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

Seletividade de inseticidas ao parasitoide *Cotesia flavipes* (Hymenoptera: Braconidae): implicações no manejo de *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae)

Thaís Fagundes Matioli

Dissertação apresentada para obtenção do título de
Mestra em Ciências. Área de concentração: Entomologia

Piracicaba
2018

Thaís Fagundes Matioli
Bacharela em Agronomia

Seletividade de inseticidas ao parasitoide *Cotesia flavipes* (Hymenoptera: Braconidae):
implicações no manejo de *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae)

versão revisada de acordo com a resolução CoPGr 6018 de 2011

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

Dissertação apresentada para obtenção do título de
Mestra em Ciências. Área de concentração: Entomologia

Piracicaba
2018

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
DIVISÃO DE BIBLIOTECA- DIBD/ESALQ/USP

Matioli, Thaís Fagundes

Seletividade de Inseticidas ao Parasitoide *Cotesia flavipes* (Hymenoptera: Braconidae): Implicações no Manejo de *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae) / Thaís Fagundes Matioli. - - versão revisada de acordo com a resolução CoPGr 6018 de 2011 - - Piracicaba, 2018.

87 p.

Dissertação (Mestrado) - - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz".

1. Broca-da-cana
 2. Controle biológico
 3. Efeito letal e subletal
 4. Persistência
 5. Toxicidade
- I. Título

A Deus pelo dom da vida e por guiar meus passos, e à
Nossa Senhora Aparecida por segurar minha mão tantas
vezes,

AGRADEÇO.

Aos meus pais, Romeu e Dorinha, pelo amor, por acreditarem nos meus sonhos e vibrarem à
cada conquista. Aos meus irmãos, Neander e Leonardo, pela amizade e pelos incentivos
constantes,

OFEREÇO e DEDICO.

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Pedro Takao Yamamoto pela orientação, amizade, ensinamentos, paciência e confiança para que eu pudesse realizar o trabalho e crescer profissionalmente.

À Universidade de São Paulo - Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” e ao Departamento de Entomologia e Acarologia pela oportunidade em realizar o curso de mestrado.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de estudos e pesquisa.

Ao Prof. Dr. José Roberto Postali Parra por permitir o uso do Laboratório de Biologia de Insetos para criação dos insetos e uso equipamentos necessários para diversas análises.

A todos os funcionários do Departamento de Entomologia e Acarologia e aos professores do Programa de Pós-Graduação em Entomologia da Esalq/USP pelos ensinamentos e conhecimentos transmitidos.

A todos os colegas e amigos da Pós-Graduação em Entomologia da Esalq/USP pelo convívio durante o curso e ajuda mútua ao compartilharem os conhecimentos.

À técnica de laboratório Neide Graciano Zério, e à Mariana Graciano Zério por serem tão prestativas e ajudarem na manutenção das criações dos insetos.

Aos colegas Letícia, Lucas, Monique e Rodrigo por ajudarem na condução dos experimentos, bem como amizade e momentos de descontração.

Aos colegas do Laboratório de Manejo Integrado de Pragas Ana Clara, Camila, Cynthia, Diosef, Fernando, Gabriel, Gustavo, Inana, Jéssica, Stela e Vítor, por compartilharem seus conhecimentos, pelo convívio, amizade e pelas alegres pausas para o café.

Ao Gustavo Thomas pelo auxílio nas análises estatísticas.

A todos os meus familiares que estiveram sempre ao meu lado apoiando e torcendo pela minha trajetória.

A todos os amigos de Lavras, em especial Carolina, Fernanda, Juliana, Thatiane e Virgínia pela amizade de sempre, por estarem ao meu lado e pela torcida.

Às amigas e colegas de apartamento Amanda, Gabriela, Jéssica e Marie pelos conselhos, momentos de descontração, amizade e pela ótima convivência.

Aos amigos do intercâmbio, em especial Aline, Ana Flávia, Camila, Guilherme, Hugo, Jackeline, Roberto e Willson pela amizade e convivência em Piracicaba.

A todos os amigos que fiz em Piracicaba nesse período e que fizeram que a caminhada ficasse mais leve.

A todos que contribuíram, direta ou indiretamente, para que este trabalho fosse concluído, agradeço cordialmente.

