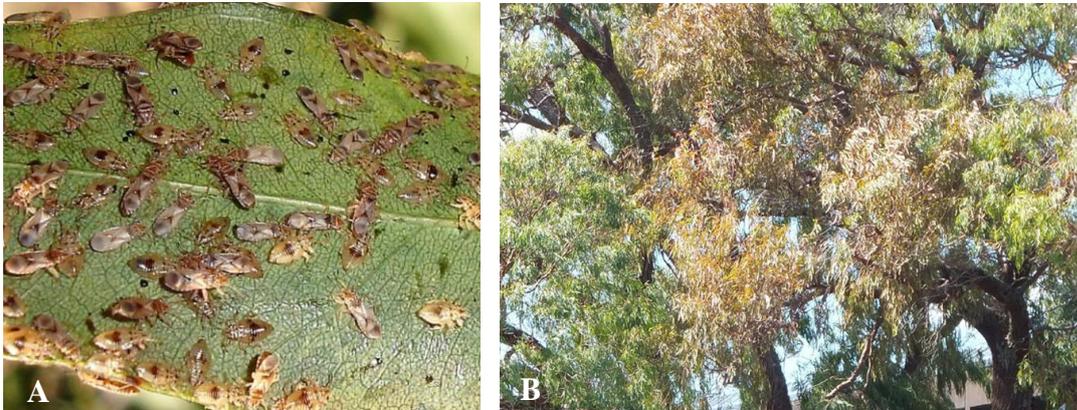


**Figura 14.** Distribuição geográfica de *Thaumastocoris peregrinus* no Brasil.

#### **2.2.4. Danos causados por *Thaumastocoris peregrinus* em *Eucalyptus* spp.**

Os adultos e as ninfas ocasionam injúrias devido à sucção de seiva. Os danos estão relacionados à queda de folhas acarretando a diminuição da área fotossintética e em altas populações, até a morte das plantas. Em árvores infestadas inicialmente é observado um prateamento das folhas, seguido por um bronzeamento. Devido a

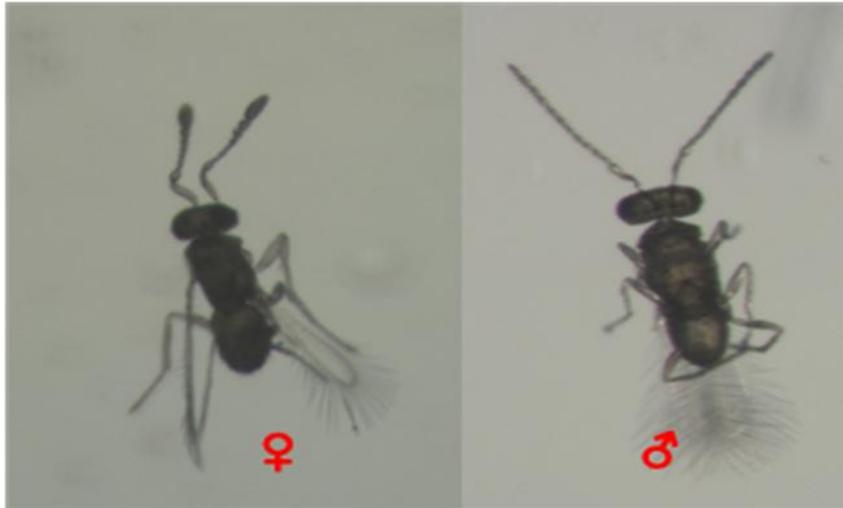
esta característica é denominado vulgarmente de percevejo bronzeado (Jacobs & Naser, 2005; Wilcken *et al.*, 2010).



**Figura 15.** Altas infestações de *T. peregrinus* (A) alteração da coloração da copa das árvores (B) (Foto: Google).

#### **2.2.5. Controle de *Thaumastocoris peregrinus***

Em relação às alternativas de controle, existem poucas informações sobre estratégias eficientes no manejo deste inseto em áreas comerciais de eucalipto. Há registro do inseticida sistêmico imidacloprido para uso em áreas urbanas na Austrália, por meio de microinjeção no tronco da árvore (Noack *et al.*, 2009). Porém, essa medida é viável somente para pequenas áreas como árvores isoladas em meio urbano devido ao alto custo. A utilização de inimigos naturais é uma boa alternativa para o atendimento das exigências relativas ao processo de certificação florestal e aos menores impactos ao homem e ao ambiente. O parasitoide de ovos *Cleruchoides noackae* Lin & Huber, 2007 (Hymenoptera: Mymaridae), é considerado um agente promissor no controle (Lin *et al.*, 2007) (Figura 16).



**Figura 16.** Fêmea e macho do parasitoide de ovos *Cleruchooides noackae* (Foto: Vanusa Rodrigues Horas).

Neste contexto, há relatos de predadores como *Supputius cincticeps* Stal (Hemiptera: Pentatomidae), *Crysoperla externa* Hagen (Neuropteta: Chrysopidae), *Atrachelus cinereus* Fabricius (Hemiptera: Reduviidae) e *Podisus australis* Berg (Hemiptera: Pentatomidae) predando o percevejo bronzeado (Wilcken *et al.*, 2010; Souza *et al.*, 2012; Santadino *et al.*, 2013). Em relação ao controle microbiano, foi observada a ocorrência natural do fungo *Zoophthora radicans* causando infecção em ninfas e adultos (Mascarin *et al.*, 2012). Embora tais inimigos naturais possam fazer parte de um abordagem da gestão integrada de pragas, eles não parecem ser suficientes no controle das populações em níveis economicamente aceitáveis, tal como acontece com muitas pragas florestais invasivas.

O percevejo bronzeado está se disseminando rapidamente e tem mostrado alto potencial de adaptação em diferentes regiões produtoras. Esta dispersão pode ser influenciada pelo transporte de madeira (Wilcken *et al.*, 2010) e mudas de eucalipto (Barbosa *et al.*, 2010). Assim, os danos e prejuízos causados pelo percevejo bronzeado

ao eucalipto podem ser intensificados devido ao aumento populacional nas épocas mais favoráveis.

A busca de alternativas para o controle deste inseto tornou-se uma necessidade e tem despertado o envolvimento de empresas e instituições de pesquisa, para busca de alternativas de controle deste inseto.

### **2.2.6. Seletividade**

Segundo Carvalho *et al.* (2001), a associação do método químico com o biológico é importante para o controle de pragas, permitindo a redução no número de aplicações de produtos fitossanitários, com maior economia e menor impacto ambiental. Sendo assim, uma das estratégias comumente utilizadas em programas de MIP é a utilização conjunta de agentes de controle biológico e métodos seletivos de controle químico (Medina *et al.*, 2003).

Entretanto, o crescente uso de inseticidas pode reduzir populações desses inimigos naturais e, por isso, a aplicação de compostos seletivos é muito importante para sua preservação e multiplicação nos diferentes agroecossistemas (Ripper *et al.*, 1951; Degrande *et al.*, 2002).

Paralelamente, as pesquisas sobre este tema devem fornecer informações relevantes que podem contribuir diretamente para o uso mais racional de produtos fitossanitários na agricultura, motivado tanto pela maior preservação de organismos benéficos, como os agentes de controle biológico, quanto pelo conhecimento dos efeitos da combinação dos inseticidas sobre o manejo de pragas, de forma a nortear as tomadas de decisão em relação ao momento das aplicações de inseticidas.

Dentre os agentes de controle biológico, *C. noackae* um endoparasitoide solitário de ovos de *T. peregrinus*, apresenta um grande potencial para o controle do percevejo bronzeado e foi registrado pela primeira vez em 2009, parasitando ovos do percevejo bronzeado na Austrália (Cross, 2009; Nadel *et al.*, 2010). Muito pouco se sabe sobre sua interação com *T. peregrinus* (Cross, 2009). Apesar disso, os produtores de eucalipto estão otimista que este parasitoide possa desempenhar um papel chave na redução das perdas significativas por causa de *T. peregrinus*. Em Sydney, na Austrália, estudos em laboratório com *C. noackae* conduzidos por Cross (2009 ) mostraram uma taxa de parasitismo entre 25 e 21%. Uma taxa de parasitismo de 32,2% foi relatada por Mutitu *et al.* (2013) em ovos de *T. peregrinus* na África do Sul.

Faz-se necessário um estudo envolvendo a toxicidade do novo pesticida em desenvolvimento frente a ovos do percevejo bronzeado parasitados por esse inimigo natural, uma vez que se pretende trabalhar na integração dos métodos visando o controle biorracional dessa importante praga.

### 3. MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1. Pulgão-gigante-do-Pinus

##### 3.1.1. Criação de *Cinara atlantica*

As ninfas utilizadas nos bioensaios foram provenientes de uma criação em laboratório (Figura 17). Os pulgões foram coletados em árvores de pínus localizadas na área de regeneração natural de pínus ao redor do Centro de Ciências Florestais da UFPR, no município de Curitiba, PR. Após a coleta foram transferidos para mudas de *Pinus taeda* L. com aproximadamente seis meses de idade e com 12 cm de comprimento, obtidas de um viveiro comercial Agrofior® localizado no município de Colombo, Paraná. As mudas com os pulgões foram mantidas em câmara climatizada  $20 \pm 1^\circ\text{C}$ , UR de  $70 \pm 10\%$  e fotofase de 12 horas. Para a manutenção das colônias, periodicamente as mudas de *P. taeda* eram substituídas, quando apresentavam clorose nas acículas.



**Figura 17.** Colônia de *Cinara atlantica* em caule de *Pinus taeda* (Foto: Vanusa Rodrigues Horas).

### 3.1.2. Preparação das soluções do novo inseticida

Soluções aquosas em diversas concentrações do novo inseticida sintetizado na Universidade Federal de São Carlos foram preparadas no Laboratório de Ecologia Química e Síntese de Produtos Naturais do Departamento de Química da Universidade Federal do Paraná. Com auxílio de uma balança semi-analítica a massa do novo inseticida foi pesada e em seguida diluída em água destilada para preparar as soluções nas concentrações desejadas (20 µM, 30 µM, 40 µM, 60 µM, 100 µM, 150 µM, 200 µM, 250 µM e 300 µM). Adicionado sulfóxido de dimetila (1 mL) para facilitar a dissolução, sob agitação constante.

Para o cálculo das concentrações utilizou-se a fórmula abaixo:

$$M = \frac{m}{MMV}$$

Onde:

M = concentração em micromolar (µM)

m = massa em (g)

MM = massa molar em (g/mol)

V = volume em L

### 3.1.3. Bioensaios para avaliar a toxicidade do novo inseticida para *Cinara atlantica*

Os bioensaios para avaliar a toxicidade do novo inseticida para *C. atlantica*, foram conduzidas no Laboratório de Entomologia Médica e Veterinária do Departamento de Zoologia da Universidade Federal do Paraná, em câmara

climatizada, com temperatura média de  $20 \pm 1^\circ\text{C}$ , fotofase de 12 horas e umidade relativa de  $70 \pm 10\%$ .

Para avaliar o efeito da toxicidade do novo inseticida sobre *C. atlantica*, transferiram-se 10 fêmeas adultas ápteras para mudas de *P. taeda*. Após cinco dias, retiraram-se as fêmeas adultas, deixando-se apenas dez ninfas por muda. Quando as ninfas atingiram o segundo ínstar foram iniciados os bioensaios. Essa metodologia foi proposta por se tratar de insetos sensíveis e a posterior manipulação das ninfas poderia induzir a mortalidade antes mesmo de iniciar os bioensaios.

Logo após, cada muda foi envolta com filme de PVC na região dos tubetes e fechada até a altura do caule, evitando assim a migração das ninfas para o solo. Em seguida colocada em um círculo de espuma e na seqüência em uma gaiola de PVC (37 de altura X 10 cm de diâmetro).

A utilização da gaiola nos bioensaios facilitou a observação da atividade inseticida e outros aspectos do comportamento do pulgão. Por fim, a fuga das ninfas de segundo instar foi eliminada, pelo fato da gaiola ser composta pela parte superior de plástico transparente e três aberturas laterais fechadas com tela anti-afídeo.

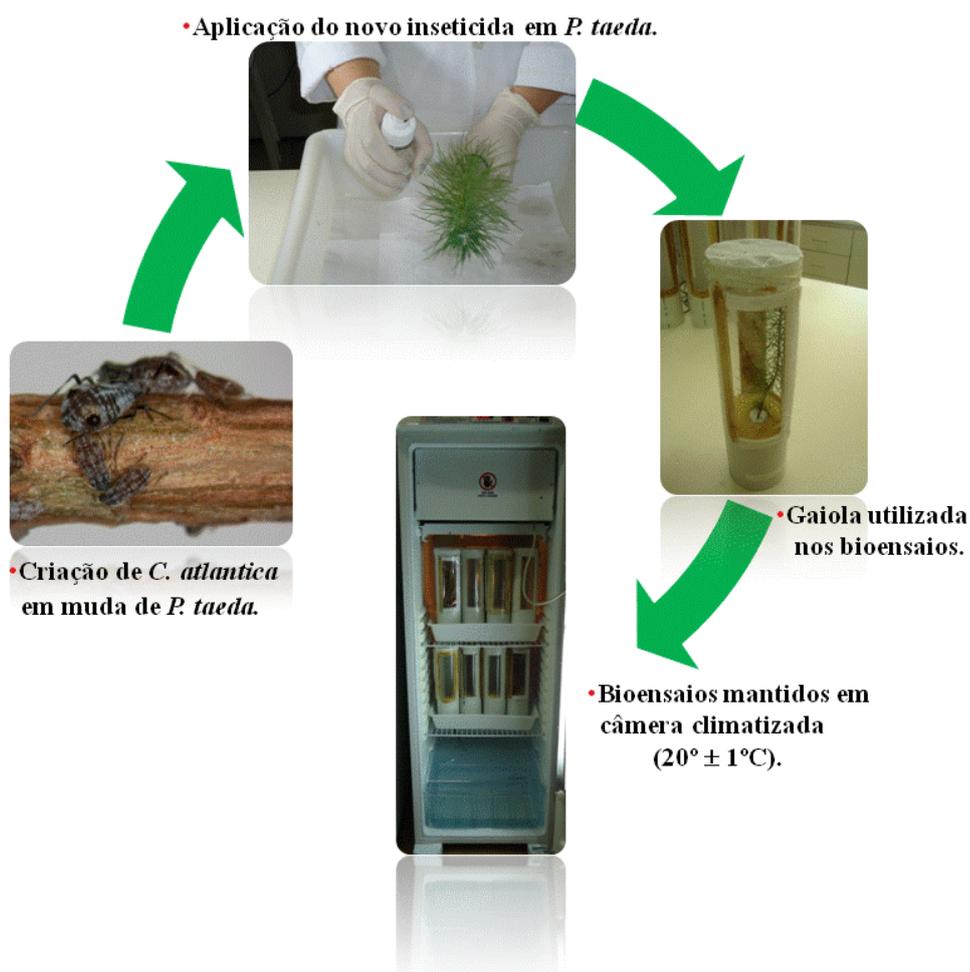
As aplicações do inseticida foram executadas com pulverizador manual. Cada muda foi pulverizada diretamente com 3 mL das soluções aquosas do composto preparadas diluindo-se a quantidade de produto (estabelecida por tratamento) em 15 mL de água destilada, para obtenção da concentração do ingrediente ativo.

Utilizou-se sulfóxido de dimetila (1 mL) como co-solvente para solubilizar o composto em água destilada. Após 10 minutos, as mudas foram acondicionadas nas gaiolas e mantidas em câmara climatizada na temperatura de  $20 \pm 1^\circ\text{C}$ , UR de  $70 \pm 10\%$  e fotofase de 12 horas.

Para a testemunha utilizou-se solução contendo água e sulfóxido de dimetila nas mesmas relações usadas nos tratamentos. Foram realizadas as avaliações durante sete dias consecutivos após a aplicação, registrando-se o número de insetos mortos a cada 24h.

Para determinar a toxicidade do composto foram testadas nove diferentes concentrações (20  $\mu\text{M}$ , 30  $\mu\text{M}$ , 40  $\mu\text{M}$ , 60  $\mu\text{M}$ , 100  $\mu\text{M}$ , 150  $\mu\text{M}$ , 200  $\mu\text{M}$ , 250  $\mu\text{M}$  e 300  $\mu\text{M}$ ).

Cada tratamento foi representado por quinze mudas de *P. taeda* contendo dez ninfas de segundo ínstar de *C. atlantica*, com três repetições por concentração (Figura 18).



**Figura 18.** Preparação dos bioensaios de *Cinara atlantica* em laboratório.

### **3.1.4. Análise Estatística**

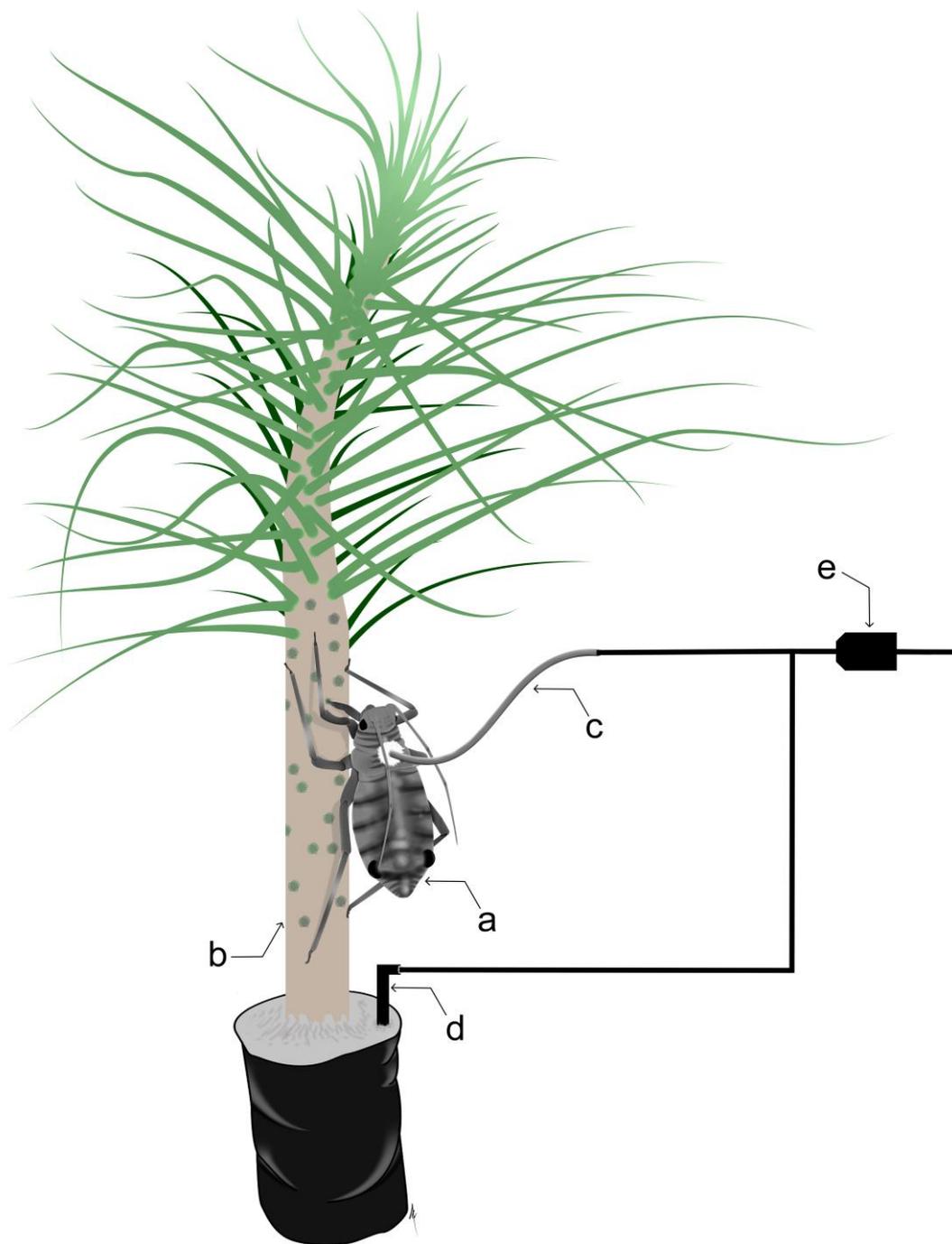
Com os dados obtidos foram calculados os percentuais de mortalidade e erro padrão pelo teste t com nível de probabilidade ( $p \leq 0,05$ ). As concentrações letais foram determinadas com a utilização do software Micro Probit.