SUMÁRIO

RESUMO	8
ABSTRACT.....	9
1. INTRODUÇÃO.....	11
REFERÊNCIAS.....	13
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	15
2.1. ASPECTOS BIOLÓGICOS DA BROCA DA CANA-DE-AÇÚCAR <i>DIATRAEA SACCHARALIS</i>	15
2.2. CONTROLE BIOLÓGICO DE <i>D. SACCHARALIS</i> POR PREDADORES E PARASITOIDES	16
2.2.1. <i>Uso de C. flavipes no controle biológico clássico de D. saccharalis</i>	17
2.3. ASPECTOS BIOLÓGICOS DO PARASITOIDE <i>C. FLAVIPES</i>	18
2.4. SELETIVIDADE DE INSETICIDAS	19
2.4.1. <i>Seletividade para espécies do gênero Cotesia</i>	20
2.5. INSETICIDAS UTILIZADOS NOS BIOENSAIOS	22
REFERÊNCIAS.....	24
3. EFEITO LETAL DE INSETICIDAS UTILIZADOS PARA CONTROLE DE <i>Diatraea saccharalis</i> (LEPIDOPTERA: CRAMBIDAE) AO PARASITOIDE LARVAL <i>Cotesia flavipes</i> (HYMENOPTERA: BRACONIDAE).....	33
RESUMO	33
ABSTRACT.....	34
3.1. INTRODUÇÃO	34
3.2. MATERIAL E MÉTODOS	35
3.2.1. <i>Local e condições ambientais</i>	35
3.2.2. <i>Criação e manutenção de D. saccharalis</i>	36
3.2.3. <i>Criação e manutenção de C. flavipes</i>	36
3.2.4. <i>Inseticidas avaliados</i>	37
3.2.5. <i>Efeito letal</i>	38
3.2.5.1. <i>Efeito em fêmeas do parasitoide</i>	38
3.2.5.2. <i>Efeito em machos e fêmeas de C. flavipes</i>	39
3.2.5.3. <i>Efeito letal em fêmeas de C. flavipes após parasitismo de lagartas de D. saccharalis</i>	39
3.2.5.4. <i>Efeito letal de inseticidas com ingredientes ativos (i.a.) separados</i>	39
3.2.5.5. <i>Classificação dos inseticidas segundo escala de toxicidade estabelecida pela IOBC/WPRS</i>	40
3.2.6. <i>Análises estatísticas</i>	40
3.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	41
3.4. CONCLUSÃO	46
REFERÊNCIAS.....	47
4. EFEITOS SUBLETAIS DE INSETICIDAS USADOS PARA CONTROLE DA BROCA-DA-CANA <i>Diatraea saccharalis</i> (LEPIDOPTERA: CRAMBIDAE) NO PARASITOIDE <i>Cotesia flavipes</i> (HYMENOPTERA: BRACONIDAE).....	51
RESUMO	51
ABSTRACT.....	52
4.1. INTRODUÇÃO	52
4.2. MATERIAL E MÉTODOS	54
4.2.1. <i>Local e condições ambientais</i>	54
4.2.2. <i>Criação e manutenção de D. saccharalis</i>	54
4.2.3. <i>Criação e manutenção de C. flavipes</i>	54

4.2.4. Inseticidas avaliados	54
4.2.5. Efeito subletal de inseticidas em <i>C. flavipes</i>	55
4.2.6. Análises estatísticas.....	57
4.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	57
4.4. CONCLUSÃO	63
REFERÊNCIAS	64
5. PERSISTÊNCIA DOS RESÍDUOS DOS INSETICIDAS USADOS PARA CONTROLE DE <i>Diatraea saccharalis</i> (LEPIDOPTERA: CRAMBIDAE) SOBRE O PARASITOIDE <i>Cotesia flavipes</i> (HYMENOPTERA: BRACONIDAE)	69
RESUMO.....	69
ABSTRACT	70
5.1. INTRODUÇÃO	71
5.2. MATERIAL E MÉTODOS.....	72
5.2.1. Local e condições ambientais.....	72
5.2.2. Criação e manutenção de <i>D. saccharalis</i>	72
5.2.3. Criação e manutenção de <i>C. flavipes</i>	72
5.2.4. Inseticidas avaliados	72
5.2.5. Teste de persistência de inseticidas ao parasitoide <i>C. flavipes</i>	73
5.2.6. Classificação dos inseticidas segundo escala de toxicidade estabelecida pela IOBC/WPRS	74
5.2.7. Análises estatísticas.....	75
5.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	75
5.3.1. Efeito letal	75
5.3.2. Efeito subletal.....	78
5.4. CONCLUSÃO	82
REFERÊNCIAS	83
6. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	87

RESUMO

**Seletividade de inseticidas ao parasitoide *Cotesia flavipes* (Hymenoptera: Braconidae):
implicações no manejo de *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae)**