### **3.2. Avaliação do efeito subletal do novo inseticida sobre o comportamento alimentar de *Cinara atlantica* em *Pinus taeda***

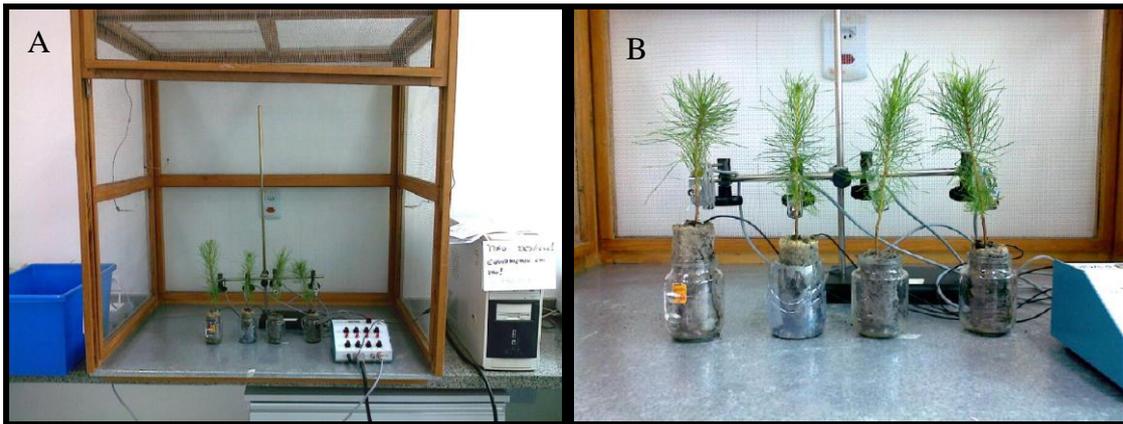
O estudo foi conduzido no Laboratório de Entomologia da Embrapa Florestas, localizado no município de Colombo/PR visando avaliar o efeito de concentração subletal da nova molécula inseticida sobre comportamento alimentar de *C. atlantica* em mudas de *P. taeda*, utilizando o sistema de monitoramento eletrônico (EPG), com o auxílio do equipamento GIGA 4 – DC.

Realizou-se o monitoramento de 15 fêmeas adultas ápteras de *C. atlantica*, por tratamento, obtidas de uma colônia pré-estabelecida em laboratório. Os insetos foram submetidos a uma hora de jejum e então foram imobilizados, com auxílio de uma bomba de vácuo NT-613, sob microscópio estereoscópico, no aumento de 20x e logo após fixados no pronoto, um fio de ouro, de 30 mm de comprimento e 20 $\mu$ m de diâmetro, com auxílio de uma cola que contém tintura de prata e solvente à base de água e com capacidade de conduzir eletricidade. A outra extremidade do fio foi conectada a um eletrodo de cobre ligado ao aparelho GIGA 4 – DC. O outro eletrodo foi inserido no substrato ds mudas de *P. taeda* (Figura 19). Quinze mudas de *P. taeda* foram tratadas com 3 mL do inseticida, na concentração subletal 72,17  $\mu$ M (CL<sub>50</sub>), diluído em água destilada e deixadas para secar por 1 hora. No tratamento testemunha, foram utilizadas 15 mudas nas mesmas condições, tratadas somente com água + DMSO (sulfóxido de dimetila).

Cada fêmea foi posicionada na base da haste da muda de *P. taeda* e seu comportamento alimentar foi registrado por 24 horas utilizando o equipamento GIGA 4 – DC. Todo este conjunto foi colocado no interior de uma “Gaiola de Faraday” (Figura 20 A), que consiste de uma armação de madeira, recoberta por uma tela metálica, isolando, dessa forma, o ruído elétrico do ambiente, durante o registro. Os registros do comportamento do inseto nas plantas pulverizadas com inseticida e na testemunha foram efetuados simultaneamente a partir de quatro canais (Figura 20 B), realizados pelo sistema computacional Probe 3.0 Acq 3.2. Após o término dos registros estes foram analisados utilizando-se o aplicativo Ana 3.2. Os vários padrões de ondas observados e a sua correlação com o comportamento de *C. atlantica* foram identificados com base nos resultados descritos por Penteado (2007).



**Figura 19.** Componentes do sistema de monitoramento eletrônico utilizado para o estudo do comportamento alimentar de *Cinara atlantica*. (a) fêmea adulta áptera (b) muda de *Pinus taeda* (c) fio de ouro (d - e) eletrodos.



**Figura 20.** A - Equipamento GIGA 4 – DC no interior da Gaiola de Faraday. B- quatro canais que registram as atividades de inserção do estilete das fêmeas adultas de *Cinara atlantica* nos tecidos das plantas de *Pinus taeda* (Foto: Vanusa Rodrigues Horas).

### 3.2.1. Parâmetros avaliados

Os parâmetros avaliados sobre o comportamento alimentar de *C. atlantica* em *P. taeda* constaram de análises das diferentes formas de ondas. As fases A, B e C foram consideradas em conjunto como sendo a fase do caminhamento dos estiletos, aqui denominadas apenas por onda C. Os parâmetros avaliados foram: 1) número de não prova (np); 2) duração total da np; 3) duração média da np; 4) porcentagem de tempo de np em relação ao total do registro; 5) tempo para a primeira penetração; 6) duração da primeira penetração; 7) número total de penetrações; 8) duração da fase de caminhamento (C); 9) porcentagem de tempo de C em relação ao total do registro; 10) tempo para atingir o floema do início do registro; 11) tempo para atingir o floema desde o início da primeira penetração; 12) tempo para atingir o floema após a penetração em que atingiu esta fase; 13) tempo para a ingestão sustentada no floema, desde o início da primeira penetração; 14) tempo para a ingestão sustentada no floema (+ de 10 minutos), após início da penetração em que atingiu esta fase; 15) tempo entre a primeira fase floemática e a primeira alimentação sustentada no floema; 16) número

de fases floemáticas; 17) número de np após a primeira fase floemática; 18) duração total da fase floemática; 19) porcentagem de tempo utilizado no floema em relação ao total do registro; 20) porcentagem de insetos que apresentaram fase floemática; 21) porcentagem de insetos que apresentaram fase floemática sustentada; 22) porcentagem de insetos que atingiram o floema na primeira penetração; 23) porcentagem de insetos que a primeira fase floemática durou mais que 10 minutos (sustentada). Algumas ondas como pd curta e onda F (dificuldade de penetração dos estiltes) apareceram exclusivamente nas mudas de *P. taeda* tratadas com inseticida e não foram incluídas na análise estatística.

Os dados foram submetidos ao software Micro Statistica 7.0 e Student's t-test.

### **3.3. Percevejo bronzeado**

#### **3.3.1. Criação de *Thaumastocoris peregrinus***

A criação de *T. peregrinus* foi realizada no Laboratório de Entomologia da Embrapa Florestas localizada no município de Colombo, PR, sendo mantida em sala climatizada a  $23 \pm 2$  °C, umidade relativa de 70% e fotofase de 12 horas.

A manutenção da colônia foi realizada em “buquês” constituídos por 8 a 10 ramos de *Eucalyptus benthamii* Maiden et Cambage com aproximadamente 8 pares de folhas. A base dos ramos foi envolvida por uma tira de espuma e acoplada em erlenmeyer de 250 mL com água. À medida que os ramos secavam, os insetos caminhavam pelo buquê e neste momento, tiras de papel toalha de aproximadamente 1,5 cm de largura por 15 cm de comprimento foram distribuídas no ápice dos ramos para a oviposição no papel. Novos buquês foram introduzidos semanalmente e

mantidos na criação ao lado de buquês infestados. À medida que os ramos secavam, os insetos migravam para os novos buquês (Figura 21).



**Figura 21.** Criação em laboratório de *Thaumastocoris peregrinus* em buquês de folhas de *Eucalyptus benthamii* (Foto: Vanusa Rodrigues horas).

### **3.3.2. Bioensaios para avaliar a toxicidade do novo inseticida para *Thaumastocoris peregrinus***

Os Bioensaios foram conduzidas no Laboratório de Entomologia Médica e Veterinária do Departamento de Zoologia da Universidade Federal do Paraná, em câmara climatizada, com temperatura de  $23 \pm 2$  °C, umidade relativa de  $70 \pm 10\%$  e fotofase de 12 horas.

Foram utilizadas ninfas de 4º e 5º ínstaes e adultos de *T. peregrinus*, transferidos com o auxílio de um pincel macio, para placa de petri (5 cm de diâmetro)

contendo no centro um disco foliar de *Eucalyptus benthamii* (2 cm de diâmetro), colocado sobre uma camada de 0,5 cm de solução hidrogel/água a 1% (m/m), utilizada para manutenção da turgescência foliar (Figura 22).

Logo após, os percevejos foram tratados com soluções aquosas do novo inseticida preparado de acordo com o item 3.1.2. nas concentrações de 30  $\mu\text{M}$ , 50  $\mu\text{M}$ , 100  $\mu\text{M}$ , 150  $\mu\text{M}$ , 200  $\mu\text{M}$ , 250  $\mu\text{M}$ , 300  $\mu\text{M}$ , 400  $\mu\text{M}$  e 500  $\mu\text{M}$ , com um pulverizador manual. Cada placa foi pulverizada diretamente com 2 mL de soluções aquosas do novo inseticida.

Utilizou-se DMSO (sulfóxido de dimetila) (1 mL) como co-solvente para solubilizar o composto em água destilada.

Para a testemunha, utilizou-se solução contendo água + DMSO nas mesmas relações usadas nos tratamentos. Foram realizadas as avaliações durante sete dias consecutivos após a aplicação, registrando-se o número de insetos mortos a cada 24 horas, considerando mortos os percevejos que não se moveram após estímulo.

Cada tratamento foi representado por cinco placas de petri contendo cinco percevejos de *T. peregrinus*, com duas repetições para cada concentração avaliada. As placas de Petri foram fechadas e mantidas em câmaras com temperatura de  $23 \pm 2^\circ\text{C}$ , UR de  $70 \pm 10\%$ , e fotofase de 12 horas.



**Figura 22.** Experimento para a toxicidade do novo inseticida a *Thaumastocoris peregrinus* em laboratório (Foto: Vanusa Rodrigues Horas).

### **3.3.3. Análise Estatística**

Com os dados obtidos foram calculadas os percentuais de mortalidade e erro padrão pelo teste t com nível de probabilidade ( $p \leq 0,05$ ); as concentrações letais foram determinadas com a utilização do software Micro Probit.

## **3.4. Bioensaios visando determinar a seletividade do novo inseticida para o parasitoide *Cleruchoides noackae***

### **3.4.1. Criação do parasitoide *Cleruchoides noackae***

A criação do parasitoide *C. noackae* foi realizada no Laboratório de Entomologia da Embrapa Florestas, localizado no município de Colombo/PR.

Os parasitoides foram multiplicados utilizando-se como hospedeiros ovos do percevejo *T. peregrinus*, na proporção de 10 adultos para 100 ovos do percevejo com um dia de idade, mantidos em câmara climatizada com temperatura de  $23 \pm 2$  °C, UR  $70 \pm 10\%$  e fotofase de 12 horas, em tubos de poliestireno transparente, medindo 7,5 cm de comprimento e 3,0 cm de diâmetro, com tampa plástica com orifício central vedado com tecido “voil” para aeração. Para alimentação dos parasitoides, utilizou-se tiras de papel de filtro umedecidas com solução de mel a 5% (Figura 23).



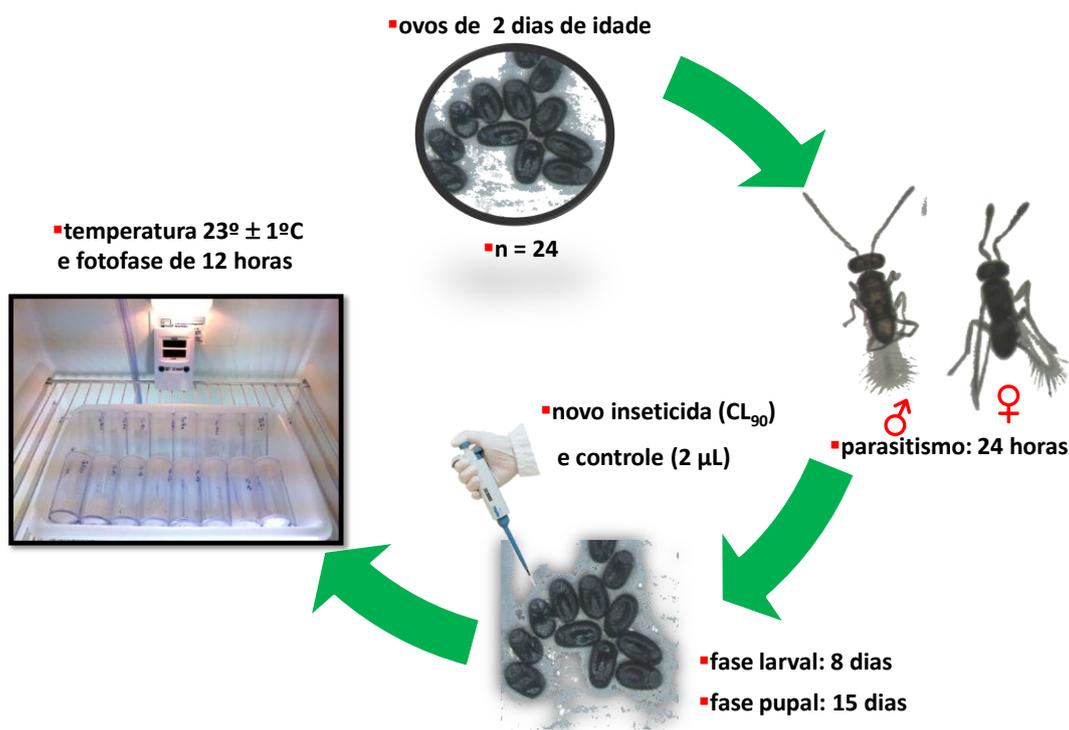
**Figura 23.** Criação do parasitoide *Cleruchoides noackae* em ovos do percevejo bronzeado *Thaumastocoris peregrinus*: a) adulto de *Thaumastocoris peregrinus*; b) folhas de *Eucalyptus benthamii*; c) oviposição de fêmeas de *Thaumastocoris peregrinus* em tiras de papel toalha; d) tiras de papel toalha com posturas de *Thaumastocoris peregrinus*; e) tubos de poliestireno com posturas de *Thaumastocoris peregrinus* e f) ovos de *Thaumastocoris peregrinus* sendo parasitado por *Cleruchoides noackae* (Foto: Leonardo Rodrigues Barbosa).

### 3.4.2. Teste de seletividade

Para o estudo da seletividade em laboratório (Figura 24), casais de *C. noackae* foram acondicionados em gaiolas confeccionadas com tubos de poliestireno transparente de 7,5 cm de comprimento e 3,0 cm de diâmetro, com tampa vedada com tecido “voil” para permitir aeração do recipiente. No interior de cada tubo, foram dispostos vinte ovos de *T. peregrinus*, com dois dias de idade, ofertados previamente a um casal de parasitoide *C. noackae* com um dia de idade, por 24 horas para o parasitismo. Em seguida, o casal foi retirado e os ovos foram mantidos em câmara climatizada, à temperatura de  $23 \pm 2$  °C, umidade relativa de  $70 \pm 10\%$  e fotofase de 12 horas até o momento da aplicação dos tratamentos: fase larval (8 dias); fase pupal (15 dias) após o parasitismo.

Cada fase de desenvolvimento do parasitoide em ovos de *T. peregrinus* foi submetida, separadamente, à aplicação tópica do novo inseticida. Cada ovo recebeu aplicação de 2 µL de solução inseticida, realizada com auxílio de uma pipeta automática na concentração CL<sub>90</sub> (24h) de aproximadamente 496 µM. No controle foi aplicado apenas água + DMSO. Após as aplicações os ovos foram mantidos sobre papel toalha, em temperatura ambiente, para secarem por uma hora, para que houvesse a eliminação do excesso de umidade, e em seguida foram individualizadas nos tubos.

Cada tratamento foi representado por doze tubos contendo vinte ovos de *T. peregrinus* dispostos em tiras de papel, com 24 repetições cada tratamento. As contagens foram realizadas sob microscópio estereoscópico.



**Figura 24.** Preparação e execução dos bioensaios para avaliar a seletividade da nova molécula inseticida sobre o parasitoide *Cleruchoides noackae* em ovos do percevejo *Thaumastocoris peregrinus* (Foto: Vanusa Rodrigues Horas).

### 3.4.3. Classificação do novo inseticida segundo a escala de toxicidade para os inimigos naturais estabelecida pela IOBC

O novo inseticida foi enquadrado em classes de toxicidade conforme critérios estabelecidos pela “International Organization for Biological and Integrated Control of Noxious Animals and Plants” (IOBC). Desta forma, o efeito total (E) do inseticida foi determinado em função da porcentagem de mortalidade observada nos tratamentos.

A viabilidade do parasitismo (%) foi avaliada contando-se os ovos parasitados e os que efetivamente tiveram a emergência dos parasitoides. A redução na emergência de *C. noackae* em relação ao tratamento testemunha foi calculada pela equação  $E = (1 - V_t/V_c) \times 100$ , em que: E(%) é a porcentagem de redução da viabilidade

do parasitismo;  $V_t$  é a viabilidade do parasitismo médio para o tratamento testado; e  $V_c$  é a viabilidade do parasitismo médio observado para o tratamento testemunha. Outros parâmetros que foram avaliados: tempo de desenvolvimento, em dias, do parasitoide em ovos de *T. peregrinus* tratados com inseticida depois de parasitado; número de parasitoides emergidos e razão sexual dos parasitoides emergidos dos ovos tratados com o inseticida.

De acordo com os valores de E obtidos, o novo inseticida foi, então, enquadrado em classes toxicológicas: classe 1 = inócuo ( $< 30\%$  de redução), classe 2 = levemente nocivo ( $30\% \leq E \leq 79\%$  de redução), classe 3 = moderadamente nocivo ( $80\% \leq E < 99\%$  de redução) e classe 4 = nocivo ( $E \geq 99\%$  de redução), conforme escala proposta pela IOBC para estudos de laboratório (Hassan, 1992; Van de Veire *et al.*, 1996; Hassan, 1997).

#### **3.4.4. Análise dos dados**

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey à 5%. Os parâmetros de redução no parasitismo e emergência de adultos, em relação à testemunha foram empregados para classificar o novo inseticida, segundo a IOBC/WPRS.

## 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1. Pulgão-gigante-do-pínus

#### 4.1.1. Bioensaios para avaliar a toxicidade do novo inseticida para *Cinara atlantica*

Por se tratar de insetos sensíveis, a metodologia proposta facilitou a realização dos bioensaios com o novo inseticida, pois evitou a manipulação das ninfas de segundo ínstar que foram previamente criadas nas gaiolas dos testes. As médias de mortalidade acumuladas para ninfas de *C. atlantica*, observadas durante o período de 168 horas, ao serem tratadas com nove diferentes concentrações, são ilustradas na Tabela 1.

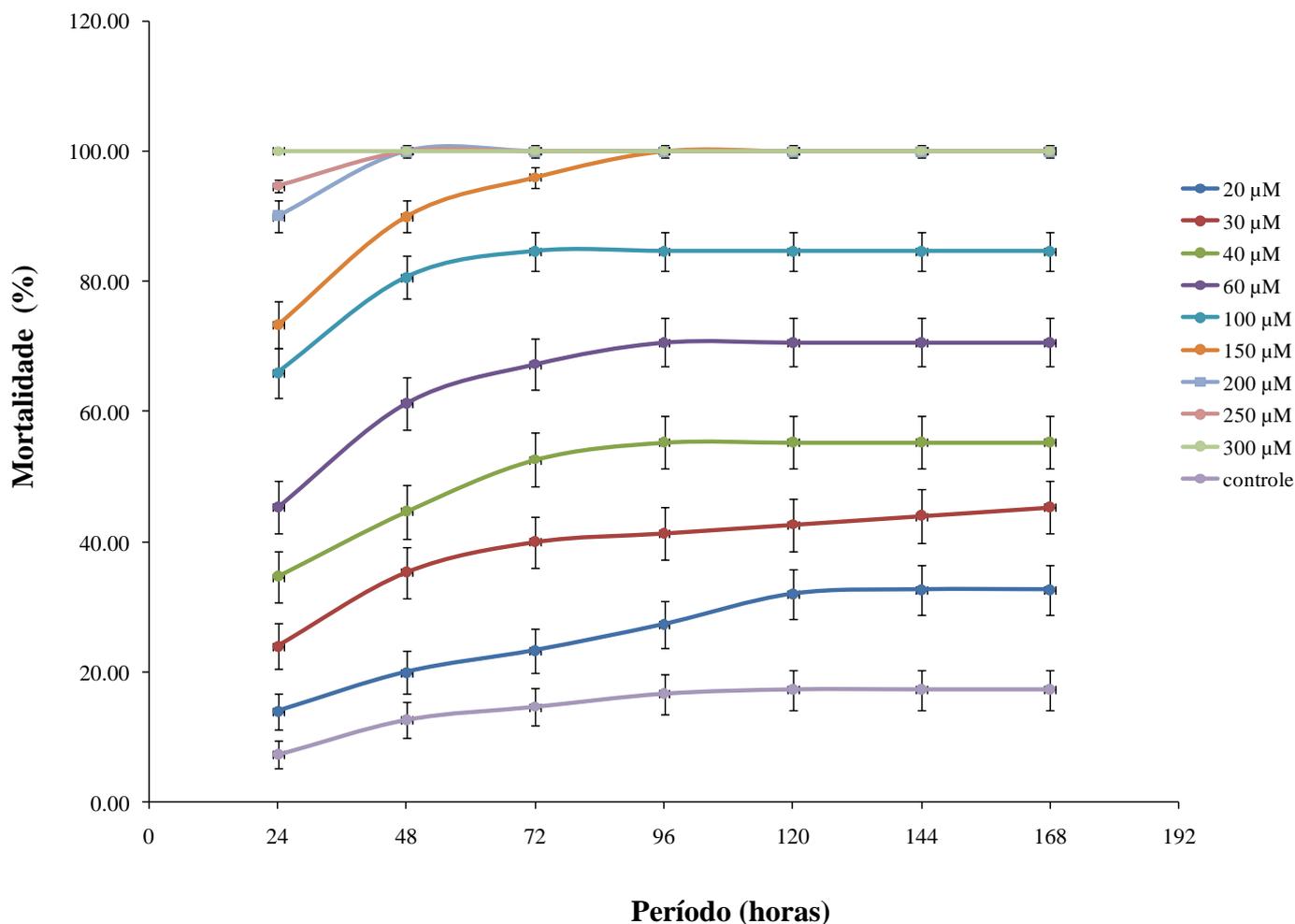
**Tabela 1.** Porcentagem de mortalidade acumulada (Média  $\pm$  EP) de ninfas de 2º instar de *Cinara atlantica*, submetidas ao novo inseticida, em diferentes períodos e concentrações a intervalos de 24 horas (n = 150).