Diatraea saccharalis (Fabricius) é a principal praga da cultura da cana-de-açúcar, causando danos diretos e indiretos, e seu controle é, em grande parte, realizado por liberações massais do endoparasitoide *Cotesia flavipes* (Cameron). Entretanto, o uso de inseticidas sintéticos por meio de aplicações foliares para controle da praga antes de sua entrada no colmo tem sido intensificado no Brasil. Nesse contexto, objetivou-se com o presente estudo, avaliar a toxicidade e a persistência dos principais inseticidas utilizados na cultura para controle de *D. saccharalis* pelo contato residual em folhas tratadas nas maiores concentrações de campo, conforme classificação da IOBC/WPRS. Os tratamentos foram clorantraniliprole (Altacor® 350 WG), lambda-cialotrina + clorantraniliprole (Ampligo® 150 SC), clorfluazuron (Atabron® 50 EC), triflumuron (Certero® 480 SC), lambda-cialotrina + tiametoxam (Engeo™ Pleno), tebufenozide (Mimic® 240 SC), novaluron (Rimon® 100 EC) e controle (água destilada). Em laboratório, discos da folha de cana-de-açúcar foram colocados em placas de Petri contendo uma solução composta por [água:ágar] e pulverizadas em torre de Potter, conforme recomendações da IOBC/WPRS. Após 2 h da aplicação, adultos de *C. flavipes* foram anestesiados com CO₂ por 10 segundos e introduzidos em cada placa. Para avaliação da persistência, plantas de cana-de-açúcar foram pulverizadas com os tratamentos até o ponto de escoamento em casa de vegetação. Aos 5, 15 e 30 dias após aplicação (DAA) foram coletadas as folhas e discos das folhas foram colocados em placas de Petri contendo uma solução composta por [água:ágar]. Para cada dia de avaliação, adultos de *C. flavipes* foram anestesiados com CO₂ por 10 segundos e introduzidos em cada placa contendo os tratamentos. Tanto para o experimento em laboratório como para o de persistência, avaliaram-se os efeitos letal (após 24 h) e subletais da geração maternal e subletais das gerações F₁ e F₂. As placas foram acondicionadas em sala climatizada com temperatura de 25 ± 2 °C, UR 70 ± 10% e fotofase de 14 horas. Após avaliação da toxicidade aguda, os inseticidas Altacor® 350 WG, Atabron® 50 EC, Certero® 480 SC, Mimic® 240 SC e Rimon® 100 EC foram classificados como inócuos (classe 1) e vida curta (classe 1). Entretanto, Altacor®, Atabron®, Certero® e Rimon® causaram redução no tamanho da tibia posterior de fêmeas da geração F₁, Rimon® reduziu a razão sexual e Atabron® reduziu o peso das massas de casulos da geração F₂. Os tratamentos Ampligo® e Engeo™ Pleno causaram 100% de mortalidade após 2 h da aplicação, sendo classificados como nocivos (classe 4) e em bioensaio de semi-campo como persistentes (classe 4). Portanto, apenas Mimic® pode ser recomendado para controle de *D. saccharalis* em associação com o controle biológico com liberações de *C. flavipes*. Os inseticidas enquadrados nas classes 4, nocivos ao parasitoide, devem ser estudados em testes de campo para confirmação da toxicidade.

Palavras-chave: Broca-da-cana; Controle biológico; Efeito letal e subletal; Persistência; Toxicidade

ABSTRACT

Selectivity of insecticides to the parasitoid *Cotesia flavipes* (Hymenoptera: Braconidae): implications on the management of *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae)

Diatraea saccharalis (Fabricius) is the main pest of the sugarcane crop, causing direct and indirect damage, and its control is largely accomplished by mass releases of the endoparasitoid *Cotesia flavipes* (Cameron). However, the use of synthetic insecticides through foliar applications to control the pest before its entry into the stem has been intensified in Brazil. In this context, the objective of this study was to evaluate the toxicity and persistence of the main insecticides used in the crop for the control of *D. saccharalis* by the residual contact of treated leaves at the highest field concentrations, according to the IOBC / WPRS classification. The treatments were chlorantraniliprole (Altacor® 350 WG), lambda-cyhalothrin + chlorantraniliprole (Ampligo® 150 SC), chlorfluazuron (Atabron® 50 EC), triflumuron (Certero® 480 SC), lambda-cyhalothrin + thiamethoxam (Engeo™ Pleno), tebufenozide (Mimic® 240 SC), novaluron (Rimon® 100 EC) and control (distilled water). In the laboratory, sugar cane leaf discs were placed in Petri dishes containing a solution composed of water: agar and pulverized in a Potter tower, according to IOBC/WPRS recommendations. After 2 h of application, adults of *C. flavipes* were anesthetized with CO₂ for 10 seconds and introduced into each plate containing the treatments. To evaluate the persistence, sugarcane plants were sprayed with the treatments to the point of runoff under greenhouse conditions. At 5, 15 and 30 days after application (DAA) the leaves were collected and discs were made which were placed in Petri dishes containing a solution composed of water: agar. For each day of evaluation, *C. flavipes* adults were anesthetized with CO₂ for 10 seconds and introduced into each plate containing the treatments. For both the laboratory and persistence experiments, the lethal (after 24 h) and sublethal effects of the maternal and sublethal generation of the F₁ and F₂ generations were evaluated in a completely randomized design. The plates were conditioned in an air conditioned room with temperature of 25 ± 2 °C, RH $70 \pm 10\%$ and photophase of 14 hours. Insecticides chlorantraniliprole, chlorfluazuron, triflumuron, tebufenozide and novaluron were classified as harmless (class 1) and short-lived (class 1). However, chlorantraniliprole, chlorfluazuron, triflumuron and novaluron caused reduction in the posterior tibia size of females of F₁ generation; tebufenozide reduced the sex ratio and chlorfluazuron reduce the weight of parasitoid pupa of the F₂ generation. The treatments lambda-cyhalothrin + chlorantraniliprole and lambda-cyhalothrin + thiamethoxam caused 100% of mortality after 2 h of the application, being classified as noxious (class 4) and semi-field bioassay as persistent (class 4). Therefore, only tebufenozide can be recommended for control of *D. saccharalis* in association with biological control with releases of *C. flavipes*. The insecticides classified as classes 4 are not selective to the parasitoid and field tests should be performed to confirm toxicity.