Concentração	Mortalidade (Média $\pm$ EP)						
	24 h	48 h	72 h	96 h	120 h	144 h	168 h
Controle	7,3 $\pm$ 2,1	12,6 $\pm$ 2,7	14,6 $\pm$ 2,8	16,6 $\pm$ 3,0	17,3 $\pm$ 3,0	17,3 $\pm$ 3,0	17,3 $\pm$ 3,0
20 $\mu$ M	14,0 $\pm$ 2,8	20,0 $\pm$ 3,2	23,3 $\pm$ 3,4	27,3 $\pm$ 3,6	32,0 $\pm$ 3,8	32,6 $\pm$ 3,8	32,6 $\pm$ 3,8
30 $\mu$ M	24,0 $\pm$ 3,4	35,3 $\pm$ 3,9	40,0 $\pm$ 4,0	41,3 $\pm$ 4,0	42,6 $\pm$ 4,0	44,0 $\pm$ 4,0	45,3 $\pm$ 4,0
40 $\mu$ M	34,6 $\pm$ 3,8	44,6 $\pm$ 4,0	52,6 $\pm$ 4,0	55,3 $\pm$ 4,0	55,3 $\pm$ 4,0	55,3 $\pm$ 4,0	55,3 $\pm$ 4,0
60 $\mu$ M	45,3 $\pm$ 4,0	61,3 $\pm$ 3,9	67,3 $\pm$ 3,8	70,6 $\pm$ 3,7	70,6 $\pm$ 3,7	70,6 $\pm$ 3,7	70,6 $\pm$ 3,7
100 $\mu$ M	66,0 $\pm$ 3,8	80,6 $\pm$ 3,2	84,6 $\pm$ 2,9				
150 $\mu$ M	73,3 $\pm$ 3,6	90,0 $\pm$ 2,4	96,0 $\pm$ 2,6	100,0 $\pm$ 0,0	100,0 $\pm$ 0,0	100,0 $\pm$ 0,0	100,0 $\pm$ 0,0
200 $\mu$ M	90,0 $\pm$ 2,4	100,0 $\pm$ 0,0					
250 $\mu$ M	94,6 $\pm$ 1,8	100,0 $\pm$ 0,0					
300 $\mu$ M	100,0 $\pm$ 0,0	100,0 $\pm$ 0,0	100,0 $\pm$ 0,0	100,0 $\pm$ 0,0	100,0 $\pm$ 0,0	100,0 $\pm$ 0,0	100,0 $\pm$ 0,0

Observou-se que ninfas de segundo instar de *C. atlantica* apresentaram um percentual de mortalidade crescente com o aumento da concentração, variando de 32,6% para menor concentração a 100% para maior concentração. Com o aumento da concentração observou-se uma diminuição no tempo necessário para a mortalidade de todas as ninfas, variando de 96 horas para a concentração de 150  $\mu\text{M}$  para a maior concentração 300  $\mu\text{M}$ . Mesmo as concentrações mais baixas do novo inseticida apresentaram uma maior mortalidade das ninfas quando comparadas à mortalidade observada para o controle, que foi de aproximadamente 17,3%. (Figura 25).

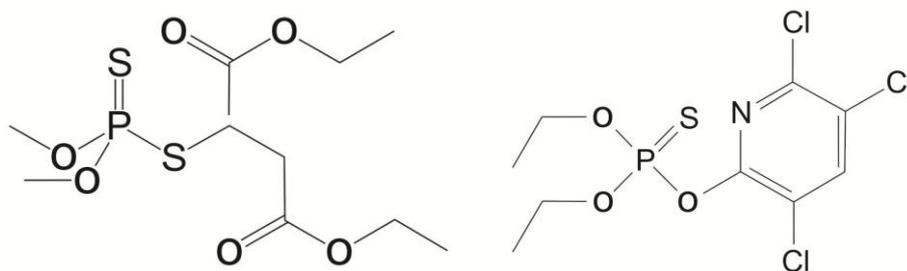
As concentrações letais foram calculadas (Tabela 2), com auxílio do programa de análise Probit, seguindo a metodologia descrita por Finney (1971).

Quando utilizou-se concentrações subletais pode-se verificar uma repelência e maior movimentação das ninfas sobre as mudas de Pinus. Com o aumento da concentração observou-se redução do vigor das ninfas e maior índice de mortalidade. Rouhani *et al.* (2013) também observaram resultados similares para ninfas de primeiro instar do pulgão *Aphis punicae* Shinji, 1922 (Hemiptera: Aphididae), ao avaliar os inseticidas imidacloprido na concentração de 0,24  $\mu\text{L}/\text{mL}$ , tiametoxam a 0,31mg/mL, tiacloprido a 0,48  $\mu\text{L}/\text{mL}$  e flonicamida a 0,05 mg/mL. Faria & Souza (2005), ao testar o imidacloprido nas mudas de *P. taeda*, observaram uma tendência de morte para *C. atlantica* com o aumento da concentração de 0,0029 g.i.a./ha a 0,0116 g.i.a./ha.



**Figura 25.** Percentual de mortalidade de ninfas de *Cinara atlantica* após a aplicação de diferentes concentrações do novo inseticida e do controle, avaliadas em diferentes períodos em intervalos de 24 horas (n = 150).

Sagar (1992) obteve, aos 7 dias após a aplicação, 100% de mortalidade de *A. gossypii* Glover, 1877 (Hemiptera: Aphididae) ao utilizar os inseticidas malathion e clorpirifós.



**Figura 26.** Estruturas químicas do malathion e clorpirifós.

Torres & Silva Torres (2008) avaliaram o inseticida pimetozina no controle de *A. gossypii* e obtiveram elevadas taxas de mortalidade iniciais, com uma diminuição após 6 dias de aplicação.

Flonicamida, um inseticida sistêmico que atua como bloqueador de alimentação de insetos sugadores, apresentou alta toxicidade contra primeiro instar ninfal de *Acyrtosiphon pisum* (Harris, 1776) (Hemiptera: aphididae) nas concentrações  $CL_{50}$  de 20,4  $\mu\text{g/mL}$  após 24 h, e de 0,24  $\mu\text{g/mL}$  após 72 h (Sadeghi *et al.*, 2009).

Foster *et al.* (2003) avaliaram o imidacloprido para o controle de *M. persicae* (Sulzer, 1776) (Hemiptera: Aphididae), e observaram que as dosagens menores exerceram baixa mortalidade inicial do afídeo.

Potenza (2005) verificou a eficiência dos inseticidas clorpirifós a 10 mL/10 L água, malation a 30 mL/10 L água e fenitrotion a 200 mL/10 L água, no controle do pulgão *Takecallis taiwanus* (Takahashi, 1926) (Hemiptera: Aphididae) em plantas de bambu *Bambusa gracilis* Horti após sete dias de aplicação.

**Tabela 2.** Concentrações letais (CL) para ninfas de *Cinara atlantica*, submetidas ao novo inseticida, determinada no período de 24 e 48 horas (n = 150).<sup>1</sup>

Concentração letal (µM)	24 horas	Intervalo de confiança	48 horas	Intervalo de confiança
CL <sub>2</sub>	10,99	8,3 - 13,6	7,55	5,4 - 9,69
CL <sub>25</sub>	38,91	34,1 - 43,4	26,18	22,6 - 29,4
CL <sub>50</sub>	72,17	66,1 - 78,5	48,07	43,9 - 52,4
CL <sub>90</sub>	233,55	204,8 - 273,3	152,61	130,6 - 186,0
CL <sub>95</sub>	325,84	277,9 - 395,3	211,78	175,0 - 270,9
CL <sub>98</sub>	473,96	391,0 - 600,3	306,18	242,7 - 414,4

Nível de Confiança 95%

<sup>1</sup>Calculo das CLs, através do software Micro Probit (Finney, 1971)

Conforme Agrofite (2014), para o controle químico de *C. atlantica* encontra-se registrado o produto comercial com o princípio ativo imidacloprido que pertence à classe química de neonicotinóide que apresenta ação sistêmica. A recomendação de aplicação é de  $1,03 \times 10^{-3}$  mol/L, para controlar baixa infestação e de  $2,06 \times 10^{-3}$  mol/L, para controlar alta infestação em plantações de alto valor comercial, pomares de sementes e em viveiro de *Pinus* spp.

Em baixa infestação e utilizando como referência a CL<sub>90</sub> (24 h) calculada, o valor que seria recomendado para o controle do pulgão-gigante-do-pínus seria em torno de 4 vezes menor que a recomendada para o imidacloprido. Para alta infestação o valor recomendado para o imidacloprido é 8 vezes maior que o calculado para o novo inseticida (Tabela 3), ou seja, o novo inseticida pode ser empregado em menores concentrações que o imidacloprido para exercer controle efetivo do pulgão-gigante-do-pínus em campo. Esse fato, aliado às vantagens a baixa toxicidade a animais aquáticos, fotoluminescência e nenhum efeito fitotóxico nas mudas de *P. taeda*, torna-o candidato a ser empregado no controle dessa praga em futuro próximo.

**Tabela 3.** Comparação da eficiência do produto comercial imidacloprido com novo inseticida.

		<b>Nova molécula inseticida</b>	<b>Imidacloprido*</b>	
<i>Pinus spp.</i>	<b>Pulgão-gigante-do-Pinus</b> <i>Cinara atlantica</i>	<b>CL<sub>90</sub> (24 h)</b> <b>0,23 x 10<sup>-3</sup></b> <b>mol/L</b>	<b>1,03 x 10<sup>-3</sup></b> <b>mol/L de</b>	
			<b>4,42 x</b>	<b>água em baixa</b> <b>infestação</b>
				<b>2,06 x 10<sup>-3</sup></b> <b>mol/L de</b>
			<b>8,84 x</b>	<b>água em alta</b> <b>infestação</b>

\*Recomendação da Bayer para utilização do imidacloprido para o controle de *Cinara atlantica*.

Além das vantagens já descritas, esse novo inseticida quando decomposto, gera fragmentos de ação benéfica ao desenvolvimento de plantas em geral. Esse resultado está em contraste aos obtidos por Teixeira (2008), nos quais o inseticida imidacloprido é capaz de afetar negativamente o desenvolvimento da planta *Allium cepa*.

A associação de efeitos desejáveis é fundamental para que se possam construir alternativas mais seguras de controle em substituição à atualmente empregada.

#### **4.1.2. Avaliação do efeito subletal de uma nova molécula inseticida sobre o comportamento alimentar de *Cinara atlantica* em *Pinus taeda***

Para avaliar o efeito de concentração subletal da nova molécula inseticida na concentração CL<sub>50</sub>(24h) de 72,17 µM, sobre o comportamento alimentar de fêmeas adultas ápteras *C. atlantica*, utilizou-se o sistema de monitoramento eletrônico (EPG), com o auxílio do equipamento GIGA 4 – DC. Um dos fatores determinantes neste estudo foi estabelecer a concentração do inseticida, já que trata-se de uma nova molécula ainda não empregada a nível mundial para o controle de pragas. Muitas

tentativas foram feitas até estabelecer a concentração ideal e que possibilitasse o registro do comportamento alimentar do inseto por 24 horas uma vez que os pulgões sugam a seiva do caule das árvores de pínus o que requer adaptações especiais, como o comprimento dos estiletos, que devem ser longos para atingir os canais de seiva localizados mais profundamente, o que implica num acréscimo de tempo (Dixon, 1998).

Portanto, efetuou-se aplicações somente nas mudas de pínus pois, quando as aplicações foram realizadas diretamente sobre os afídeos nas muas, estes morreram antes da finalização dos registros. Harrewijn & Kayser (1997), também avaliaram diferentes técnicas de aplicação do inseticida pimetrozina, para o estudo do comportamento alimentar de três espécies de afídeos *Aphis fabae* Scopoli, 1763, *Myzus persicae* Sulzer, 1776 e *Aphis gossypii* Glover, 1877. Quando realizaram aplicação tópica de pimetrozina diretamente nos afídeos ocorreu a inibição da inserção do estilete nas plantas e quando pulverizaram as plantas e na absorção radicular, os pulgões iniciaram a alimentação normalmente e depois de algum tempo, no entanto, eles retiraram seus estiletos do floema, indicando a inibição da alimentação sustentada no floema foi inibida.

Foram observadas diferenças significativas entre os tratamentos com e sem inseticida, para todos os parâmetros de não-prova (np), ou seja: número de np, duração total da np, duração média da np e % de tempo de np em relação ao tempo total do registro (Tabela 4, parâmetros 1, 2, 3 e 4). Esse resultado demonstra que o inseticida dificulta a inserção dos estiletos no tecido da planta, pelo pulgão.

De maneira geral, *C. atlantica* é afetado pelo inseticida no momento da inserção do estilete, alterando o comportamento de prova. O tempo para a primeira

penetração e duração da fase de caminhamento (C) foi estatisticamente diferente nas mudas pulverizadas com o inseticida (Tabela 4, parâmetros 5 e 8).

Em mudas pulverizadas com o inseticida, observou-se um número significativamente menor de pulgões que atingiram o floema (60%) (Tabela 4, parâmetros 10, 18, 19 e 20) e estes insetos demoraram mais tempo para atingir o floema desde o início do registro. Entretanto, verificou-se que *C. atlantica* leva menos tempo para atingir o floema após a primeira prova (Tabela 4, parâmetro 11) nas mudas tratadas com o inseticida.

Não foram detectadas diferenças significativas entre os tratamentos com e sem inseticida para os parâmetros 12, 13, 14, 15 e 16, que consideram apenas os insetos que se alimentaram de seiva elaborada.

Contudo, a fase floemática sustentada (mais de 10 minutos), que indica a aceitação do hospedeiro pelo inseto, foi drasticamente reduzida em mudas de *P. taeda* pulverizadas com o inseticida. Apenas 26,6% das fêmeas de *C. atlantica* realizaram a alimentação sustentada no floema e nestas, o tempo de ingestão médio foi de apenas 17 minutos, contra 10 horas e 47 minutos na testemunha e um total de 100% dos insetos com alimentação sustentada (Tabela 5).

Dos 26,6% insetos que apresentaram alimentação sustentada no floema, no tratamento com inseticida, verificou-se que após a fase floemática não ocorreu outra alimentação no floema, indicando que o inseto consegue identificar a presença do inseticida ao entrar em contato com a seiva do floema. Além disso, após a ingestão da seiva do floema, registrou-se um número maior de insetos que permaneceram em não-prova (np), confirmando a indicação da presença de elementos tóxicos ou deterrentes no floema das plantas tratadas com inseticida (Tabela 4, parâmetro 17). Penteados

(2007) avaliando o comportamento alimentar de *C. atlantica* em mudas de *P. taeda* observou que apenas 21% das fêmeas apresentaram np após a fase floemática.

Resultado semelhante foram encontrados no estudo de Cho *et al.* (2011) avaliando o efeito da concentração subletal CL<sub>50</sub> dos inseticidas flonicamida e tiametoxam no comportamento alimentar do afídeo *Myzus persicae* (Sulzer, 1776) (Hemiptera: Aphididae), onde observaram que os inseticidas causaram uma diminuição na alimentação floemática e ocorreu um período maior em não-prova.

**Tabela 4.** Parâmetros (em horas) (Média ± EP) avaliados e valores de t com os níveis de significância para o comportamento alimentar de adultos ápteros de *Cinara atlantica* em mudas de *Pinus taeda*, registrado com o auxílio do equipamento GIGA 4 – DC.<sup>1</sup>

Parâmetros	MÉDIA		Teste t	
	Testemunha (n = 15)	Novo Inseticida (n = 15)	Valor	Significância
1. Número de não prova (np)	1,9 3 ( ± 0,59)	4,73 ( ± 3,45)	3,095	0,004*
2. Duração total da np	4,74 ( ± 3,81)	17,79 ( ± 4,54)	8,511	0,001*
3. Duração média da np	2,66 ( ± 2,20)	6,43 ( ± 6,20)	2,217	0,035*
4. % de tempo de np em relação ao total do registro	18,50 ( ± 17,64)	74,33 ( ± 18,92)	8,726	0,001*
5. Tempo para a 1ª penetração	2,94 ( ± 3,08)	8,19 ( ± 8,12)	2,341	0,027*
6. Duração da 1ª penetração	1,38 ( ± 1,07)	1,29 ( ± 1,06)	-0,236	0,815
7. Número total de penetrações	5,80 ( ± 3,25)	5,67 ( ± 5,45)	-0,081	0,936
8. Duração da fase de caminhamento (C)	7,83 ( ± 4,77)	4,42 ( ± 4,22 )	-2,070	0,048*
9. % de tempo de C em relação ao total do registro	31,95 ( ± 20,21)	18,59 ( ± 17,57)	-1,931	0,064
10. Tempo para atingir o floema do início do registro	5,03 ( ± 4,42)	11,56 ( ± 8,94)	0,737	0,025*
11. Tempo para atingir o floema desde o início da 1ª penetração	3,17 ( ± 3,31)	0,21 ( ± 0,35)	-3,530	0,001*
12. Tempo para atingir o floema após a penetração em que atingiu esta fase	1,65 ( ± 1,49)	1,62 ( ± 1,22)	-1,361	0,184
13. Tempo para a ingestão sustentada no floema, desde o início da 1ª penetração	4,19 ( ± 3,91)	6,10 ( ± 3,55)	-1,873	0,072
14. Tempo para a ingestão sustentada no floema, após início da penetração em que atingiu esta fase	1,99 ( ± 2,15)	1,05 ( ± 0,68)	-2,924	0,418

<b>15. Tempo entre a 1ª fase floemática e a 1ª alimentação sustentada no floema</b>	<b>2,05 ( ± 3,32)</b>	<b>2,35 ( ± 2,23)</b>	<b>-1,371</b>	<b>0.181</b>
<b>16. Número de fases floemáticas</b>	<b>4,80 ( ± 3,12)</b>	<b>4,67 ( ± 3,87)</b>	<b>-1,556</b>	<b>0.131</b>
<b>17. Número de np após a 1ª fase floemática</b>	<b>0,73 ( ± 0,70 )</b>	<b>3,83 ( ± 2,38)</b>	<b>1,245</b>	<b>0.001*</b>
<b>18. Duração total da fase floemática</b>	<b>10,84 ( ± 4,65)</b>	<b>0,34 ( ± 0,27)</b>	<b>-8,837</b>	<b>0.001*</b>
<b>19. % de tempo utilizado no floema em relação ao total do registro</b>	<b>45,33 ( ± 19,33)</b>	<b>1,49 ( ± 1,19)</b>	<b>-8,885</b>	<b>0.001*</b>
<b>20. % de insetos que apresentaram fase floemática</b>	<b>1,00 ( ± 0,00 )</b>	<b>0,60 ( ± 0,06)</b>	<b>-3,162</b>	<b>0,006*</b>
<b>21. % de insetos que apresentaram fase floemática sustentada</b>	<b>1,00 ( ± 0,00)</b>	<b>0,27 ( ± 0,05)</b>	<b>-6,433</b>	<b>0,001*</b>
<b>22. % de insetos que atingiram o floema na 1ª penetração</b>	<b>0,80 ( ± 0,04)</b>	<b>0,60 ( ± 0,06)</b>	<b>-1,224</b>	<b>0,320</b>
<b>23. % de insetos que a 1ª fase floemática durou mais que 10 minutos (sustentada)</b>	<b>0,53 ( ± 0,06)</b>	<b>0,07 ( ± 0,01)</b>	<b>-3,245</b>	<b>0,007*</b>

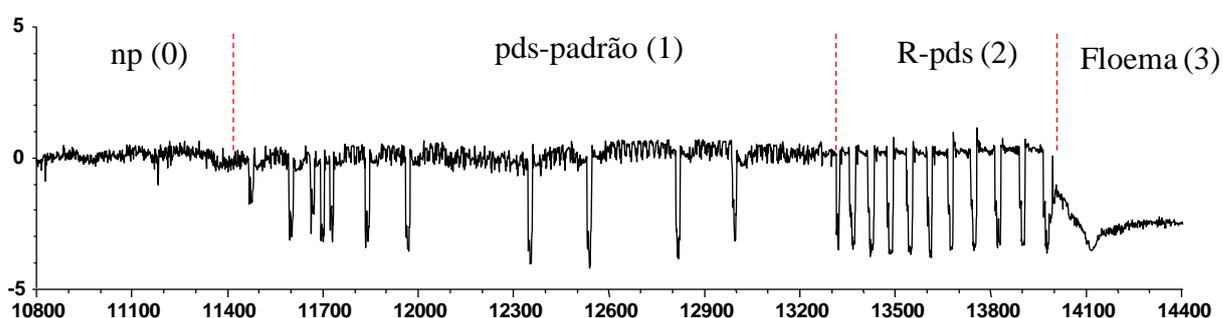
\*Nível de significância  $p < 0,05$ .