Keywords: Sugarcane borer; Biological control; Lethal and sublethal effect; Persistence; Toxicity

1. INTRODUÇÃO

O Brasil é um dos maiores produtores de cana-de-açúcar (*Saccharum officinarum* L.), cultivando cerca de 9 milhões de hectares nas regiões centro-sul e norte-nordeste (FAO, 2016). A produção da safra 2016/17 foi de 691 milhões de toneladas com crescimento de 3,8% em relação à safra 2015/16. A cultura é uma das que mais contribuem para a economia brasileira com grande demanda de produtos, como açúcar, álcool etílico e biomassa (CONAB, 2016).

Sendo uma cultura bianual, com mais de 12 meses de duração e cultivada em escala comercial em extensas áreas (LIU et al., 2016), a cana-de-açúcar possui limitações as quais oferecem condições para abrigar diferentes insetos-praga. Diversas espécies atacam a cultura, entretanto, a broca da cana-de-açúcar *Diatraea saccharalis* (Fabricius) (Lepidoptera: Crambidae) destaca-se por ser um dos principais fatores adversos ao desenvolvimento do canavial. Nos dois primeiros ínstaes, a lagarta se alimenta das folhas e, posteriormente, forma galerias nos colmos, o que impede o fluxo de seiva e pode levar à quebra das plantas pela ação do vento, prejudicando diretamente a produção. De forma indireta, as plantas podem ser contaminadas por fungos fitopatogênicos (*Colletotrichum falcatum* e *Fusarium moniliforme*) que causam podridão vermelha do colmo, diminuindo a pureza do caldo pela inversão da sacarose (MACEDO; BOTELHO, 1988).

No Brasil, o controle de *D. saccharalis* tem sido realizado por meio do método biológico, desde a implementação do endoparasitoide exótico *Cotesia flavipes* (Cameron) (Hymenoptera: Braconidae), na década de 70, visando interromper o crescimento populacional da praga (MACEDO; ARAÚJO; BOTELHO, 1993; MÓLNAR et al., 2016). As fêmeas deste parasitoide tem a capacidade de encontrar as lagartas da broca dentro dos colmos, utilizando as antenas para localizar estímulos olfativos (SÉTAMOU et al., 2002). E, embora o controle desta praga por produtos químicos seja limitado devido ao hábito de desenvolvimento da lagarta, alguns inseticidas são registrados para o controle de *D. saccharalis* em sua fase inicial. Os produtos utilizados possuem ingredientes ativos de grupos químicos distintos, como diamidas, “reguladores de crescimento de insetos”, piretroides e neonicotinoides (MAPA, 2016).

Em levantamento realizado no ano de 2015, os produtos fitossanitários utilizados para a cultura da cana-de-açúcar representaram 10% do total de defensivos comercializados para uso na agricultura brasileira (SINDVEG, 2015). E com a intensificação do uso de inseticidas, pouco se sabe dos possíveis efeitos nos inimigos naturais, principalmente, no parasitoide *C. flavipes*.

Para associação das táticas implementadas pelo manejo integrado de pragas (MIP), faz-se necessário o conhecimento da seletividade dos produtos fitossanitários aos artrópodes

benéficos para integração do controle biológico ao químico (DESNEUX; DECOURTYE; DELPUECH, 2007). A seletividade pode ser fisiológica, a qual está relacionada com as características físico-químicas dos produtos, e ou ecológica, com base nas diferenças no tempo e espaço entre praga e inimigo natural (RIPPER; GREENSLADE; HARTLEY, 1951).

Os inseticidas do grupo químico das diamidas (agem nos receptores de rianodina (RyR) musculares), benzoilureias (inibidores da formação de quitina) e diacilhidrazinas (agonistas dos receptores de ecdisteroides) causam baixo efeito letal aos insetos benéficos comparados aos piretroides (moduladores dos canais de sódio) e neonicotinoides (agonistas de receptores nicotínicos de acetilcolina) (GONTIJO et al., 2014; MARTINOU; SERAPHIDES; STAVRINDES, 2014; BELOTI et al., 2015). Entretanto, mesmo quando não provocam morte, existe a possibilidade de causarem efeitos subletais como problemas de comportamento, redução de predação/parasitismo, repelência, malformação das gerações subsequentes, redução da longevidade e podem afetar a reprodução (WRIGHT; VERKERK, 1995; DESNEUX; DECOURTYE; DELPUECH, 2007).

Para o gênero *Cotesia*, existem estudos que foram realizados por meio de aplicações tópicas de subdoses de inseticidas nos hospedeiros, sendo possível avaliar possíveis efeitos no parasitoide pela exposição à hemocel contaminada (MUZEYI; JEMBERE, 2005; LIN; WU; MIYATA, 2007; FONSECA et al., 2015). Porém, é possível que os produtos causem efeitos nos parasitoides por contato residual, após aplicação foliar, e pesquisas para este parâmetro são escassas. Além disso, pouco são os estudos que abordam os efeitos subletais, tais como interferência no parasitismo, malformação, na longevidade e reprodução.

Para uma melhor associação entre o uso de produtos químicos e controle biológico para a broca-da-cana, é importante determinar a seletividade de inseticidas ao parasitoide *C. flavipes*, possibilitando assim, a utilização de diferentes táticas em programas de MIP em cana-de-açúcar e a conservação do inimigo natural presente na cultura.

REFERÊNCIAS

- BELOTI, V. H. ALVES, G. R.; ARAÚJO, D. F. D.; PICOLI, M. M.; DE ANDRADE MORAL, R.; DEMÉTRIO, C. G. B.; YAMAMOTO, P. T. Lethal and sublethal effects of insecticides used on citrus, on the ectoparasitoid *Tamarixia radiata*. **PloS ONE**, v. 10, n. 7, p. e0132128, 2015.
- CONAB. **Companhia Nacional de Abastecimento**. 2016. Disponível em: http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/16_04_18_14_27_15_boletim_cana_portugues_-_1o_lev_-_16.pdf. Acessado em 02 de junho de 2017.
- DESNEUX, N.; DECOURTYE, A.; DELPUECH, J. M. The sublethal effects of pesticides on beneficial arthropods. **Annual Review of Entomology**, v. 52, p. 81-106, 2007.
- FAO, **Food and Agriculture Organization of the United Nations**. 2016. Disponível em: <http://faostat3.fao.org/browse/Q/QC/E>. Acessado em 16 de junho de 2017.
- FONSECA, A. P. P.; MARQUES, E. J.; TORRES, J. B.; SILVA, L. M.; SIQUEIRA, H. I. A. Lethal and sublethal effects of lufenuron on sugarcane borer *Diatraea flavipennella* and its parasitoid *Cotesia flavipes*. **Ecotoxicology**, v. 24, n. 9, p. 1869- 1879, 2015.
- GONTIJO, P. C.; MOSCARDINI, V. F.; MICHAUD, J. P.; CARVALHO, G. A. Non-target effects of chlorantraniliprole and thiamethoxam on *Chrysoperla carnea* when employed as sunflower seed treatments. **Journal of pest science**, v. 87, n. 4, p. 711-719, 2014.
- LIN, Y. W.; WU, G.; MIYATA, T. Insecticide susceptibility of surviving *Cotesia plutellae* (Hym: Braconidae) and *Diaeretiella rapae* (M'Intosh) (Hym: Aphidiidae) as affected by sublethal insecticide dosages on host insects. **Pest Management Science**, v. 63, n. 9, p. 841-850, 2007.
- LIU, J. et al. Growth and yield of sugarcane genotypes are strongly correlated across irrigated and rainfed environments. **Field Crops Research**, v. 196, p. 418-425, 2016.
- MACEDO, N.; BOTELHO, P. S. M. Controle integrado da broca da cana-de-açúcar, *Diatraea saccharalis* (Fabr., 1794) (Lepidoptera: Pyralidae). **Brasil Açucareiro**, v. 106, n. 2, p. 2-14. 1988.
- MACEDO, N.; ARAUJO, J. R.; BOTELHO, P. S. M. Sixteen years of biological control of *Diatraea saccharalis* (Fabr.) (Lepidoptera: Pyralidae) by *Cotesia flavipes* (Cam.) (Hymenoptera: Braconidae), in the states of São Paulo, Brazil. *Anais da Sociedade Entomológica do Brasil* 22:441–448, 1993.
- MAPA. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. 2016. **Agrofit: Sistema de Agrotóxicos Fitossanitários**. Disponível em:

http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons. Acessado em 02 de julho de 2016.

- MARTINO, A. F.; SERAPHIDES, N.; STAVRINDES, M. C. Lethal and behavioral effects of pesticides on the insect predator *Macrolophus pygmaeus*. **Chemosphere**, v. 96, p. 167-173, 2014.
- MÓLNAR, S.; LÓPEZ, I.; GÁMEZ, M.; GARAY, J. A two-agent model applied to the biological control of the sugarcaneborer (*Diatraea saccharalis*) by the egg parasitoid *Trichogramma galloi* and the larvae parasitoid *Cotesia flavipes*. **BioSystems**, v. 141, p. 45–54. 2016.
- MUZEYI, S. S.; JEMBERE, B. Effects of botanicals, a synthetic insecticide and an insect growth regulator on survival and development of the parasitoid wasp *Cotesia flavipes* parasitising the stem-boring moth *Chilo partellus*. **International Journal of Pest Management**, v. 51, n. 1, p. 25-30, 2005.
- RIPPER, W. E., GREENSLADE, R. M.; HARTLEY, G. S. Selective insecticides and biological control. **Journal of Economic Entomology**, v. 44, n. 4, p. 448-459, 1951.
- SÉTAMOU, M.; BERNAL, J. S.; LEGASPI, J. C.; MIRKOV, T. E. Parasitism and location of sugarcane borer (Lepidoptera: Pyralidae) by *Cotesia flavipes* (Hymenoptera: Braconidae) on transgenic and conventional sugarcane. **Environmental Entomology**, v. 31, n. 6, p. 1219-1225, 2002.
- SINDIVEG. Sindicato Nacional da Indústria de Produtos para Defesa Vegetal. **Balanco 2015**, 2015.
- WRIGHT, D. J.; VERKERK, R. H. J. Integration of chemical and biological control systems for arthropods: evaluation in a multitrophic context. **Pesticide Science**, v. 44, p. 207-218, 1995.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. Aspectos biológicos da broca da cana-de-açúcar *Diatraea saccharalis*