**Tabela 5.** Duração média (horas) das fases floemáticas sustentadas ( $\geq 10$  min), observados para adultos ápteros de *Cinara atlantica* em mudas de *Pinus taeda*, registrado com o auxílio do equipamento GIGA 4 – DC.

<b>Inseto</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	<b>6</b>	<b>7</b>	<b>8</b>	<b>9</b>	<b>10</b>	<b>11</b>	<b>12</b>	<b>13</b>	<b>14</b>	<b>15</b>	<b>Tempo</b>
<b>Fase floemática</b>	01:00	08:48	01:48	00:12	02:24	09:12	11:48	08:54	16:36	07:48	01:18	00:24	3,12	07:48	07:48	<b>10:26</b>
<b>Controle</b>	00:54	03:06		03:42	01:42		00:10	00:18			02:42	01:18	2,36	07:42	07:42	
	01:24		15:18	02:12		00:30	00:54					03:42	4,24			
	01:36			02:18								01:24				
				00:36								00:54				
												00:42				
<b>Fase floemática Tratamento</b>	–	–	00:24	00:12	–	–	–	00:12	–	00:20	–	–	–	–	–	<b>00:17</b>

He *et al.* (2010) estudaram o efeito da pimetrozina, que age sobre o aparelho bucal de insetos sugadores, e verificaram que esse inseticida causou a inibição da ingestão do floema, resultando na morte do inseto *Nilaparvata lugens* (Stål, 1854) (Homoptera: Delphacidae) por inanição. É possível que a inibição da alimentação no floema seja devido à ação conjunta, do contato e da ingestão do inseticida, quando o afídeo entra em contato com os vasos floemáticos. Como os estudos são iniciais com a nova molécula inseticida avaliada no presente estudo, o mecanismo de ação ainda está sendo determinada, mas os resultados obtidos indicam uma provável ação sistêmica.

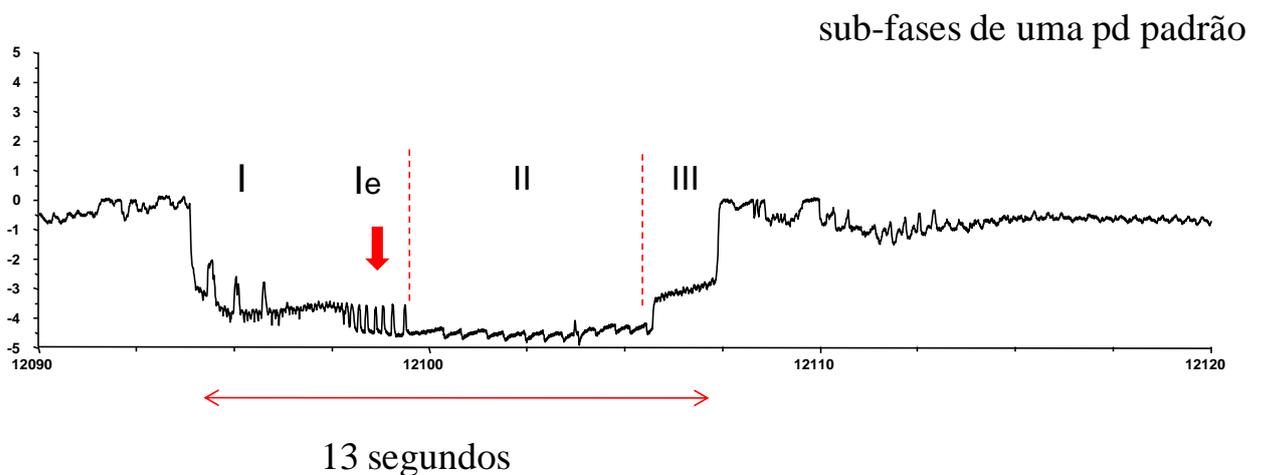
O padrão geral do comportamento alimentar de *C. atlantica* em mudas de *P. taeda* é representada na Figura 27, onde: (0) “np”, caracterizado pela ausência de sinal (não-prova); (1) pds, queda de potencial (*potential drop*), correspondendo a breves inserções do estilete nas células; (2) R-pds, repetitivas quedas de potencial (*repetitive potential drops*), antecedendo a fase floemática; (3) fase floemática. Esses resultados corroboram com os obtidos por Penteado (2007).



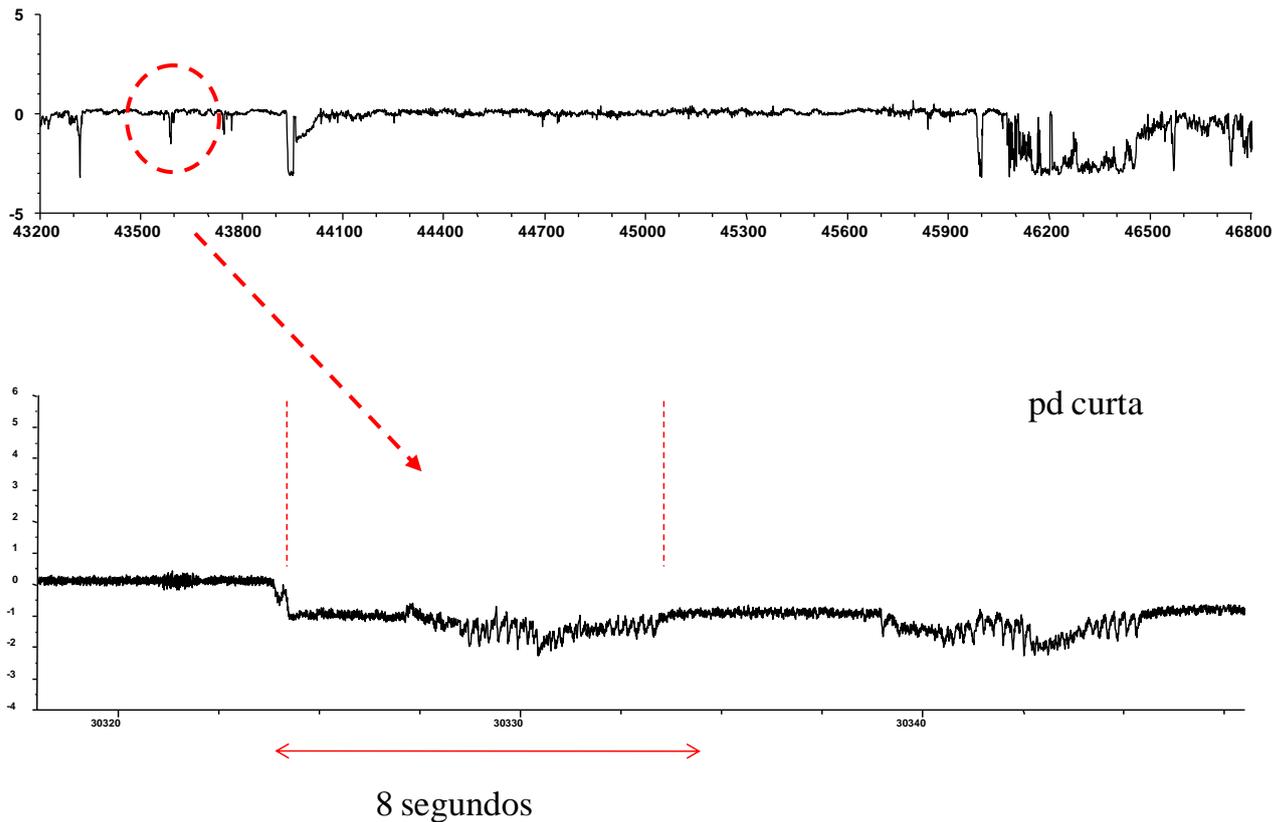
**Figura 27.** Caracterização do comportamento alimentar de adultos ápteros de *Cinara atlantica* em mudas de *Pinus taeda*. (0): “np”; (1): “pds-padrão”; (2): “R-pds” e (3): fase floemática (Penteado, 2007).

De acordo com Penteado (2007), a “pd” é caracterizada por três subfases consecutivas, sendo: sub-fase I – ocorre uma queda repentina na voltagem, quando o estilete é inserido no plasmalema e apresenta uma fase extra denominada Ie; subfase II – manutenção do baixo nível de voltagem por um curto período de tempo, com o estilete ainda localizado intracelularmente; e sub-fase III – um retorno repentino ao nível de voltagem original, estando correlacionado com a retirada do estilete de dentro de uma célula (Figura 28). Este comportamento foi observado para poucas espécies de afídeos, como *Acyrtosiphon pisum* e *Brevicoryne brassicae* (Tjallingii & Gabrys, 1999).

Nas mudas de *P. taeda* pulverizadas com a nova molécula inseticida, o padrão de ondas foi alterado em relação às plantas sem inseticida. Penteado (2007) observou que a duração média da “pd” padrão é de 13 segundos. Entretanto observou-se que nas plantas pulverizadas com o inseticida, 26,6% dos insetos realizaram pds mais curtas, com duração média de 8 segundos e não apresentando as fases características mostradas na Figura 28. Na testemunha este tipo de pd não ocorreu (Figura 29 e anexo 2). Belasque Jr *et al.* (2010), utilizando-se a técnica EPG, demonstrou que em plantas pulverizadas com inseticida de contato, o psíldeo *Diaphorina citri* Kuwayama, 1908 (Hemiptera: Liviidae) realiza um menor número de provas, sendo que estas são mais curtas e o inseto retira o estilete antes de atingir o floema.

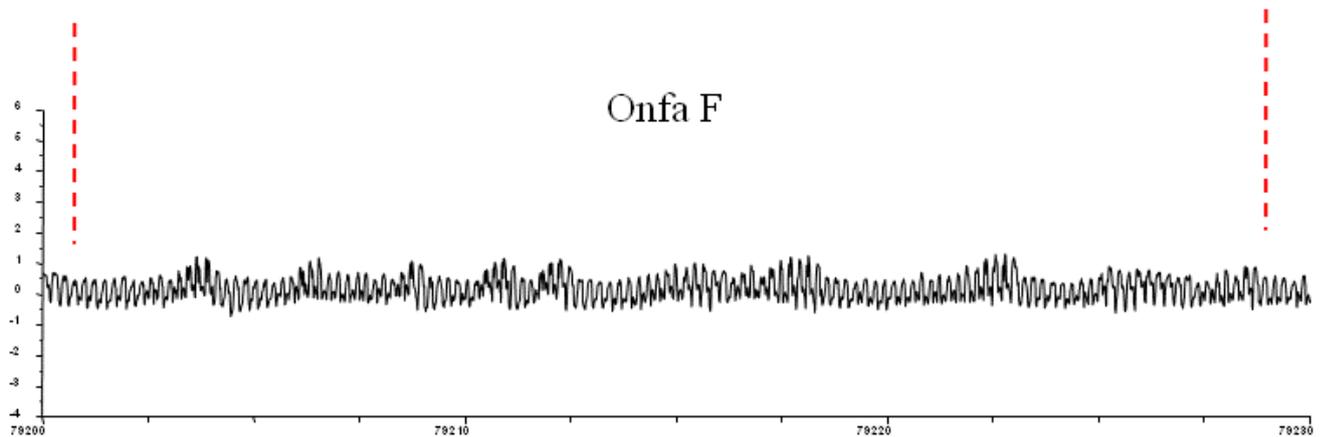


**Figura 28.** Pd padrão e duração média, caracterizada pelas III sub-fases, com a seta indicando a sub-fase Ie (extra), observada para adultos ápteros de *Cinara atlantica* em mudas de *Pinus taeda*.



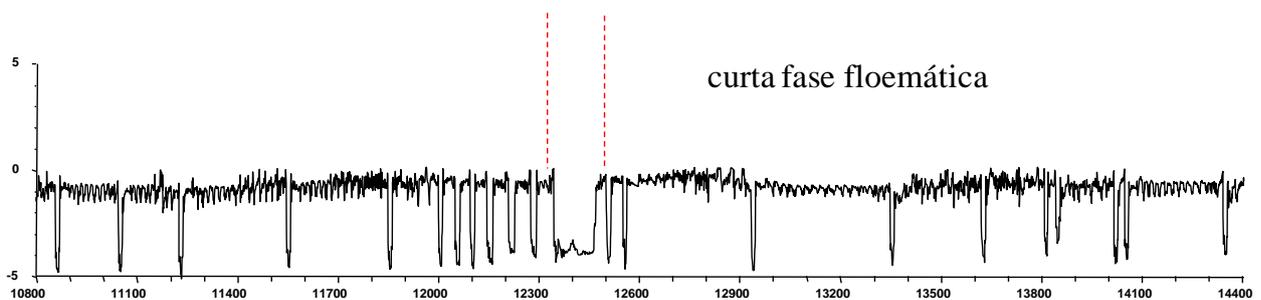
**Figura 29.** Detalhe de uma pd curta e duração média, registrada para o comportamento alimentar de *Cinara atlantica*, em mudas de *Pinus taeda* tratadas com o novo inseticida na concentração  $CL_{50}$ .

Outro padrão de onda observada exclusivamente nas plantas tratadas com o inseticida foi a onda “F”, caracterizada pela dificuldade do inseto em deslocar o estilete no interior da planta, tendo sido detectada em 26,6% dos insetos (Figura 30 e Anexo 2). Santa-Cecília *et al.* (2001) ao estudarem o comportamento alimentar de cochonilhas *Planococcus minor* (Maskell, 1897) (Hemiptera: Pseudococcidae) em plantas de cafeeiro, também observam o registro da onda F.



**Figura 30.** Padrão de onda F detectada no registro do comportamento alimentar de *Cinara atlantica* em mudas de *Pinus taeda* tratadas com o novo inseticida na concentração CL<sub>50</sub>.

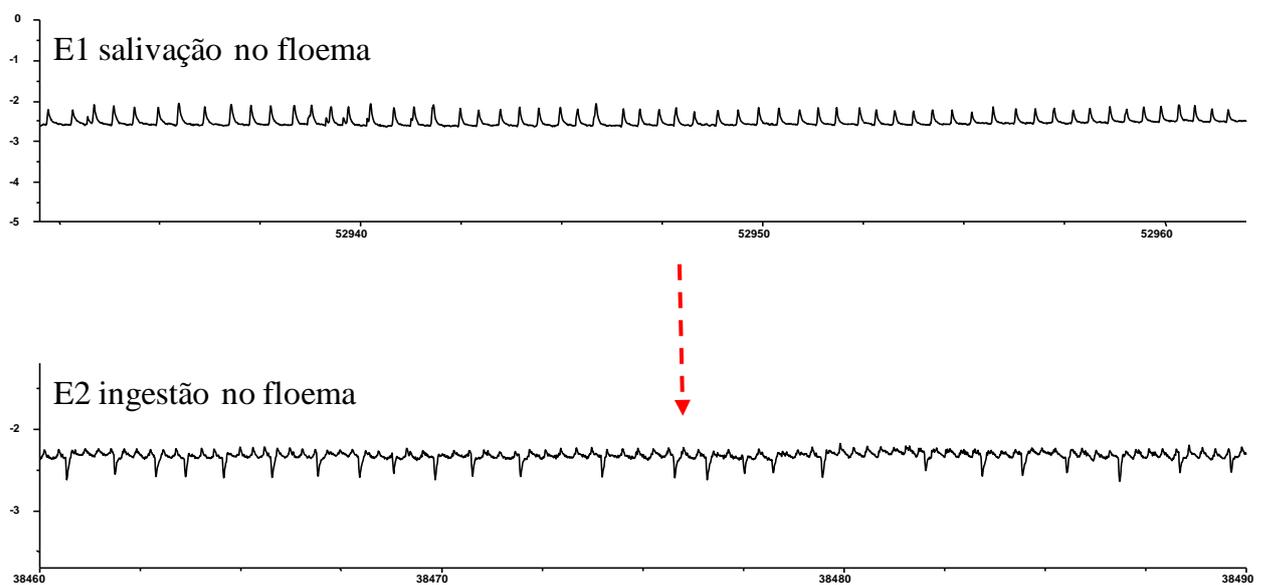
A fase floemática também foi alterada nos insetos expostos ao inseticida, onde 60% deles apresentaram fases floemáticas curtas, ou seja, as inserções do estilete nas células do floema eram bruscamente interrompidas (Figura 31). Também verificou-se que nas mudas tratadas com o inseticida, em média os insetos atingem o floema onze horas após o início dos registros e nas mudas sem inseticida, cinco horas.



**Figura 31.** Ocorrência de fase floemática de curta duração detectada no registro do comportamento alimentar de *Cinara atlantica* em mudas de *Pinus taeda* tratadas com o novo inseticida na concentração CL<sub>50</sub>.

Quando os estiletes são inseridos nos vasos do floema, a primeira atividade do inseto é a salivação e após a salivação, o inseto inicia a ingestão de seiva do floema

(Figura 32). Assim, os insetos são capazes de determinar se uma planta é apropriada para a sua alimentação após várias tentativas de sondagem (Cui *et al.*, 2010). Uma vez que a planta hospedeira é reconhecida como uma fonte aceitável para alimentação, o estilete é inserido mais profundamente no tecido da planta, através dos espaços intercelulares (atividade do caminhamento do estilete) até encontrar o floema (Tjallingii, 2006; Hewer *et al.*, 2010).



**Figura 32.** Ondas geradas durante a fase floemática: E1 salivação seguida da fase E2 ingestão do floema detectada no registro do comportamento alimentar de *Cinara atlantica* em mudas de *Pinus taeda*.

Durante as referidas fases, os pulgões segregam dois tipos de saliva, que são essenciais para a sua alimentação (Harmel *et al.*, 2008). Saliva geleificada é secretada durante a etapa de sondagem superficial e forma uma contínua bainha, a qual tem a função de manter os estiletos unidos durante a prova, além de evitar contato com as substâncias tóxicas produzidas durante a inserção nos tecidos da planta (Tjallingii, 2006). A saliva aquosa é importante na sondagem superficial e na fase floemática, na

lubrificação, na supressão de defesas do hospedeiro, na indução de acolher as respostas, na digestão dos alimentos ingeridos e material externo e/ou, na excreção de certos metabolitos (Miles, 1999; Taylor & Miles, 1994; Urbanska *et al.*, 1998; Will *et al.*, 2007; Carolan *et al.*, 2008; Will & van Bel, 2008; Ma *et al.*, 2010).

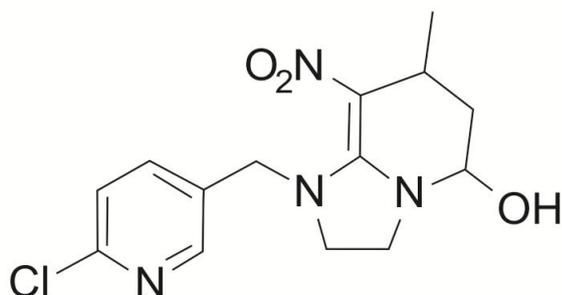
Os resultados evidenciam que a nova molécula inseticida provavelmente tem um efeito de contato e atividade sistêmica nas mudas de *P. taeda*, alterando o comportamento alimentar de *C. atlantica*. Nos prováveis efeitos sistêmicos, o inseto somente consegue distinguir as plantas com e sem inseticida a partir do momento que inicia a ingestão da seiva do floema. Neste caso, o tempo de ingestão é reduzido drasticamente em relação às plantas não tratadas, sendo que o inseto retira o estilete da planta, e quando realiza uma alimentação sustentada no floema, não reinicia uma nova fase floemática (Tabela 5).