Em todo continente americano foram descritas cerca de 21 espécies do gênero *Diatraea*, sendo duas delas as principais causadoras de danos econômicos na cultura da cana-de-açúcar: *Diatraea saccharalis* (Fabricius) e *D. flavipennella* (Box) (Lepidoptera: Crambidae). No Brasil, *D. saccharalis* encontra-se distribuída por toda a área territorial, enquanto *D. flavipennella* pode ser encontrada nos estados de Minas Gerais e Rio de Janeiro, tendo maior importância econômica em canaviais da região Nordeste do país. Apesar da área de distribuição natural da broca-da-cana, *D. saccharalis*, ser incerta, há relatos de que esta espécie tem como origem as Américas Central e do Sul, sendo encontrada em grande parte da América do Sul, América Central, Caribe e sul dos Estados Unidos (DYAR; HEINRICH, 1927; MENDONÇA, 1996; CORTÉS et al., 2010).

A broca *D. saccharalis* é um inseto holometabólico. As fêmeas realizam as posturas nas faces abaxial e adaxial das folhas, formando uma massa de ovos depositados de forma imbricada, com aproximadamente 12 ovos, podendo haver variação. Essa fase possui duração de 1-2 semanas. Os ovos são lisos e de formato oval, inicialmente, de coloração amarelo-pálida, passando a rósea e, por fim, marrom-escuro, quando as lagartas eclodem. Ao eclodir, as lagartas permanecem por um pequeno período nas folhas, se alimentando do parênquima foliar, onde passam por uma ou duas ecdises. Posteriormente, migram para o colmo da cana perfurando-o, onde todo o restante da fase larval acontece, ocorrendo mais quatro ecdises, completando um total de seis a sete ínstares, de acordo com temperatura e umidade (LIMA FILHO; LIMA, 2001; BOTELHO; MACEDO, 2002).

Morfologicamente, as lagartas são eruciformes, forma característica da ordem Lepidoptera, apresentando coloração branco-leitosa, com pontuações pelo dorso e cápsula cefálica marrom-escura. Além das pernas torácicas, possuem quatro pares de falsas pernas abdominais e um par de falsas pernas anais. Próximo ao estágio pupal, a lagarta, medindo cerca de 25 mm, abre um orifício no colmo da cana-de-açúcar e fecha-o parcialmente com fios de seda para sua proteção. A pupa apresenta forma livre, alongada e fina, possui, inicialmente coloração marrom-claro e próximo à emergência do adulto, esta se torna marrom-escuro. Esta fase tem duração de aproximadamente 10 dias (BOTELHO; MACEDO, 2002).

O adulto da broca-da-cana é uma mariposa de coloração amarelo-palha com manchas escuras nas asas anteriores, sendo as asas posteriores brancas. A fêmea é, geralmente, maior

que o macho e apresenta abdome volumoso e asas de coloração menos pigmentada; já o macho possui uma concentração de cerdas no último par de pernas. Sua longevidade é, em média, de cinco dias. Os adultos possuem hábitos noturnos e a cópula ocorre após o por-do-sol, quando a fêmea atrai o macho através da liberação de feromônios - substâncias químicas voláteis liberadas por glândulas exócrinas presentes no abdome. Pela manhã, ocorre a oviposição de cerca de 300 ovos por fêmea (WALKER, 1965; PEREZ; LONG, 1964; KING; BREWER, MARTIN, 1975; MENDONÇA, 1996).

Esta praga possui de três a cinco gerações por ano, mas sua maior incidência ocorre durante as estações mais quentes, primavera e verão. Em plantas jovens não há grande frequência e os ataques aumentam consideravelmente quando a cana-de-açúcar está mais desenvolvida, tornando o caule mais infestado do que as soqueiras (MÉLO; PARRA, 1988; FREITAS et al., 2004; DINARDO-MIRANDA; VASCONCELOS; LANDELL, 2011).

2.2. Controle biológico de *D. saccharalis* por predadores e parasitoides

Nos canaviais brasileiros existe uma grande diversidade de inimigos naturais para broca da cana-de-açúcar (GRAVENA; SANGUINO; BARA, 1980). Dentre os predadores, podem-se destacar os crisopídeos (Neuroptera: Chrysopidae), coccinelídeos das espécies *Coleomegilla maculata* (DeGeer) e *Cycloneda sanguinea* (L.) (Coleoptera: Coccinellidae), formigas do gênero *Solenopsis* e a tesourinha *Doru lineare* Eschso (Dermaptera: Forficulidae) (DEGASPARI et al., 1987). Rossi e Fowler (2004) destacaram ainda a presença dos gêneros *Pheidole*, *Crematogaster* e *Dorymyrmex*, formigas predadoras de ovos.

No estado de Minas Gerais, parasitoides do gênero *Trichogramma* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) foram encontradas naturalmente parasitando ovos. As espécies identificadas foram *Trichogramma pretiosum* Riley; *T. manicobai* Brun, Moraes & Soares; *T. marandobai* Brun, Moraes & Soares; e *T. galloi* Zucchi (SOUZA et al., 2016). Já no Mato Grosso do Sul, Vargas et al. (2011) verificaram o parasitismo de lagartas e pupas de *D. saccharalis* pela *Tetrastichus howardi* (Olliff) (Hymenoptera: Eulophidae).

Dentre as espécies de insetos parasitoides, os microhimenópteros *Cotesia flavipes* (Cameron) (Hymenoptera: Braconidae), parasitoide de lagartas, e *T. galloi*, são os mais efetivos para o controle desta praga (MOHYUDDIN, 1971; ZUCCHI; MONTEIRO, 1997). Botelho et al. (1999) e Mólnar et al. (2016) relataram que um sistema equilibrado ecologicamente pode ser obtido com a interação complementar entre *T. galloi* e *C. flavipes*. Essa interação resulta em um biocontrole eficaz da broca-da-cana e prevenção de sérios danos econômicos, em termos de

qualidade e quantidade de safra. Segundo os autores, a redução na infestação desta praga chegou a 60% quando estes dois parasitoides foram liberados de forma associada.

2.2.1. Uso de *C. flavipes* no controle biológico clássico de *D. saccharalis*

Na década de 70, *C. flavipes*, proveniente de Trinidad, foi introduzida no Brasil, no estado de Alagoas, dando início ao Programa Nacional de Controle Biológico de *Diatraea* spp. pelo Instituto do Açúcar e do Alcool IAA/Planalsucar. Posteriormente, com a alta incidência da broca-da-cana, foi implementado o uso deste parasitoide por outros estados (MENDONÇA FILHO; RISCO; COSTA, 1977).

No estado de São Paulo, região com maior produção de cana-de-açúcar, linhagens de *C. flavipes* advindas do nordeste brasileiro foram introduzidas em 1975 pelo IAA/Planalsucar e, alguns anos depois, iniciou-se a utilização de tecnologia para produção em laboratório, com introdução de linhagens provenientes da Índia e Paquistão (MACEDO, 1978). O uso dessas novas linhagens resultou em cerca de 76,64% de parasitismo de larvas da broca-da-cana, constatando a eficiência esperada para o controle desta praga. Isto motivou a criação massal deste parasitoide para utilização em liberações inundativas em campo (BOTELHO, 1992). Com as liberações em campo, as infestações da praga apresentaram um decréscimo de 10 para 2%, sendo considerado o maior programa de controle biológico do mundo, com uma economia de cerca de 80 milhões de dólares no setor (VILELA et al., 1998).

O sucesso do programa deve-se principalmente pela alta capacidade de fêmeas do parasitoide em encontrar as lagartas de *D. saccharalis* no interior dos colmos da cana-de-açúcar. A localização é realizada por meio da percepção de uma substância hidrossolúvel presente nas fezes das lagartas que é captada pelas antenas do parasitoide (SILVA et al., 2012). Após localização, cada fêmea de *C. flavipes* pode ovipositar aproximadamente 60 ovos por lagarta (FREITAS et al., 2004). Segundo Campos-Farinha et al. (2000), as fêmeas utilizam um marcador químico, que pode persistir por até 24 horas, sobre ou dentro de seu hospedeiro. Os dados obtidos por estes autores demonstraram que isso ocorre ao fazerem um pequeno orifício no tegumento da lagarta para oviposição, provocando extrusão da hemolinfa e, desta maneira, indicando o parasitismo a outras fêmeas que estejam à procura do hospedeiro.

Em campo, o número de *C. flavipes* liberado para que o controle biológico seja eficaz é estimado de acordo com o nível de infestação de *D. saccharalis* na cultura. Sugere-se que a amostragem de lagartas no interior dos colmos seja realizada em seis pontos por hectare, a fim de estimar as populações de formas imaturas da praga. O sucesso do parasitismo está

diretamente ligado à dispersão do parasitoide no campo e, estudando este parâmetro, autores relataram que *C. flavipes* tem a capacidade de percorrer em um raio de até 15 metros do ponto de liberação. Assim, a recomendação é liberar cerca de 12.000 insetos (machos e fêmeas) por hectare, em aproximadamente nove pontos, quando a porcentagem da praga é superior à 3% (DINARDO-MIRANDA; FRACASSO; PERECIN, 2011; DINARDO-MIRANDA et al., 2014).

2.3. Aspectos biológicos do parasitoide *C. flavipes*

O endoparasitoide larval de brocas de gramíneas *C. flavipes* é originário da região Indo-Australiana, sendo que seu principal hospedeiro nesta localidade é a espécie *Chilo partellus* (Swinhoe) (Lepidoptera: Crambidae) e outras brocas da Ásia e da Austrália (OVERHOLT et al., 1997). Seu ciclo de vida é de aproximadamente 20 dias, dependendo das condições de temperatura e umidade (EMANA, 2007). As fêmeas encontram seus hospedeiros e, em seguida, ovipositam ovos múltiplos na hemocela da lagarta, por esse motivo considerado um endoparasitoide gregário. Os ovos possuem cerca de 0,09 mm de comprimento e formato arredondado (BOTELHO; MACEDO, 2002).

Após o período embrionário de aproximadamente quatro dias, as larvas eclodem e permanecem no interior da lagarta alimentando-se da hemocela. O período larval tem duração de 12 dias, onde ocorrem três ínstar, sendo que no primeiro ínstar as larvas apresentam espinhos situados na placa dorsal do segmento abdominal (PINHEIRO; ROSSI; CÔNSOLI, 2010).