No efeito de contato, *C. atlantica* provavelmente consegue identificar a presença do inseticida logo que é colocado na planta, onde os insetos permanecem por um período maior em não-prova e quando inserem os estiletos intercelularmente, alguns afídeos realizam picadas de prova mais curtas.

Assim, o novo inseticida pode ter um efeito direto e indireto sobre *C. atlantica*, sendo que o efeito direto ocorrerá no momento que for realizado o controle químico no plantio de *Pinus* e o inseto receber diretamente a pulverização. No efeito indireto, se *C. atlantica* chegar após a aplicação do inseticida no plantio, provavelmente o novo inseticida já terá sido incorporado nos vasos condutores das plantas e quando o afídeo for realizar a alimentação floemática, entrará em contato com o inseticida.

De acordo com Cui *et al.* (2010), o novo inseticida neonicotinóide IPP-10 apresenta ambos os efeitos, contato e sistêmico, para o afídeo *Rhopalosiphum padi* (Linnaeus, 1758) ( Hemiptera: Aphididae) em plantas de trigo tratadas na

concentração subletal  $CL_{50}$  (24h), o qual reduziu o tempo total de ingestão do floema e xilema, sendo que o tempo de salivação no floema foi significativamente prolongado.



**Figura 33.** Estrutura química do neonicotinóide IPP-10.

Portanto, todos os efeitos letais e subletais do novo inseticida sobre *C. atlantica* poderá ter uma influência deletéria sobre a dinâmica da praga. Assim, não apenas os efeitos letais, mas também os efeitos subletais deve ser levados em consideração, pois alterações nos parâmetros biológicos são os mais comumente afetados, além de ocorrerem modificações no comportamento alimentar. A ação que o novo inseticida causa no comportamento alimentar de *C. atlantica* pode ter importância fundamental na tomada de decisão quanto ao manejo integrado desta praga, bem como pode fornecer elementos importantes relacionados aos efeitos prováveis que esse inseticida causará em outros insetos sugadores, mostrando-se como uma importante ferramenta no manejo integrado de pragas.

## 4.2. Percevejo bronzeado

### 4.2.1. Bioensaios para avaliar a toxicidade do novo inseticida para *Thaumastocoris peregrinus*

As médias de mortalidade acumuladas de ninfas e adultos do percevejo bronzeado, observadas por um período de até 96 horas, após tratamento com nove diferentes concentrações do novo inseticida, são ilustradas nas Tabelas 6 e 7.

Observou-se que ninfas de quarto e quinto ínstars e adultos de *T. peregrinus* apresentaram 100% de mortalidade no período de 96 horas expostos ao novo inseticida.

Todas as concentrações testadas mostraram-se eficientes, diferenciando o período em que ocorreu a mortalidade total dos percevejos. Para as ninfas de *T. peregrinus*, nas concentrações de 30 e 50  $\mu\text{M}$ , a mortalidade total ocorreu em 96 horas; nas concentrações de 100 e 150  $\mu\text{M}$ , a mortalidade total ocorreu em 72 horas; nas concentrações de 200, 250, 300 e 400  $\mu\text{M}$ , a mortalidade total ocorreu em 48 horas e na concentração de 500  $\mu\text{M}$ , observou-se 100% de mortalidade em 24 horas (Figura 34).

Para os adultos de *T. peregrinus*, nas concentrações de 30 e 50  $\mu\text{M}$ , a mortalidade total ocorreu em 96 horas; nas concentrações de 100 e 150  $\mu\text{M}$ , a mortalidade total ocorreu em 72 horas; nas concentrações de 200, 250 e 300  $\mu\text{M}$ , a mortalidade total ocorreu em 48 horas e nas concentrações de 400 e 500  $\mu\text{M}$  observou-se 100% de mortalidade em 24 horas (Figura 35).

Em ambos os bioensaios, nota-se que ninfas e adultos de *T. peregrinus* foram bastante afetados pelo novo inseticida, no qual os adultos mostram uma maior sensibilidade em relação às ninfas. O fato das ninfas serem mais resistentes ao novo

inseticida pode estar relacionado à capacidade dos insetos em detoxificar ou metabolizar o inseticida por enzimas (Lorini, 2002; Omoto, 2004).

Outra possibilidade, é que as ninfas podem possuir a capacidade de evitar o contato com o inseticida, poupando-se de receber a concentração letal, ou seja, uma resistência relacionada ao comportamento do inseto (Oliveira Filho, 1999).

Resultados semelhantes foram observados por Simões *et al.* (1998) em que a deltametrina apresentou menor efeito sobre ninfas de primeiro e terceiro ínstares de *Doru luteipes* (Scudder, 1876) (Dermaptera: Forficulidae), em relação aos adultos deste predador.

Diferença entre os resultados apresentados foi verificado por Degrande *et al.* (1999), onde as ninfas de *Euschistus heros* (Fabricius, 1794) (Heteroptera: Pentatomidae) foram mais suscetíveis aos inseticidas acefate, endosulfan e metamidofós testados em relação aos adultos do percevejo.

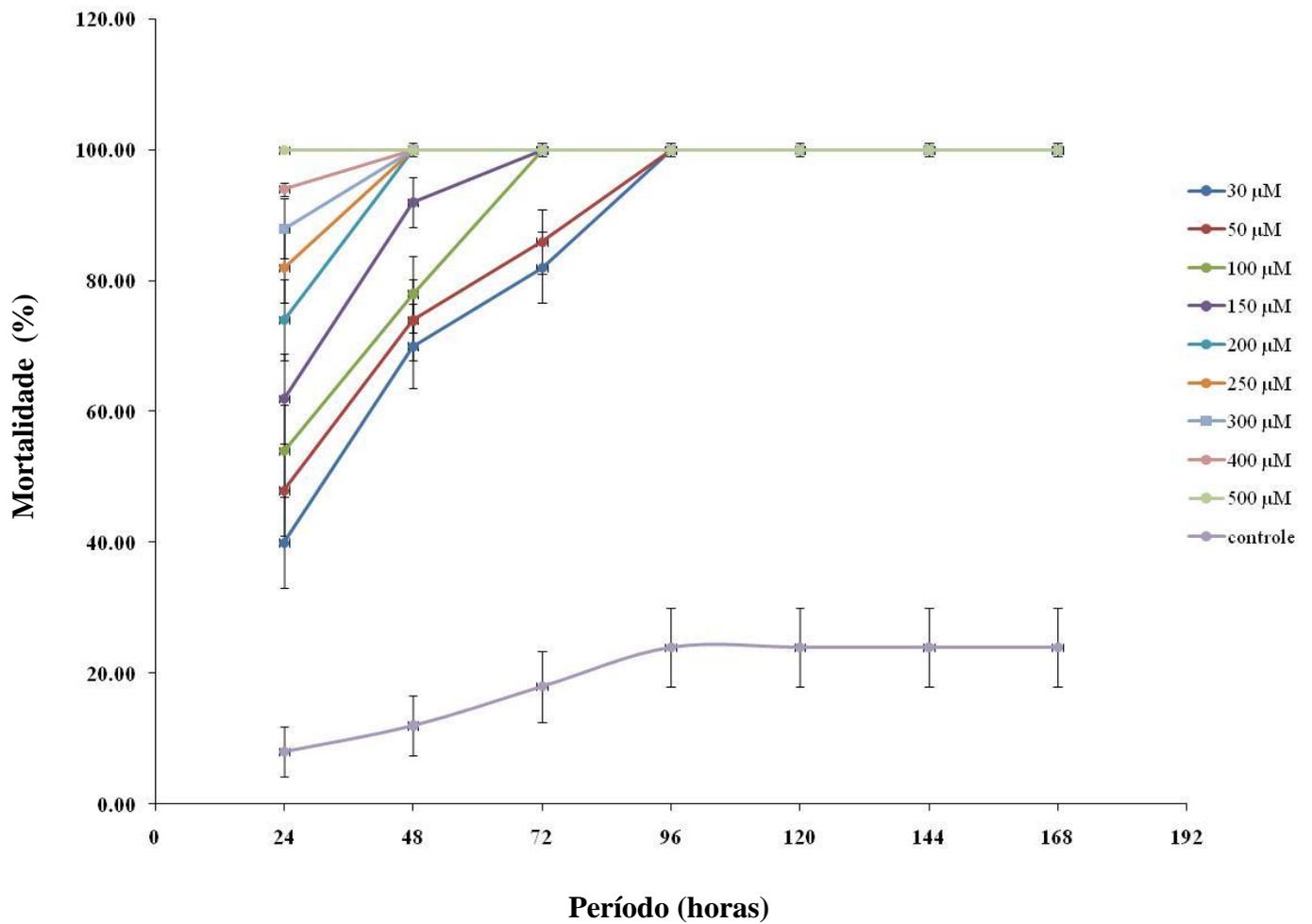
**Tabela 6.** Mortalidade acumulada (Média ± EP) de ninfas de *Thaumastocoris peregrinus*, submetidas ao novo inseticida, em diferentes períodos e concentrações a intervalos de 24 horas (n = 50).

Concentração	Mortalidade (Média ± EP)			
	24 h	48 h	72 h	96 h
<b>Controle</b>	8,0±3,8	12,0±4,6	18,0±5,4	24,0±6,0
30 µM	40,0±6,9	70,0±6,4	82,0±5,4	100,0±0,0
50 µM	48,0±7,0	74,0±6,2	86,0±4,9	100,0±0,0
100 µM	54,0±7,0	78,0±5,8	100,0±0,0	100,0±0,0
150 µM	62,0±6,8	92,0±3,8	100,0±0,0	100,0±0,0
200 µM	74,0±6,2	100,0±0,0	100,0±0,0	100,0±0,0
250 µM	82,0±5,4	100,0±0,0	100,0±0,0	100,0±0,0
300 µM	88,0±4,6	100,0±0,0	100,0±0,0	100,0±0,0
400 µM	94,0±3,3	100,0±0,0	100,0±0,0	100,0±0,0
500 µM	100,0±0,0	100,0±0,0	100,0±0,0	100,0±0,0

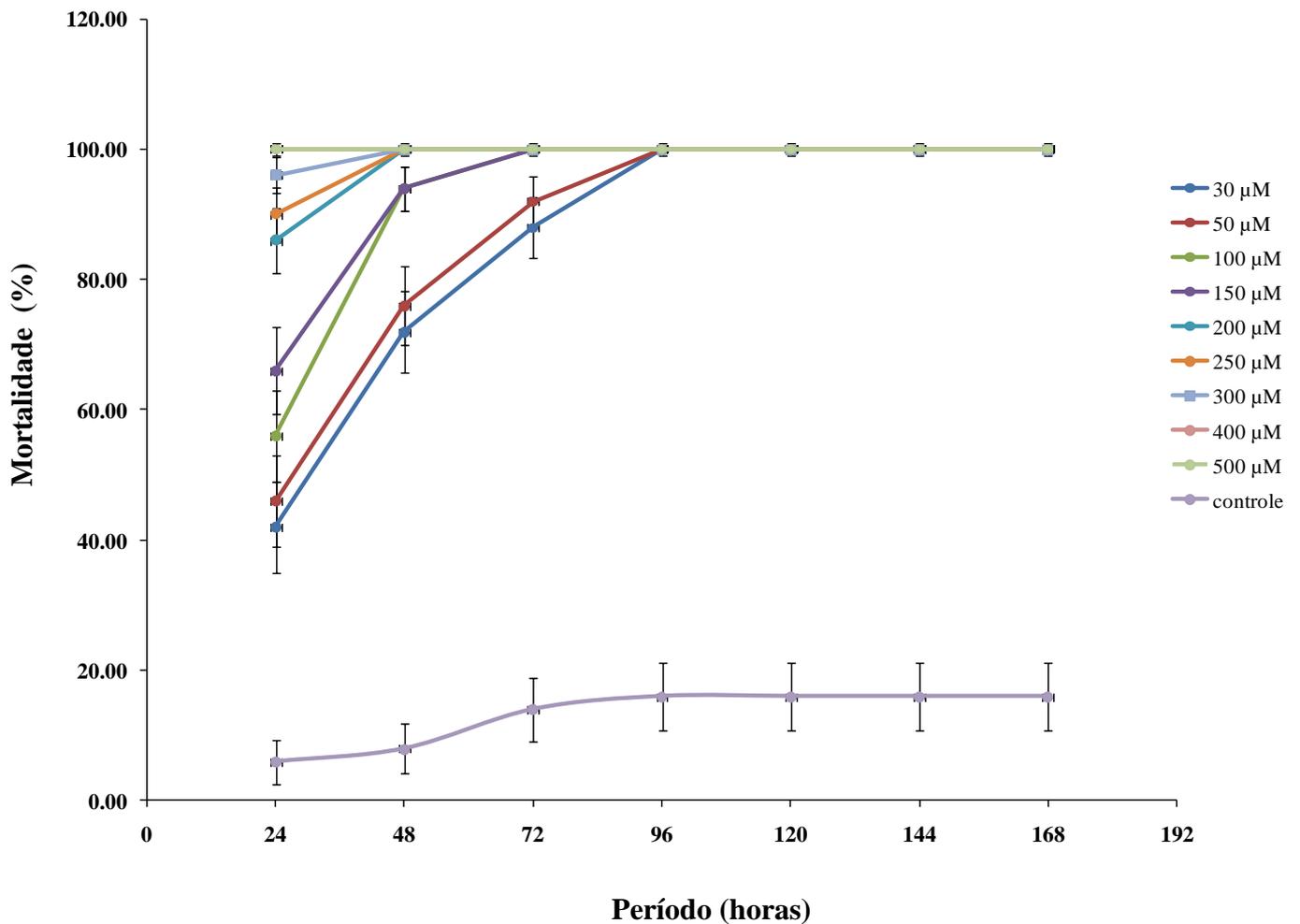
**Tabela 7.** Mortalidade acumulada (Média  $\pm$  EP) de adultos de *Thaumastocoris peregrinus*, submetidas ao novo inseticida, em diferentes períodos e concentrações a intervalos de 24 horas (n = 50).

Concentração	Mortalidade (Média $\pm$ EP)			
	24 h	48 h	72 h	96 h
Controle	6,0 $\pm$ 3,3	8,0 $\pm$ 3,8	14,0 $\pm$ 4,9	16,0 $\pm$ 5,1
30 $\mu$ M	42,0 $\pm$ 6,9	72,0 $\pm$ 6,3	88,0 $\pm$ 4,6	100,0 $\pm$ 0,0
50 $\mu$ M	46,0 $\pm$ 7,0	76,0 $\pm$ 6,0	92,0 $\pm$ 3,8	100,0 $\pm$ 0,0
100 $\mu$ M	56,0 $\pm$ 7,0	94,0 $\pm$ 3,3	100,0 $\pm$ 0,0	100,0 $\pm$ 0,0
150 $\mu$ M	66,0 $\pm$ 6,7	94,0 $\pm$ 3,3	100,0 $\pm$ 0,0	100,0 $\pm$ 0,0
200 $\mu$ M	86,0 $\pm$ 4,9	100,0 $\pm$ 0,0	100,0 $\pm$ 0,0	100,0 $\pm$ 0,0
250 $\mu$ M	90,0 $\pm$ 4,2	100,0 $\pm$ 0,0	100,0 $\pm$ 0,0	100,0 $\pm$ 0,0
300 $\mu$ M	96,0 $\pm$ 2,7	100,0 $\pm$ 0,0	100,0 $\pm$ 0,0	100,0 $\pm$ 0,0
400 $\mu$ M	100,0 $\pm$ 0,0	100,0 $\pm$ 0,0	100,0 $\pm$ 0,0	100,0 $\pm$ 0,0
500 $\mu$ M	100,0 $\pm$ 0,0	100,0 $\pm$ 0,0	100,0 $\pm$ 0,0	100,0 $\pm$ 0,0

Mesmo as concentrações mais baixas do novo inseticida apresentaram uma maior mortalidade das ninfas e adultos quando comparadas à mortalidade observada no controle, que foi de aproximadamente 24,0% para ninfas e 16,0% para adultos do percevejo bronzeado.



**Figura 34.** Percentual de mortalidade de ninfas de *Thaumastocoris peregrinus* após a aplicação de diferentes concentrações do novo inseticida e do controle, avaliadas em diferentes períodos em intervalos de 24 horas (n = 50).



**Figura 35.** Percentual de mortalidade de adultos de *Thaumastocoris peregrinus* após a aplicação de diferentes concentrações do novo inseticida e do controle, avaliadas em diferentes períodos em intervalos de 24 horas (n = 50).

As concentrações letais foram calculadas para ninfas e adultos de *T. peregrinus* (Tabelas 8 e 9), com auxílio do programa de análise Probit, seguindo a metodologia descrita por Finney (1971). A partir dos valores da mortalidade, foram obtidas as seguintes concentrações letais após 24 e 48 horas de aplicação conforme Tabelas 8 e 9.

**Tabela 8.** Concentrações letais (CL) para ninfas de *Thaumastocoris peregrinus*, submetidas ao novo inseticida, determinada no período de 24 e 48 horas (n=50).<sup>1</sup>

Concentração letal (µM)	24 horas	Intervalo de confiança	48 horas	Intervalo de confiança
CL <sub>2</sub>	3,46	0,9 – 7,5	0,11	0,0 – 1,77
CL <sub>25</sub>	26,99	14,4 – 39,6	2,53	0,0 – 10,3
CL <sub>50</sub>	73,59	53,3 – 93,0	11,62	0,8 – 25,8
CL <sub>90</sub>	495,60	353,8 – 846,3	210,15	112,8 – 7796,9
CL <sub>95</sub>	851,17	551,5 – 1737,0	477,62	187,6 – 182221,3
CL <sub>98</sub>	1564,23	901,9 – 3931,0	1202,94	325,5 – 6502601,0

Nível de Confiança 95%

<sup>1</sup>Calculo das CLs, através do software Micro Probit (Finney, 1971)

**Tabela 9.** Concentrações letais (CL) para adultos de *Thaumastocoris peregrinus*, submetidas ao novo inseticida, determinada no período de 24 e 48 horas (n=50).<sup>1</sup>

Concentração letal (µM)	24 horas	Intervalo de confiança	48 horas	Intervalo de confiança
CL <sub>2</sub>	4,50	15,3 – 37,1	0,78	0,0 – 3,5
CL <sub>25</sub>	26,41	1,4 – 8,8	5,64	0,3 – 13,0
CL <sub>50</sub>	62,66	46,6 – 77,8	14,81	3,0 – 25,1
CL <sub>90</sub>	323,73	243,4 – 501,4	92,76	66,7 – 192,6
CL <sub>95</sub>	515,74	358,6 – 922,2	156,06	100,2 – 549,6
CL <sub>98</sub>	870,96	550,3 – 1845,2	280,22	151,2 – 1872,9

Nível de Confiança 95%

<sup>1</sup>Calculo das CLs, através do software Micro Probit (Finney, 1971)

Ávila & Gomes (2001), reduziram significativamente a densidade populacional do percevejo castanho, *Scaptocoris castanea* Perty, 1833 (Hemiptera: Cydnidae) na cultura do algodoeiro, após o tratamento com o inseticida imidacloprido nas sementes e/ou no sulco de plantio. Ceccon *et al.*, 2004, ao testar vários inseticidas no controle

do percevejo castanho, *S. castanea* na cultura do milho, verificaram que os inseticidas fipronil e carbofuran destacaram-se no controle. Rocha *et al.* (2009) ao avaliarem os inseticidas abamectin, acephate e chlorfenapyr sobre ninfas de quarto e quinto ínstares de *Orius insidiosus* (Say, 1832) (Hemiptera: Anthocoridae) mostraram-se tóxicos a todos os estádios avaliados.

Para o controle químico de *T. peregrinus* em plantios de eucalipto, até o momento não existe produto comercial registrado, as estratégias para controlar o inseto ainda estão em fase de desenvolvimento.

Na Austrália, país de origem do percevejo bronzeado, há o registro do uso do inseticida sistêmico imidacloprido em áreas urbanas, por meio de microinjeção no tronco da árvore. Porém, essa medida é viável somente para pequenas áreas como árvores isoladas em meio urbano devido ao alto custo.

Como se trata do mesmo inseticida utilizado para o controle químico de *C. atlantica*, a Tabela 10 traz um comparativo com os valores determinados para o controle do percevejo bronzeado na concentração letal CL<sub>90</sub>, com os indicados para o controle de *C. atlantica*.

Percebe-se que para baixa infestação e utilizando como referência a CL<sub>90</sub> (24h) calculada, o valor que seria recomendado para o controle do pulgão-gigante-do-pínus utilizando-se o novo inseticida para baixa infestação, seria em torno de duas vezes menor que a recomendada para o imidacloprido. Para alta infestação utiliza-se quatro vezes menos inseticida ao valor recomendado para o imidacloprido, ou seja, o novo inseticida pode ser empregado em menores concentrações que o imidacloprido para exercer controle efetivo do percevejo bronzeado.

**Tabela 10.** Comparação da eficiência do produto comercial e do novo inseticida utilizando para *Thaumastocoris peregrinus*.

		Nova molécula inseticida	Imidacloprido*	
<i>Eucalyptus</i> spp.	Percevejo bronzeado <i>Thaumastocoris peregrinus</i>	CL <sub>90</sub> (24 h) 0,5 x 10 <sup>-3</sup> mol/L	1,03 x 10 <sup>-3</sup> mol/L de	
			2x	água em baixa infestação
				2,06 x 10 <sup>-3</sup> mol/L de
			4x	água em alta infestação

\*Recomendação da Bayer para utilização do imidacloprido para o controle de *Cinara atlantica*

Mesmo utilizando valores recomendados para o pulgão-gigante-do-pínus, que se mostrou mais sensível ao novo inseticida que o percevejo bronzeado, os valores determinados nesse estudo mostraram que seria preciso utilizar concentrações menores do novo inseticida para exercer o controle do percevejo bronzeado.

#### 4.2.2. Bioensaios da seletividade do novo inseticida ao parasitoide de ovos *Cleruchoides noackae* em suas fases imaturas

A viabilidade de parasitismo observada nos tratamentos com a nova molécula inseticida foi de 33,7 % na fase larval e de 17,6 % na fase pupal e ambos foram estatisticamente diferentes do controle com 64,0 % (Tabela 11). Entretanto, quando avaliou-se o número de parasitoides emergidos em cada estágio imaturo, verificaram-se diferenças significativas entre os tratamentos, sendo que a fase larval foi considerada menos sensível, com uma média de 4,8 parasitoides emergidos; já a fase pupal pode ser considerada mais sensível ao novo inseticida, apresentando uma menor emergência dos parasitoides de 2,1 em relação ao controle 9,1 (Tabela 11).

Resultados semelhantes foram obtidos por Grützmacher *et al.* (2004) ao testarem o inseticida triclorfom e observaram que o estágio de ovo-larva do *Trichogramma cacoeciae* Marchal (Hymenoptera: Trichogrammatidae) é menos sensível ao inseticida, considerado levemente nocivo (classe 2) e moderadamente nocivo às fases de pré-pupa e pupa (classe 3). Manzoni *et al.* (2007) também observaram, ao testar diferentes agroquímicos para as espécies *Trichogramma pretiosum* Riley, 1879 e *Trichogramma Atopovirilia* Oatman & Platner, 1983 (Hymenoptera: Trichogrammatidae), que na fase larval os parasitoides são menos suscetíveis aos produtos do que na fase pupal.

Estes resultados discordam dos visto por Hassan (1998), nos quais a fase de pupa é considerada o estágio de vida menos sensível do parasitoide *Trichogramma* e onde o inseto estaria menos exposto à ação de agroquímicos.

**Tabela 11.** Parâmetros biológicos (Média  $\pm$  EP) de *Cleruchoides noackae* em ovos de *Thaumastocoris peregrinus* tratados com a nova molécula inseticida nas fases larval e pupal (n = 24).<sup>1</sup>

Tratamentos	Parâmetros biológicos de <i>Cleruchoides noackae</i>				
	Número inicial de ovos	Número de ninfas <sup>2</sup>	Número de ovos parasitados	Número de parasitoides	Viabilidade do parasitismo (%)
Controle	20	5,7 $\pm$ 0,6	14,3 $\pm$ 0,6 a	9,1 $\pm$ 0,6 a	64,0 $\pm$ 3,7 a
Fase larval	20	6,4 $\pm$ 1,0	14,4 $\pm$ 0,7 a	4,8 $\pm$ 1,0 b	33,7 $\pm$ 6,6 b
Fase pupal	20	8,3 $\pm$ 0,8	11,7 $\pm$ 0,8 b	2,1 $\pm$ 0,5 c	17,6 $\pm$ 3,5 b

<sup>1</sup>Médias seguidas de mesma letra na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey (p>0,05)

<sup>2</sup>F não significativo

A razão sexual do parasitoides não diferiu estatisticamente entre os tratamentos, obtendo maior número de fêmeas em relação a machos, na proporção 1:0,46 (fase larval), 1:0,38 (fase pupal) e 1:0,61 (controle) Tabela 12.

Resultados semelhantes foram apresentados por Mutitu *et al.* (2013), onde a razão sexual de *C. noackae* foi ligeiramente desviada para os machos, mas não diferiram significativamente a partir de uma proporção de 1:1. Navarro & Marcano (1999) observaram para *T. atopovirilia* em ovos de *Helicoverpa zea* (Boddie, 1850) (Lepidoptera, Noctuidae), que 56% dos indivíduos eram fêmeas.

**Tabela 12.** Proporção e razão sexual (Média ± EP) de *Cleruchoides noackae* em ovos de *Thaumastocoris peregrinus* tratados com a nova molécula inseticida nas fases larval e pupal (n=24).

Tratamentos	Proporção sexual <sup>1</sup>	Razão sexual <sup>1</sup>
Controle	1:0,61	0,66±0,03
Fase larval	1:0,46	0,70±0,07
Fase pupal	1:0,38	0,56±0,09

<sup>1</sup>F não significativo

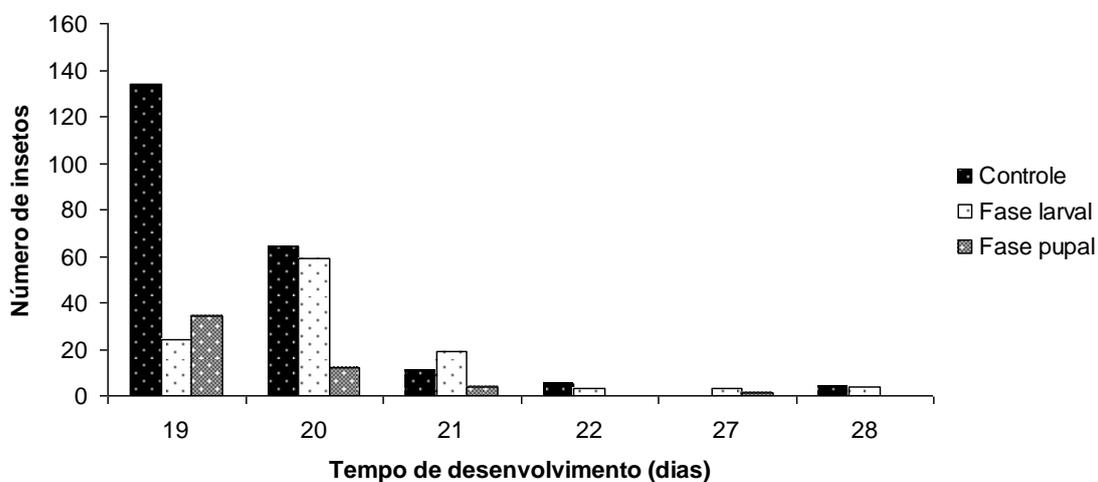
O tempo de desenvolvimento do parasitoide a 23 °C, em ovos de *T. peregrinus* com dois dias de idade teve início no 19° dia, permanecendo até o 28° dia após o parasitismo (Tabela 13, Figura 36). Foi observado que a emergência concentrou-se aos 19 e 20 dias após o parasitismo, visto que, no tratamento onde o inseticida foi aplicado na fase larval, 74,11% dos parasitóides emergiram aos 19 e 20 dias e no tratamento onde o inseticida foi aplicado na fase pupal, 90,23% dos parasitoides emergiram aos 19 e 20 dias após o parasitismo, o que foi semelhante ao controle, onde 90,83% dos parasitoides emergiram nos dois primeiros dias do período de emergência. Mutitu *et al.* (2013), em condições de laboratório, a 24 °C, obtiveram um tempo de desenvolvimento para *C. noackae* de aproximadamente 16 dias, em ovos de *T. peregrinus* entre 0 e 5 dias de idade. Beltramin (2013), observou o tempo de desenvolvimento de *C. noackae* em ovos de *T. peregrinus* entre 1 e 4 dias de idade, com duração média de 20 dias, a 23 °C.

**Tabela 13.** Tabela de distribuição de freqüências do tempo de desenvolvimento, em dias, do parasitoide *Cleruchoides noakae* em ovos de *Thaumastocoris peregrinus* tratados com a nova molécula inseticida nas fases larval e pupal (n=24).

Tempo de desenvolvimento (dias)	Tratamentos					
	Controle		Fase larval		Fase pupal	
	F	Fr	F	Fr	F	Fr
19	134	61,5	24	21,4	34	66,7
20	64	29,4	59	52,7	12	23,5
21	11	5,0	19	17,0	4	7,8
22	5	2,3	3	2,7	0	0,0
23	0	0,0	0	0,0	0	0,0
24	0	0,0	0	0,0	0	0,0
25	0	0,0	0	0,0	0	0,0
26	0	0,0	0	0,0	0	0,0
27	0	0,0	3	2,7	1	2,0
28	4	1,8	4	3,6	0	0,0
Total	218	100,0	112	100,0	51	100,0

F: freqüência;

Fr: freqüência relativa.



**Figura 36.** Tempo de desenvolvimento, em dias, do parasitoide *Cleruchoides noakae* em ovos de *Thaumastocoris peregrinus* tratados com a nova molécula inseticida nas fases larval e pupal.

**Tabela 14.** Efeito (E) do novo inseticida sobre larvas (ovos parasitados de 8 dias) e pupas (ovos parasitados de 15 dias) de *Cleruchoides noackae* (n = 24).

Tratamentos	Viabilidade (%)	E (%) <sup>1</sup>	Classe <sup>2</sup>
Controle	64,0	-	-
Fase larval	33,7	47,3	2
Fase pupal	17,6	72,5	2

<sup>1</sup>E (%) =  $(1 - V_t/V_c) \times 100$  (Manzoni *et al.* 2007)

<sup>2</sup>Classe 1 - inócuo ( $E < 30\%$ ), classe 2 - levemente nocivo ( $30 \leq E \leq 79\%$ ), classe 3 - moderadamente nocivo ( $80 \leq E \leq 99\%$ ), classe 4 – nocivo ( $E > 99\%$ )

O novo inseticida foi classificado como levemente nocivo, ou seja, classe 2, para ambas as fase de desenvolvimento de *C. noackae*, segundo a classificação do IOBC (Tabela 14). Inseticidas enquadrados nas classes I e II são considerados seletivos aos organismos benéficos (Hassan, 1997), podendo ser recomendados para o manejo do percevejo bronzeado visando à preservação do parasitoide de ovos *C. noackae*. Os resultados do presente estudo se assemelham com aqueles de Matos (2007) que avaliou a seletividade dos produtos imidacloprido e triflumurom ao parasitoide *Trichogramma atopovirilia* Oatman & Platner, 1983 (Hymenoptera, Trichogrammatidae) e verificou que foram levemente nocivos (classe 2). O inseticida metidationa foi considerado levemente nocivo (classe 2) a imaturos de *T. pretiosum* e de *T. atopovirilia*, respectivamente, às fases de pupa e pré-pupa destas espécies (Manzoni *et al.*, 2007).

A seletividade aos estágios imaturos depende das propriedades intrínsecas de cada inseticida, quanto a sua toxicidade, persistência e dosagem, bem como das características dos ovos dos hospedeiros, como permeabilidade do córion e das camadas adjacentes, que são variáveis em função da espécie (Cônsoi *et al.* 1999; Degrande *et al.*, 2002).

Os estudos básicos de seletividade ao principal inimigo natural de *T. peregrinus*, são importantes, pois as informações obtidas poderão ser utilizadas nas tomadas de decisão da utilização do produto, minimizando os efeitos decorrentes do uso de pesticida não apropriados.

É importante considerar também, que a fase adulta desse parasitoide é de vida livre e, normalmente, mais sensível à ação de agrotóxicos em comparação com as fases protegidas, dentro dos ovos do hospedeiro (Hassan, 1992). Sendo assim, pesquisas futuras estudando o efeito desse agrotóxico sobre adultos de *C. noackae* ainda precisam ser realizadas, e os resultados considerados na tomada de decisão, na escolha do melhor produto para ser utilizado no MIP.

## 5. CONCLUSÕES

- O novo inseticida, em desenvolvimento, se mostrou eficiente para o controle de ninfas de *C. atlantica* e ninfas e adultos do percevejo *T. peregrinus*.
- Os valores de  $CL_{90}$  calculados para ambas as pragas são inferiores às concentrações de imidacloprido recomendadas para o controle do pulgão-gigante-do-pínus. Esse resultado é muito importante pois pode ter como consequência a utilização de um pesticida menos tóxico e em menor quantidade para o controle dessas importantes pragas florestais.
- A nova molécula com ação inseticida representa a primeira alternativa de controle químico para o percevejo bronzeado *T. peregrinus* testada até o momento.
- A nova molécula inseticida modificou o comportamento alimentar de *C. atlantica*, provocando uma brusca diminuição na alimentação floemática, ocorrência do padrão da onda “F” e “pd curta” .
- A nova molécula inseticida não afetou a proporção e a razão sexual do parasitoide *C. noackae*. Apesar de ter reduzido o número de parasitoides emergidos de ovos de *T. peregrinus* a nova molécula inseticida foi classificada como levemente nociva (classe II) ao parasitoide de ovos *C. noackae* e pode ser recomendada para utilização no manejo integrado de *T. peregrinus*.
- É possível que o presente trabalho com a nova molécula inseticida, seja uma alternativa viável para substituição de vários pesticidas atualmente em uso, como os neonicotinóides, para o controle de pragas florestais, agrícolas e urbanas.

## 6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os neonicotinoides são atualmente os pesticidas mais utilizados mundialmente no controle de pragas e foram um dos primeiros inseticidas a serem amplamente utilizados no tratamento de sementes, permitindo que os agricultores controlassem pragas importantes. Sua ação sistêmica faz com que o inseticida persista em toda a planta, acarretando na intoxicação de aves que se alimentam de sementes. São também muito solúveis em água, causando contaminações de aquíferos e a mortalidade de invertebrados aquáticos, além de apresentarem grande potencial de contaminação ambiental.

Fala-se também que os neonicotinoides são seletivos aos inimigos naturais das pragas agrícolas. Mas a sua seletividade está sendo questionada, já que existem relatos de toxicidade aos inimigos naturais. A maior preocupação atualmente está na sua persistência nos vasos condutores das plantas, o qual contamina pólen e néctar que são produtos finais dos polinizadores. Dentre os polinizadores, as abelhas melíferas, em várias partes do mundo estão entrando em declínio pelo uso indiscriminado dos neonicotinóides, tendo sido registrada a ocorrência de abelhas doentes e também a mortandade em massa, correndo risco de extinção. O prejuízo para a agricultura é incalculável, já que as abelhas são responsáveis pela polinização de um terço de todos os alimentos produzidos.

A Comissão Europeia banuiu três dos principais neonicotinóides (imidacloprido, clotianidina e tiametoxan) em todos os países membros da União Europeia, por outro lado, o Brasil assumiu o posto de maior consumidor de agrotóxico do mundo, ultrapassando os EUA, o que causa uma preocupação futura, já que no Brasil existe a flexibilidade do uso irracional de agrotóxicos.

A busca por métodos alternativos de controle de pragas abrem novas perspectivas para pesquisas nesse campo a nova molécula inseticida sintética que foi desenvolvida, apresenta vantagens em relação aos compostos comerciais utilizados no controle de pragas atualmente. Essa molécula, apesar de ser sintética, pode ser obtida em apenas uma etapa reacional e contém, em sua estrutura ligante natural, derivado de planta complexado a um metal. Essa estrutura quando decomposta pode gerar fragmentos benéficos às plantas, e não apresentou efeito fitotóxico a nenhuma planta estudada até o momento. O novo pesticida também apresentou baixa toxicidade a ambientes aquáticos além de ser fotoluminescente, o que deverá facilitar a localização da molécula no corpo dos insetos, o que auxiliará no estudo de mecanismo de ação.

A nova molécula inseticida mostrou-se promissora no controle das formigas cortadeiras *Atta sexdens rufopilosa* e larvas do mosquito *Aedes aegypti*. No presente trabalho, mostrou-se eficiente no controle de ninfas do afídeo *C. atlantica* e ninfas e adultos do percevejo *T. Peregrinus*, utilizando uma menor quantidade em relação ao recomendado para o produto comercial imidacloprido pertencente a classe dos neonicotinoides.

Os resultados aqui apresentados são inéditos, já que apresenta a primeira alternativa viável de controle químico para o percevejo bronzeado, associado às vantagens de apresentar seletividade ao seu parasitoide de ovos, *C. noackae*, que está sendo implementado no Brasil para o controle biológico de *T. peregrinus*. Os resultados dos estudos desenvolvidos com o novo pesticida associados às suas características, o tornam um candidato a substituir vários pesticidas atualmente em uso, como os neonicotinoides, o que justificou o depósito de uma patente nacional e internacional visando proteger as inovações alcançadas nesses estudos.

## 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABBOTT, W.S. 1925. A method of computing the effectiveness of an insecticide. **Journal of Economic Entomology**, 18 : 265-267.

AGROFIT. 2013. Sistema de agrotóxicos fitossanitários. Disponível em: [www.extranet.agricultura.gov.br](http://www.extranet.agricultura.gov.br). Acesso em: 28/03/2013.

AGROADS. 2013. Disponível em: [www.agroads.com.br/confidor](http://www.agroads.com.br/confidor). Acesso em: 10/04/2013.

ALBAJES, R.; LÓPEZ, C.; PONS, X. 2003. Predatory fauna in cornfields and response to imidacloprid seed treatment. **Journal of Economic Entomology**, 96: 1805-1813.

ANGELINI, R.; CANTONI, A.; GAMBI, E. 1997. Confidor® e Gaucho®: nuovi insetticidi sistemici a base di Imidacloprid. **Inf. Fitop**, 1: 25-34.

ANVISA. 2012. **Agência Nacional de Vigilância Sanitária**. “Seminário volta a discutir mercado de agrotóxicos em 2012”. Disponível em: [www.portal.anvisa.gov.br](http://www.portal.anvisa.gov.br). Acesso em: 20/04/2013.

ÁVILA, C.J.; GOMES, S.A. 2001. Ação de inseticidas sobre o percevejo castanho *Scaptocoris castanea* Perty, 1833 (Hemiptera: Cydnidae) na cultura do algodoeiro. *In: Reunião Sul Brasileira sobre Pragas de Solo*, 8: 232-235.

BARBOSA, L.R.; SANTOS, F.; WILCKEN, C. F.; SOLIMAN, E. P. 2010. Registro de *Thaumastocoris peregrinus* (Hemiptera, Thaumastocoridae) no Estado do Paraná. **Pesquisa Florestal Brasileira**, 30: 75-77.

BELASQUE JUNIOR, J.; YAMAMOTO, P. T.; MIRANDA, M. P.; BASSANEZI, R. B.; AYRES, J.; BOVÉ, J. M. 2010. Controle do *huanglongbing* no Estado de São Paulo, Brasil. **Citrus Research & Technology**, 31: 53-64.

- BELTRAMIN, F.S. 2013. Estratégias para o controle biológico de *Thaumastocoris peregrinus* Carpintero & Dellapé, 2006 (Heteroptera: Thaumastocoridae). Monografia, Curitiba, UFPR, 23p.
- BLACKMAN, R.L.; EASTOP, V.F. 1994. Aphids on the World's Trees. An Identification and Information Guide. **CAB International**. 987 p.
- BLACKMAN, R.L.; EASTOP, V.F. 2000. Aphids on the World's Crops: An Identification and Information Guide. Chichester: John Wiley & Sons Ltd. 466 p.
- BOITEAU, G.; OSBORN, W.P.L. 1997. Behavioural effects of imidacloprid, a new nicotinyl insecticide, on the potato aphid, *Macrosiphum euphorbiae* (Thomas) (Homoptera, Aphididae). **Canadian Entomologist**, 129: 241-249.
- BONMATIN, J.M.; MOINEAU, I.; CHARVET, R.; COLIN, M.E.; FLECHE, C.; BENGSCHE, E.R. 2005. Behaviour of imidacloprid in fields. Toxicity for honey bees. In: Lichtfouse, E.; Schwarzbauer, J.; Robert, D.; Lichtfouse, E.; Schwarzbauer, J.; Robert, D. (Ed.) **Environmental Chemistry: Green Chemistry and Pollutants in Ecosystems**. Springer, Berlin. 483–494p.
- BOUVET, J.P.R.; VACCARO, N.C. 2007. Nueva especie de chinche, *Thaumastocoris peregrinus* (Hemiptera, Thaumastocoridae) em plantaciones de eucalipto em El departamento Concórdia, Entre Rios, Argentina. In: **Jornadas Forestales de Entre Rios**, 15.
- BRACELPA. 2013. **Associação Brasileira de Celulose e Papel**. “Mudanças climáticas: Ações globais precisam ser efetivas”. Disponível em: [www.bracelpa.org.br](http://www.bracelpa.org.br). Acesso em: 10/10/2013.
- BUCKINGHAM, S.D.; LAPIED, B.L.E.; CORRONC, H.; GROLLEAU, F.; SATTELLE, D.B. 1997. Imidacloprid actions on insect neuronal acetylcholine receptors. **The Journal of Experimental Biology**, 200: 2685–2692.
- BUTTON, G. 2007. *Thaumastocoris peregrinus*. **Forestry facts**, 2p.

- CAILLAUD, C.M.; PIERRE, J.S.; CHAUBET, B.; DI PIETRO, J.P. 1995. Analysis of wheat resistant to the cereal aphid *Sitobion avenae* using electrical penetration graphs and flow charts combined with correspondence analysis. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, 75: 9-18.
- CARDOSO, J. T. & S. M. N. LAZZARI. 2003. Consumption of *Cinara* spp. (Hemiptera; Aphididae) by *Cycloneda sanguinea* (Linnaeus, 1763) and *Hippodamia convergens* Guérin-Méneville, 1842 (Coleoptera, Coccinellidae). **Revista Brasileira de Entomologia**, 47: 559-562.
- CAROLAN, J.C.; FITZROY, C.I.J.; ASHTON, P.D.; DOUGLAS, A.E.; WILKINSON, T.L. 2008. The secreted salivary proteome of the pea aphid *Acyrtosiphon pisum* characterised by mass spectrometry. **Proteomics**, 9: 2457–2467.
- CARPINTERO, D.L.; DELLAPÉ, P.M. 2006. A new species of *Thaumastocoris* Kirkaldt from Argentina (Heteroptera: *Thaumastocoridae*: *Thaumastocorinae*). **Zootaxa**, 1228: 61-68.
- CARVALHO, G. A.; PARRA, J. R. P.; BATISTA, G. C. 2001. Seletividade de alguns produtos fitossanitários a duas linhagens de *Trichogramma pretiosum* Riley, 1879 (Hymenoptera: Trichogrammatidae). **Ciência e Agrotecnologia**, 25: 583-591.
- CARVER, M.; GROSS, G.F.; WOODWARD, T.E. 1991. Hemiptera. *In*: CSIRO. **The insects of Australia**. 429-509p.
- CECCON, G.; RAGA, A.; DUARTE, A.P.; SILOTO, R.C. 2004. Efeito de inseticidas na semeadura sobre pragas iniciais e produtividade de milho safrinha em plantio direto. **Bragantia**, 2: 227-237.
- CÔNSOLI, F.L.; KITAJIMA, E.W.; PARRA, J.R.P. 1999. Ultrastructure of the natural and factitious host eggs of *Trichogramma galloi* and *T. pretiosum* (Hymenoptera, Trichogrammatidae). **International Journal of Insect Morphology and Embryology**, 28:211-229.

- CHO,S.; KOO, H.; YOON, C.; KIM, G. 2011. Sublethal Effects of Flonicamid and Thiamethoxam on Green Peach Aphid, *Myzus persicae* and Feeding Behavior Analysis. **journal of The Korean Society for Applied Biological Chemistry**, 54: 889-898.
- CHAUZAT, M.P.; FAUCON, J.P.; MARTEL, A.C.; LACHAIZE, J.; COUGOULE, N.; AUBERT, M. 2006. A survey of pesticide residues in pollen loads collected by honey bees in France. **Journal of Economic Entomology**, 99: 253-262.
- CROSS, D. 2009. The parasitoids of *Thaumastocoris* spp. in the Sydney region. Unpublished M.Sc. thesis, Department of Food and Natural Resources, University of Sydney, Australia.
- CUI, L.; SUN, L.; SHAO, X.; CAO, Y.; YANG, D.; LI, Z.; YUAN, H. 2010. Systemic action of novel neonicotinoid insecticide IPP-10 and its effect on the feeding behaviour of *Rhopalosiphum padi* on wheat. **Pest Management Science**, 66: 779–785.
- DEGRAND, P.E.; REIS, P.R.; CARVALHO, G.A.; BELARMINO, L.C. 2002. Metodologias para avaliar o impacto de pesticidas sobre inimigos naturais. *In*: PARRA, J.R.; BOTELHO, P.S.M.; CORRÊA-FERREIRA, B.S.; BENTO, J.M.S. (Ed.) **Controle biológico no Brasil: Parasitóides e Predadores**. Manole, São Paulo. 635p.
- DEGRANDE, P. E. 1998. Guia prático de controle das pragas do algodoeiro. Dourados, Universidade Federal do Mato Grosso do Sul. 60 p.
- DENHOLM, I.; HOROWITZ, M.; CAHILL, M.; ISHAAYA, I. 1998. Management of resistance to novel insecticide. *In*: ISHAAYA, I.; DEGHEELE, D. (Ed.) **Insecticides with novel modes of action; mechanisms and application**. Springer,Verlag. 260-282p.
- DESPRÉS, L.; DAVID, J.P.; GALLET, C. 2007. The evolutionary ecology of insect resistance to plant chemicals. **Trends in Ecology and Evolution**, 22: 298–307.

- DEVONSHIRE, A.L. 1989. Resistance of aphids to insecticides. *In*: MINKS, A.K. HARREWIJN, P. (Eds.) **Aphids, their biology, natural enemies and control**. Elsevier. P. 123–139.
- DIXON, A.F.G. 1987. The way of life of aphids: host specificity, speciation and distribution. *In*: MINKS, A.K.; HARREWIJN, P. (Ed.) **Aphids their biology, natural enemies and control**. Amsterdam: Elsevier. P. 197–207.
- DOSSA, Derli *et al.* **Produção e rentabilidade de Pinus em empresas florestais**. Colombo: Embrapa Florestas, 2002. (Comunicado Técnico, n.82). Disponível em: <<http://www.cnpf.embrapa.br>>. Acesso em: jul. 2012.
- EASTOP, V.F. 1972. A taxonomic review of the species of *Cinara* Curtis occurring in Britain (Hemiptera: Aphididae). **Bulletin of the British Museum (Natural History) Entomology**, 27: 101-186.
- ELBERT, A.; NAUEN, R.; LEICHT, W. 1998. Imidacloprid, a novel chloronicotinyl insecticide: biological activity and agricultural importance. *In*: ISHAAYA, I.; DEGHEELE, D. (Ed.) **Insecticides with novel modes of action; mechanisms and application**. Springer, Verlag. 50-73p.
- ELBERT, A.; HAAS, M.; SPRINGER, B.; THIELERT, W.; NAUEN, R. 2008. Applied aspects of neonicotinoid uses in crop protection. **Pest Management Science**, 64: 1099-105.
- FARIA, A.B.C.; SOUSA, N.J. 2005. Estratégias no manejo de resistência a inseticidas para o pulgão-gigante-do-Pinus (*Cinara pinivora* wilson e *Cinara atlantica* wilson; Hemiptera: Aphididae). **Floresta**, 35: 153-167.
- FERERES, A.; COLLAR, J.L. 2001. Analysis of noncirculative transmission by electrical penetration graphs. *In*: Harris, F.K.; Smith, O.P.; Duffus, J. E. (Ed.) **Virus-insect-plant interactions**. Academic Press: San Diego. P. 87–109.

- FERNANDES, J. B. *et. al.* Processo de preparação de complexos metálicos de hesperidina e hesperitinina, complexos metálicos e composições inseticidas para o controle de insetos pragas urbanos, da agricultura e da silvicultura. BR Pat. 1020127313804, 10 dez. 2012. 83 p.
- FINNEY, D.J. 1971. Probit analysis. 3rd ed., London, Cambridge University Press, 315p.
- FOSTER, S.P.; DENHOLM, I.; THOMPSON, R. 2003. Variation in response to neonicotinoid insecticides in peach-potato aphids, *Myzus persicae* (Hemiptera: Aphididae). **Pesticide Management Science**, 2: 166-173.
- FOX, R. C. & K. H. GRIFFITH. 1977. Pine seedling growth loss caused by cinaran aphids in South Carolina. **Journal of Georgia Entomological Society**, 12: 29-34.
- GARCIA, A.; FIGUEIREDO, E.; VALENTE, C.; MONSERRAT, V. J.; BRANCO, M. 2013. First record of *Thaumastocoris peregrinus* in Portugal and of the neotropical predator *Hemerobius bolivari* in Europe. **Bulletin of Insectology**, 66: 251-256.
- GRÜTZMACHER, A.D.; ZIMMERMANN, O.; YOUSEF, A.; HASSAN, S.A. 2004. The side-effects of pesticides used in integrated production of peaches in Brazil on the egg parasitoid *Trichogramma cacoeciae* Marchal (Hym., Trichogrammatidae). **Journal of Applied Entomology**, 128: 377-383.
- HALL, R.A.; BURGESS, H.D. 1979. Control of aphids in glasshouses with the fungus *Verticillium lecanii*. **Annals of Applied Biology**, 93: 235-246.
- HALL, R.A. 1982. Control of whitefly *Trialeurodes vaporariorum* and cotton aphid *Aphis gossypii* in glasshouses by two isolates of the fungus *Verticillium lecanii*. **Annals of Applied Biology**, 101:1-11.

- HALM, M.P.; RORTAIS, A.; ARNOLD, G.; TASÉI, J.N.; RAULT, S. 2006. New risk assessment approach for systemic insecticides: the case of honey bees and imidacloprid (Gaucho). **Environmental Science & Technology**, 40: 2448–2454.
- HASSAN, S.A. 1992. Guideline for the evaluation of side-effects of plant protection product on *Trichogramma cacoeciae*. In: HASSAN, S.A. Guidelines for testing the effects of pesticides on beneficial organisms: description of test methods. **IOBC/WPRS Bulletin**, 15: 18- 39.
- HASSAN, S.A. 1997. Métodos padronizados para testes de seletividade com ênfase em *Trichogramma*. In: PARRA, J.R.P.; ZUCCHI, R.A. (Ed.). **Trichogramma e o controle biológico aplicado**, 8: 207- 233.
- HASSAN, S.A. 1998. The side-effects of pesticides on the egg parasitoid *Trichogramma cacoeciae* Marchal (Hym., Trichogrammatidae), acute dose-response and persistence tests. **Journal of Applied Entomology**, 122 : 569-573.
- HARMEL, N.; LETOCART, E.; CHERQUI, A.; GIORDANENGO, P.; MAZZUCHELLI, G.; GUILLONNEAU, P. 2008. Identification of aphid salivary proteins a proteomic investigation of *Myzus persicae*. **Insect Molecular Biology**, 17: 165–174.
- HARREWIJN, P.; KAYSE, H. 1997. Pymetrozine, a fast-acting and selective inhibitor of aphid feeding. *In-situ* studies with electronic monitoring of feeding behaviour. **Pesticide Science**, 49:130–140.
- HE, Y.; CHEN, L.; CHEN, J.; ZHANG, J.; CHEN, L.; SHENC, J.; CHENG, Y. 2010. Electrical penetration graph evidence that pymetrozine toxicity to the rice brown planthopper is by inhibition of phloem feeding. **Pest Management Science**, 67: 483–491.
- HEWER, A., WILL, T.; VAN BEL, A.J.E. 2010. Plant cues for aphid navigation in vascular tissues. **Journal of Experimental Biology**, 213: 4030-4042.

- HOROWITZ, A.R.; ISHAAYA, I. 2004. Biorational insecticides-Mechanism, selectivity and importance in pest management. *In*: HOROWITZ, A.R.; ISHAAYA, I. (Ed.) **Insect pest management; field and protected crops**. Berlin, Springer. 28p.
- IBAMA. 2012. Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis. **Comunicado**. Brasília, nº139, 19 de julho. ISSN 1677-7069.
- IEDE, E.T.; LAZZARI, S.M.N.; PENTEADO, S.R.C.; ZONTA-DE-CARVALHO, R.C.; RODRIGUES-TRENTINI, R.F. 1998. Ocorrência de *Cinara pinivora* (Homoptera: Aphididae, Lachninae) em reflorestamentos de *Pinus spp.* no sul do Brasil. *In*: **Congresso Brasileiro de Zoologia**. Recife, 141p.
- IEDE, E. T. 2003. Monitoramento das populações de *Cinara spp.* (Hemiptera: Aphididae: Lachninae), avaliação de danos e proposta para o seu manejo integrado em plantios de *Pinus spp.* (Pinaceae), no sul do Brasil. Tese de Doutorado, Curitiba, UFPR, 171p.
- IDE, M.; CECILIA, G.; ARIEL, S.C.; JUAN, V.E. 2011. Detección de *Thaumastocoris peregrinus* (Hemiptera: *Thaumastocoridae*) asociado a *Eucalyptus spp.* em Chile. **Bosque**, 32:309-313.
- IHARA, M.; BROWN, L.A.; ISHIDA, C.; OKUDA, H.; SATTELLE, D.B.; MATSUDA. 2006. Actions of imidacloprid, clothianidin and related neonicotinoids on nicotinic acetylcholine receptors of American cockroach neurons and their relationships with insecticidal potency. **Journal Pesticide Science**, 31:35–40.
- JACOBS, D.H.; NESER, S. 2005. *Thaumastocoris australicus* Kirkaldy (Heteroptera, Thaumastocoridae): a new insect arrival in South Africa damaging to *Eucalyptus* trees: research in action. **South African Journal of Science**, 101: 233-236.
- JOHNSON, W.T.; LYON, H.H. 1976. Aphids on conifers. Insects That feed on trees and shrubs-An Illustrated Practical guide. **Cornell University Press**. Ithaca, New York. 464p.

- KILPATRICK, A.L.; HAGERTY, A.M.; TURNIPSEED, S. G.; SULLIVAN, M.J.; BRIDGES, W.C. 2005. Activity of selected neonicotinoids and dicotophos on nontarget arthropods in cotton: Implications in insect management. **Journal of Economic Entomology**, 98: 814-820.
- LAUDONIA, S.; SASSO, R. 2012. The bronze bug, *Thaumastocoris peregrines*: a new insect recorded in Italy, damaging to *Eucalyptus* trees. **Bulletin of Insectology**, 65: 89-93.
- LAURENT, F.M.; RATHAHAO, E. 2003. Distribution of [C-14] imidacloprid in sunflowers (*Helianthus annuus* L.) following seed treatment. **Journal of Agricultural Food Chemistry**, 51: 8005–8010.
- LAZZARI, S.M.N.; ZONTA-DE-CARVALHO, R.C. 2000. Aphids (Hemiptera, Aphididae, Lachninae, Cinarini) on *Pinus* spp. and *Cupressus* sp. In Southern Brazil. In: Internacional Congress of Entomology, XXI. Foz do Iguaçu, PR. **Anais**. p. 493.
- LEI, H.; TJALLINGII, W.F.; van LENTEREN, J.C. 1998. Probing and feeding characteristics of greenhouse whitefly in association with host-plant acceptance and whitefly strains. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, 88: 73-80.
- LIMA, A.C.V.; DIAS, T.K.R.; BARBOSA, L.R.; SOLIMAN, E.P.; NOGUEIRA DE AS, L.A.; MASSON, M.V. 2010. Primeira ocorrência do percevejo bronzeado *Thaumastocoris peregrinus* (Hemiptera: Thaumastocoridae) no estado da Bahia. 2010. In: Congresso brasileiro de Entomologia. Botucatu: Universidade Estadual Paulista.
- LIN, N.; HUBER, J.; SALLE, J.L. 2007. The Australian genera of Mymaridae (Hymenoptera: Chalcidoidea). **Zootaxa**, 1596: 1-111.
- LIU, X.D.; ZHAI, B.P.; ZHANG, X.X.; ZONG, J.M. 2005. Impact of transgenic cotton plants on a non-target pest, *Aphis gossypii* Glover. **Ecological Entomology**, 30: 307-315.

- LORINI, I. 2002. Grãos armazenados: resistência de pragas a inseticidas químicos. Embrapa Trigo. Comunicado Técnico, nº 45.
- MA, R.; CHEN, J.; CHENG, D.; SUN, J. 2010. Activation of defense mechanism in wheat by Polyphenol oxidase from aphid saliva. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 58: 2410–2418.
- MANZONI, C.G.; GRÜTZMACHER, A.D.; GIOLO, F.P.; HÄRTER, W.D.A.R.; CASTILHOS, R.V.; PASCHOAL, M.D.F. 2007. Seletividade de agroquímicos utilizados na produção integrada de maçã aos parasitóides *Trichogramma pretiosum* Riley e *Trichogramma atopovirilia* Oatman & Platner (Hymenoptera: Trichogrammatidae). **BioAssay**, 2:1-11.
- MARÇON, P.; THOMAS, G.; SIEGFRIED, B.; CAMPBELL, J.; SKODA, S. 2003. Resistance status of house flies (Diptera: Muscidae) from Southeastern Nebraska beef cattle feedlots to selected insecticides. **Journal of Economic Entomology**, 96:1016–1020
- MARTÍNEZ, G.; BIANCHI, M. 2010. Primer registro para Uruguay de la chinche del eucalipto, *Thaumastocoris peregrinus* Carpintero y Dellappé, 2006 (Hemiptera; Thaumastocoridae). **Agrociencia**, 14: 15-18.
- MASCARIN, G. M.; DUARTE, V.S.; BRANDÃO, M.M.; DELALIBERA, Jr.I. 2012. Natural occurrence of *Zoophthora radicans* (Entomophthorales: Entomophthoraceae) on *Thaumastocoris peregrinus* (Heteroptera: Thaumastocoridae), an invasive pest recently found in Brazil. **Journal of Invertebrate Pathology**, 110: 401-404.
- MATOS, M.M. 2007. Seletividade a *Trichogramma atopovirilia* Oatan & Platner 1983 de agroquímicos utilizados na citricultura paulista para o controle do bicho-furão-dos-citros *Gymnandrosoma aurantianum* Lima 1927. Dissertação de Mestrado, São Paulo, USP, 54p.

- MCLEAN, D.L.; KINSEY, M.G. 1964. A technique for electronically recording of aphid feeding and salivation. **Nature**, 202: 1358-1359.
- MEDINA, P.; BUDIA, F.; DEL STAL, P.; VIÑUELA, E. 2003. Effects of three modern insecticides pyriproxyfen, spinosad and tebufenozide on survival and reproduction of *Chrysoperla carnea* adults. **Annals of Applied of Biology**, 142 : 55-61.
- MILES, P.W.; TAYLOR, G.S. 1994. 'Osmotic pump' feeding by coreids. **Entomologia Experimentalis Et Applicata**, 73: 163-173.
- MILES, P.W. 1999. Aphidsaliva. **Biological reviews of the Cambridge Philosophical Society**, 74: 41-85.
- MILLS, N.J. 1990. Biological control of forest aphid pests in Africa. **Bulletin of Entomological Research**, London, 80: 31-36.
- MORITA, M.; UEDA, T.; MONEDA, T.; KOYANAGI, T.; HAGA, T. 2007. Flonicamid, a novel insecticide with a rapid inhibitory effect on aphid feeding. **Pest Management Science**, 63: 969-973.
- MARTIN, B.; COLLAR, J.L.; TJALLINGII, W.F.; FERERES, A. 1997. Intracellular ingestion and salivation by aphids may cause the acquisition and inoculation of non-persistently transmitted plant viruses. **Journal of General Virology**, 78: 2701:2705.
- MUTITU, E. K.; GARNAS, J.R.; HURLEY, B.P.; WINGFIELD, M.J.; HARNEY, M.; BUSH, S.J.; SLIPPERS, B. 2013. Biology and Rearing of *Cleruchoides noackae* (Hymenoptera: Mymaridae), an Egg Parasitoid for the Biological Control of *Thaumastocoris peregrinus* (Hemiptera: Thaumastocoridae). **Journal of Economic Entomology**, 106: 1979-1985.

- NADEL, R.L.; SLIPPERS, B.; SCHOLERS, M.C.; LAWSON, S.A.; NOACK, A.E.; WILCKEN, C.F.; BOUVET, J.P.; WINGFIELD, M.J. 2010. DNA bar-coding reveals source and patterns of *Thaumastocoris peregrinus* invasions in South Africa and South America. **Biological Invasions**, 12: 729-733.
- NAUEN, R.; HUNGENBERG, H.; TOLOO, B.; TIETJEN, K.; ELBERT, A. 1998. Antifeedant effect, biological efficacy and high affinity binding of imidacloprid to acetylcholine receptors in *Myzus persicae* and *Myzus nicotianae*. **Pesticide Science**, 53: 133-140.
- NAVARRO, R.; MARCANO, R. 1999. Preferencia de *Trichogramma pretiosum* Riley y *T. atopovirilia* Oatman y Platner por huevos de *Helicoverpa zea* (Boddie) de diferentes edades. **Boletim de Entomologia Venezuelana**, 14: 87-93.
- NISBET, A. J.; WOODFORD, J. A.T.; STRANG, R.H.C.; CONNOLLY, J.D. 1993. Systemic antifeedant effects of azadirachtin on the peachpotato aphid *Myzus persicae*. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, 68: 87-98.
- NOACK, A.E.; COVIELLA, C.E. 2006. *Thaumastocoris australicus* Kirkaldy (Hemiptera: Thaumastocoridae): first Record of this invasive pest of *Eucalyptus* in the Americas. **General Applied Entomology**, 35: 13-14.
- NOACK, A.E.; ROSE, H.A. 2007. The life-history of *Thaumastocoris peregrinus* and *Thaumastocoris* sp. in the laboratory with some observations on behavior. **General Applied Entomology**, 36: 28-34.
- NOACK, A. E.; KAAPRO, J.; BARTIMOTE-AUFFLICK, K.; MANSFIELD, S.; ROSE, H.A. 2009. Efficacy of Imidacloprid in the control of *Thaumastocoris peregrinus* on *Eucalyptus scoparia* in Sydney, Australia. **Arboriculture & Urban Forestry**, 35: 192-196.
- NOACK, A.E.; CASSIS, G.; ROSE, H.A. 2011. Systematic revision of *Thaumastocoris* Kirkaldy (Hemiptera: Heteroptera: Thaumastocoridae). **Zootaxa**, 3121: 1-60.

- OLIVEIRA FILHO, A.M. 1999. A resistência dos insetos aos inseticidas e o controle dos vetores da malária. *In*: MARICONI, F.A.M. (Ed.) **Insetos e outros invasores de residências**. Piracicaba: São Paulo. P. 379-402.
- OMOTO, C. 2004. Princípios e práticas de manejo da resistência de pragas a pesticidas.
- PAINE, T. D.; STEINBAUER, M. J.; LAWSON, S. A. 2011. Native and exotic pests of Eucalyptus: a worldwide perspective. **Annual Review of Entomology**, 56: 181-201.
- PENTEADO, S.R.C.; TRENTINI, R.F.; IEDE, E.T.; REIS FILHO, W. 2000a. Pulgão do Pinus: nova praga florestal. **Série Técnica IPEF**, 13: 97-10.
- PENTEADO, S.R.C.; TRENTINI, R.F.; IEDE, E.T.; REIS FILHO, W. 2000b. Ocorrência, distribuição, danos e controle dos pulgões do gênero *Cinara* em *Pinus* spp. No Brasil. **Revista Floresta**, Curitiba, 30: 55-64.
- PENTEADO, S.R.C.; REIS-FILHO, W.; IEDE, E.T.; GRIGOLETTI-JUNIOR, A.; QUEIROZ, E.C. 2001. Ocorrência de *Verticillium lecanii* em populações de *Cinara pinivora* e *Cinara atlantica*, no Brasil. *In*: VII Simpósio de Controle Biológico, Junho de 2001, Poços de Caldas, MG. Anais do VII Simpósio de Controle Biológico. Universidade Federal de Lavras. p. 324.
- PENTEADO, S.R.C.; IEDE, E. T.; REIS FILHO, W. 2004. Os pulgões-gigantes-do-Pinus, *Cinara pinivora* e *Cinara atlantica*, no Brasil. **Circular técnica 87**, Embrapa Florestas. 10 p.
- PENTEADO, S.R.C. 2007. *Cinara atlantica* (wilson) (Hemiptera, Aphididae): um estudo de biologia e associações. Tese de Doutorado, Curitiba, UFPR, 223p.
- PEREIRA, P.R.V.S.; SALVADORI, J.R.; LAU, D. 2009. Distinção necessária. Pelotas. **Cultivar**, 10p.

- PIERRE, M.; PALMER, C. 2013. The impact of the Nation's most widely used insecticides on birds. **Neonicotinoid Insecticides and Birds**. 98p.
- POTENZA, M.R. 2005. Controle químico do pulgão *takecallis taiwanus* (Takahashi) (Homoptera: Aphididae) em bambu ornamental (*Bambusa gracilis* horti). **Arquivos do Instituto Biológico**, 72 : 495-497.
- QUILLEC, F. L.; DEDRYVER, C.A. 1992. Spread of yellow dwarf virus in winter barley as a function of the development of vector aphid populations - Action of an aphicide applied as seed treatment. **Bayer CropScience**, 45: 231–238.
- REIS FILHO, W.; PENTEADO, S. R. C.; IEDE, E. T. 2004. Controle biológico do pulgão gigante-do-Pinus, *Cinara atlantica* (Hemiptera: Aphididae), pelo parasitóide *Xenostigmus bifasciatus* (Hymenoptera: Braconidae). *Embrapa Florestas*, 122: 3 p.
- RIPPER, W.E.; GREENSLADE, R.M.; HARTLEY, G.S. 1951. Selective insecticides and biological control. **Journal of Economic Entomology**, 44: 448-459.
- ROCHA, L.C.D.; CARVALHO, G.A.; FREITAS, J.A. 2009. toxicidade de produtos fitossanitários utilizados na cultura do crisântemo para ninfas de *Orius insidiosus* (say, 1832) (Hemiptera: Anthocoridae). *Revista agrogeoambiental*, 4: 123-134.
- RODRIGUES, A.P.; BARBOSA, L.R.; BELTRAMIN, F.S.; WILCKEN, C.F.; ZACHÉ, B. 2013. Inovações para criação de *Cleruchoides noackae* (Hymenoptera: Mymaridae). 13º Simpósio de Controle Biológico. Bonito, MS.
- RORTAIS, A.; ARNOLD, G.; HALM, M.P.; TOUFFET-BRIENS, F. 2005. Modes of honeybees exposure to systemic insecticides: estimated amounts of contaminated pollen and nectar consumed by different categories of bees. **Apidologie**, 36: 71–83.
- ROUHANI, M.; SAMIH, M. A.; IZADI, H.; MOHAMMADI, E. 2013. Toxicity of new insecticides against pomegranate aphid, *Aphis punicae*. **Journal of Basic and Applied Scientific Research**, 4: 496-501.

- SADEGHI, A.; VAN DAMME, E.M.; SMAGGHE, G. 2009. Evaluation of the susceptibility of the pea aphid, *Acyrtosiphon pisum*, to a selection of novel biorational insecticides using an artificial diet. **Journal of Insect Science**, 9: 1–8.
- SAGAR, P. 1992. Efficacy of insecticides against the aphid, *Aphis gossypii* Glover on isagbol, *Plantago ovata* Forsk in the Punjab. **Indian Journal of Entomology**, 4: 399- 401.
- SANTA-CECÍLIA, L.V.C.; PRADO, E.; BUENO, V.H.P.; GOUSSAIN, M.M. 2001. Padrão de comportamento alimentar de cochonilha *Planococcus minor* (Hemiptera: Pseudococcidae) em plantas de cafeeiro. In: **II Simpósio brasileiro de pesquisa dos cafés do brasil**. Vitória, ES. P. 2031-2038.
- SANTADINO, M.V.; VIRGALA, M. B. R.; COVIELLA, C.E. 2013. First record of native predators on the invasive species *Thaumastocoris peregrinus* (Hemiptera:Thaumastocoridae) in *Eucalyptus* in Argentina. **Revista de la Sociedad Entomológica Argentina**, 72: 219-222.
- SIMÕES, J.C.; CRUZ, I.; SALGADO, L.O. 1998. Seletividade de inseticidas às diferentes fases de desenvolvimento do predador *Doru luteipes* (Scudder) (Dermaptera: Forficulidae). **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, 2: 289-294.
- SYLVESTER, E.S. 1989. Viruses transmitted by aphids. In: MINKS, A.K.; HARREWIJN, P. (Ed.) **Aphids, Their Biology, Natural Enemies and Control**. Elsevier: Amsterdam. P. 65–87.
- SOLIMAN, E. P.; WILCKEN, C. F.; PEREIRA, J. M.; DIAS, T.K.R.; ZACHE, B.; POGETTO, D.; BARBOSA. L. 2012. Biology of *Thaumastocoris peregrinus* in different *Eucalyptus* species and hybrids. **Phytoparasitica**, 40: 223-230.
- SOPOW, S.; GEORGE, S.; WARD, N. 2012. Bronze bug, *Thaumastocoris peregrinus*: a new *Eucalyptus* pest in New Zealand. **Surveillance**, 39: 43-46.

- SOUZA, G.K.; PIKART, T.; PIKART, F.; SERRAO, J.; WILCKEN, C.; ZANUNCIO, J.C. 2012. First record of a native heteropteran preying on the introduced *Eucalyptus* pest, *Thaumastocoris peregrines* (Hemiptera: *Thaumastocoridae*) in Brazil. **Florida Entomologist**, 95: 517-520.
- SOUZA, L.M.B. 2012. Avaliação da ação inseticida de extratos vegetais, óleos essenciais e substâncias sobre imaturos de *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) (Diptera: Culicidae), em condições de laboratório. Dissertação de Mestrado, Curitiba, UFPR, 263p.
- TEIXEIRA, J. P. 2008. Avaliação dos efeitos tóxicos e genotóxicos do inseticida imidacloprido em *Artemia salina* e *Allium cepa* L. Monografia, Criciúma, UNESC, 51p.
- TJALLINGII, W.F. 1978. Electronic recording of penetration behaviour by aphids. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, 24: 721–730.
- TJALLINGII, W.F. 1988. Electrical recording of stylet penetration activities. In: MINKS, A.K.; HARREWIJN, P. (Ed.) Aphids, their biology, natural enemies and control. Amsterdam: **Elsevier**. P. 95-108.
- TJALLINGII, W.F.; GABRYS, B. 1999. Anomalous stylet punctures of phloem sieve elements by aphids. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, 91: 97–103.
- TJALLINGII, W.F. 2006. Salivary secretions by aphids interacting with proteins of phloem wound responses. **Journal of Experimental Botany**, 57: 739-745.
- TOMIZAWA, M.; CASIDA, J.E. 2005. Neonicotinoid insecticide toxicology: mechanisms of selective action. **Annual Review Pharmacology Toxicology**, 45: 247–268.
- VEIRE, M. VAN DE.; SMAGGHE, G.; DEGHEELE, D. 1996. A laboratory test method to evaluate the effect of 31 pesticides on the predatory bug, *Orius laevigatus* (Heteroptera: Anthocoridae). **Entomophaga**, 41: 235-243.

- TORRES, J.B.; SILVA-TORRES, C.S.A. 2008. Interação entre inseticidas e umidade do solo no controle do pulgão e da mosca-branca em algodoeiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, 8: 949-956.
- URBANSKA, A.; TJALLINGII, W.F.; DIXON, A.F.G.; LESZCZYNSKI, B. 1998. Phenol oxidising enzymes in the grain aphid's saliva. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, 86: 197–203.
- VOEGTLIN, D. 2003. The *Cinara* of North América: host relationships end biology. In: Simpósio sobre *Cinara* spp. Em Pinus. Curitiba.
- WILCKEN, C. F.; SOLIMAN, E. P.; NOGUEIRA DE SÁ, L. A.; BARBOSA, L. R.; DIAS, T. K. R.; FERREIRA FILHO, P. J.; OLIVEIRA, R. J. R. 2010. Bronze bug *Thaumastocoris peregrinus* Carpintero e Dellapé (Hemiptera, Thaumastocoridae) on *Eucalyptus* in Brazil and its distribution. **Journal Research of Plant Protection**, 50: 184-188.
- WILL, T.; TJALLINGII, W.F.; THÖNNESEN, A.; VAN BEL, A.J.E. 2007. Molecular sabotage of plant defense by aphid saliva. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, 104: 10536- 10541.
- WILL, T.; VAN BEL, A.J.E. 2008. Induction as well as suppression. How aphid saliva may exert opposite effects on plant defense. **Plant Signaling & Behavior**, 3: 427–430.

<b>Tabela 1.</b> Padrões de ondas (em horas) observados para o comportamento alimentar de adultos ápteros de <i>Cinara atlantica</i> em mudas de <i>Pinus taeda</i> , registrado com o auxílio do equipamento GIGA 4 – DC na testemunha.....	101
<b>Tabela 2.</b> Parâmetros avaliados para o tratamento com inseticida e duração de ondas (em horas) observados para o comportamento alimentar de adultos ápteros de <i>Cinara atlantica</i> em mudas de <i>Pinus taeda</i> , registrado com o auxílio do equipamento GIGA 4 – DC.....	103

**Tabela 1.** Padrões de ondas (em horas) observados para o comportamento alimentar de adultos ápteros de *Cinara atlantica* em mudas de *Pinus taeda*, registrado com o auxílio do equipamento GIGA 4 – DC na testemunha.

<b>Parâmetros do testemunha</b>	inseto 1	inseto 2	inseto 3	Inseto 4	inseto 5	inseto 6	inseto 7	inseto 8	inseto 9	inseto 10	inseto 11	inseto 12	inseto 13	inseto 14	inseto 15	Média
Nº de np	2	2	2	2	3	2	2	2	1	2	3	2	2	1	1	1,93
Duração total da np	1,54	6,42	5,2	3,42	4,4	10,54	3,42	4,2	5,42	14,42	2,42	1,30	4,54	0,04	0,54	4,74
Duração média da np	4,36	3,3	2,36	0,18	1,4	5,4	1,48	2,42	5,42	7,3	0,54	0,42	2,4	0,04	0,54	2,66
% de tempo de np em relação ao total do registro	7,54	28,1	21,48	1,30	18,3	44,0	15,42	17,42	24,1	61,36	11,4	6,36	20,4	0,1	4,0	18,50
Tempo para a 1ª penetração	1,54	3,1	4,0	0,3	0,3	9,36	1,0	4,2	5,48	8,54	0,04	0,2	2,48	1,0	1,0	2,94
Duração da 1ª penetração	2,3	0,1	4,1	0,36	2,30	2,4	1,36	0,30	0,36	1,3	0,2	1,1	0,36	1,4	1,4	1,38
Nº total de penetrações	10	6	6	5	11	2	5	3	2	1	5	9	11	7	4	5,80
Duração da fase de caminhamento (C)	6,2	4,54	16,36	4,0	9,42	3,42	7,42	8,1	1,54	1,3	16,54	13,36	8,42	6,54	7,2	7,83
% de tempo de C em relação ao total do registro	25,54	20,42	69,4	16,54	40,30	15,36	32,2	33,54	8,1	5,4	70,4	56,42	36,4	29,1	18,1	31,95
Tempo para atingir o floema do início do registro	4,2	7,4	12,42	0,54	2,48	14,42	2,42	4,48	6,4	10,2	0,2	1,4	3,4	1,4	2,3	5,03
Tempo para atingir o floema desde o início da primeira penetração	2,3	4,2	8,36	0,36	2,30	5,0	1,36	0,30	0,36	1,3	0,2	1,1	0,6	9,2	9,2	3,17
Tempo para atingir o floema após a penetração em que atingiu esta fase	2,3	6,1	3,4	0,6	2,5	1,2	1,6	0,5	0,6	1,3	0,2	1,1	0,6	1,4	1,4	1,65
Tempo para a ingestão sustentada no floema, desde o início da primeira penetração	3,0	6,0	13,0	1,9	3,54	5,0	1,36	0,30	1,54	1,3	12,4	2,36	6,54	1,4	1,4	4,19
Tempo para a ingestão sustentada no floema, após início da penetração em que atingiu esta fase	0,2	8,48	4,2	1,2	1,3	1,2	1,36	0,30	1,3	1,3	3,30	1,3	0,30	1,4	1,4	1,99

Tempo entre a primeira fase floemática e a primeira alimentação sustentada no floema	0,42	1,48	4,3	1,3	1,4	0	0	0	1,3	0	12,2	1,4	6,3	0	0	2,05
Número de fases floemáticas	10	4	4	4	10	1	3	3	2	1	4	7	10	6	3	4,80
Nº de np após a 1ª fase floemática	1	0	0	1	2	0	1	1	0	1	2	1	1	0	0	0,73
Duração total da fase floemática	8,3	12,2	2,0	19,30	9,48	9,2	12,30	10,2	16,2	7,48	4,3	8,42	10,3	15,54	15,42	10,84
% de tempo utilizado no floema em relação ao total do registro	34,54	51,0	8,36	81,3	41,0	38,36	52,1	42,48	67,36	32,54	17,54	36,30	43,0	66,4	65,4	45,33
% de insetos que apresentaram fase floemática	100%															
% de insetos que apresentaram fase floemática sustentada	100%															
% de insetos que atingiram o floema na primeira penetração	80%															
% de insetos que a 1ª fase floemática durou mais que 10 minutos (sustentada)	53,3%															

**Tabela 2.** Parâmetros avaliados para o tratamento com inseticida e duração de ondas (em horas) observados para o comportamento alimentar de adultos ápteros de *Cinara atlantica* em mudas de *Pinus taeda*, registrado com o auxílio do equipamento GIGA 4 – DC.

Parâmetros do Tratamento CL <sub>50</sub>	Inseto 1	inseto 2	inseto 3	Inseto 4	inseto 5	inseto 6	inseto 7	inseto 8	inseto 9	inseto 10	inseto 11	inseto 12	inseto 13	inseto 14	inseto 15	Média
Nº de np	14	3	10	3	5	4	2	1	7	4	4	6	1	4	3	4,73
Duração total da np	23,2	22,36	12,0	12,42	20,30	6,42	18,1	20,4	15,48	19,30	19,48	15,30	20,54	17,36	21,36	17,79
Duração média da np	1,36	7,30	1,2	4,2	4,1	1,36	9,0	20,4	2,2	4,48	4,54	2,30	20,54	4,4	7,2	6,43
% de tempo de np em relação ao total do registro	96,48	94,30	50,1	53,1	85,48	28,2	75,48	85,3	66,1	81,4	82,36	64,54	87,0	73,4	90,0	74,33
Tempo para a 1ª penetração	7,54	0,30	1,4	1,0	11,54	5,0	17,54	20,4	21,36	1,4	1,3	3,54	20,54	6,0	1,48	8,19
Duração da 1ª penetração	0,01	0,18	0,54	1,36	1,1	4,3	1,30	2,36	0,4	1,0	1,3	1,1	1,48	0,18	1,1	1,29
Nº total de penetrações	5	4	21	9	2	7	2	2	2	7	3	14	2	3	2	5,67
Duração da fase de caminhamento (C)	0,3	1,2	10,2	10,30	1,48	14,4	2,3	3,2	2,3	1,0	4,1	7,7	3,0	2,0	2,3	4,42
% de tempo de C em relação ao total do registro	1,3	5,3	42,30	44,0	7,48	60,1	9,54	13,30	9,36	4,3	17,3	32,4	12,30	8,36	9,48	18,59
Nº total de pds curtas	8	–	–	–	3	1	–	–	11	–	–	–	–	–	–	1,30
Tempo para a 1ª pd curta	8,4	–	–	–	7,2	14,2	–	–	1,3	–	–	–	–	–	–	2,0
Duração total da pd curta	0,2	–	–	–	1,4	2,4	–	–	5,42	–	–	–	–	–	–	0,36
% de tempo de pds curtas em relação ao total do registro	0,54	–	–	–	6,0	10,1	–	–	23,48	–	–	–	–	–	–	2,42
Nº de onda F	–	–	4	–	–	–	1	–	6	–	–	–	–	1	–	0,48
Duração total da onda F	–	–	0,48	–	–	–	3,3	–	0,01	–	–	–	–	4,2	–	0,30
% de tempo de onda F em relação ao total do registro	–	–	3,4	–	–	–	13,54	–	0,05	–	–	–	–	17,48	–	2,3
Tempo para atingir o floema do início do registro	–	–	3,42	2,42	13,0	9,3	–	23,1	22,0	2,30	–	5,0	22,42	–	–	11,56
Tempo para atingir o floema desde o início da primeira penetração	–	–	1,4	0,1	0,04	0,04	–	0,12	0,05	0,02	–	0,03	0,04	–	–	0,21
Tempo para atingir o floema após a penetração em que atingiu esta fase	–	–	0,42	1,36	1,1	4,3	–	2,36	0,4	1,0	–	1,1	1,48	–	–	1,62
Tempo para a ingestão sustentada no floema, desde o início da primeira	–	–	4,9	3,8	–	–	–	2,6	–	13,1	–	–	–	–	–	6,10

penetração																
Tempo para a ingestão sustentada no floema, após início da penetração em que atingiu esta fase	–	–	0,54	0,24	–	–	–	2,36	–	0,18	–	–	–	–	–	1,05
Tempo entre a primeira fase floemática e a primeira alimentação sustentada no floema	–	–	8,42	0,24	–	–	–	0	–	0,18	–	–	–	–	–	2,35
Número de fases floemáticas	–	–	12	7	1	5	–	1	1	5	–	9	1	–	–	4,67
Nº de np após a 1ª fase floemática	–	–	8	2	2	3	–	–	–	3	–	5	–	–	–	3,83
Duração total da fase floemática	–	–	0,48	0,36	0,04	0,3	–	0,2	0,05	0,4	–	0,36	0,04	–	–	0,34
% de tempo utilizado no floema em relação ao total do registro	–	–	3,30	2,36	0,1	1,3	–	1,1	0,2	1,54	–	2,30	0,2	–	–	1,49
% de insetos que apresentaram fase floemática	60%															
% de insetos que apresentaram fase floemática sustentada	26,6%															
% de insetos que atingiram o floema na primeira penetração	60%															
% de insetos que a 1ª fase floemática durou mais que 10 minutos (sustentada)	6,6%															