Posteriormente, as larvas, de coloração branco-leitosa, perfuram o tegumento e pupam exteriormente ao corpo do hospedeiro. Protegidas por fios de seda, formam uma massa branca de forma agrupada e, após cinco dias, os adultos emergem. O adulto é de coloração preta e mede aproximadamente 4 mm, com asas brancas hialinas. O dimorfismo sexual é observado pela morfologia das antenas, dado que as fêmeas possuem antenas menores que os machos (WIEDENMANN; SMITH; DARNELL, 1992). Se reproduzem de forma sexuada ou por partenogênese, no qual as fêmeas são oriundas de ovos fertilizados e os machos são produzidos por partenogênese arrenótoca e, portanto, são haplodiploides (COOK, 1993; van WILGENBURG; DRIESSEN; BEUKEBOOM, 2006).

As condições ambientais favoráveis para o desenvolvimento de *C. flavipes* estão entre as temperaturas de 20 e 30 °C e umidade relativa de 40 a 90% (PÁDUA; PARRA; HADDAD,

1994). Porém, com umidade relativa em torno de 80 a 90% as taxas de fecundidade e a longevidade são mais altas (EMANA, 2007).

2.4. Seletividade de inseticidas

O manejo integrado de pragas (MIP) é um conjunto de estratégias empregadas para o controle de insetos-praga, com a finalidade de manter suas populações abaixo do nível de dano econômico. Para isso, são utilizadas diferentes táticas como o controle biológico, por meio do uso de predadores e parasitoides; o controle químico, com o uso de produtos fitossanitários; controle com armadilhas utilizando feromônios; manipulação genética de organismos, utilizando da engenharia genética; dentre outras. Esses métodos são aplicados de maneira conjunta, buscando evitar problemas como seleção de populações de pragas resistentes e ressurgência de pragas secundárias. Entretanto, o uso intensivo de produtos fitossanitários pode causar, além da contaminação ambiental, o aumento no custo de produção e a morte de inimigos naturais (METCALF, 1980; KOGAN, 1998).

O uso indiscriminado de pesticidas químicos para controle de pragas agrícolas tem afetado populações de espécies benéficas de insetos presentes no campo. Assim, grande parte dos estudos em MIP são focados nos efeitos letais dos produtos químicos, ou seja, a morte de inimigos naturais. No entanto, existe a necessidade de se considerar os efeitos subletais e de longo prazo dos pesticidas que podem prejudicar outros parâmetros biológicos desses artrópodes como oviposição, longevidade e comportamento (DESNEUX; DECOURTYE; DELPUECH, 2007; MEISSLE et al., 2010).

Para entender os efeitos dos inseticidas nos inimigos naturais estuda-se a seletividade, que pode ser definida como fisiológica ou ecológica. A fisiológica está relacionada às características físico-químicas dos produtos que podem causar a mortalidade da praga sem causar efeitos negativos nos insetos benéficos. Alguns processos estão envolvidos neste tipo de seletividade como os de absorção, penetração, transporte e ativação de inseticidas que podem agir em diferentes intensidades, resultando em toxicidade distinta entre praga e inimigo natural. A ecológica se dá com base nas diferenças ecológicas das pragas e dos inimigos naturais no tempo e espaço, em que os produtos fitossanitários atuam no agroecossistema de forma que não atingem diretamente o inimigo natural (RIPPER; GREENSLADE; HARTLEY, 1951).

Desde a implementação do MIP, na década de 60, estudos sobre o impacto de inseticidas em insetos benéficos têm sido realizados. Inicialmente, eram mais abrangentes, envolvendo várias culturas e inimigos naturais. Posteriormente, estes estudos passaram a ser

mais específicos tratando classes individuais de inseticidas e na década de 80, as pesquisas buscavam por culturas específicas, padronização dos métodos de avaliação e comunidades ecológicas (FOERSTER, 2002; STARK; BANKS; ACHEAMPONG, 2004).

Há cerca de duas décadas, estudos de efeitos subletais também têm sido considerados e não somente os efeitos letais, sendo eles mais minuciosos no sentido de avaliar todos os possíveis efeitos após contaminação e oferecer segurança quanto aos resultados obtidos (DESNEUX; DECOURTYE; DELPUECH, 2007). As principais áreas para avaliação do impacto de pesticidas nos insetos benéficos são: locomoção, consumo de alimento, parasitismo (busca, oviposição, tempo gasto no reconhecimento), repelência, tempo de desenvolvimento, malformação, longevidade e reprodução (fecundidade, fertilidade, razão sexual) (WRIGHT; VERKERK, 1995). Todavia, revisando trabalhos publicados na literatura sobre a ação subletal de pesticidas em artrópodes benéficos, pesquisadores reportaram que a maioria das pesquisas não utilizavam doses subletais. Por isso, evidenciaram o cuidado que deve ser considerado em estudos futuros sobre os efeitos de pesticidas (DESNEUX; DECOURTYE; DELPUECH, 2007).

2.4.1. Seletividade para espécies do gênero *Cotesia*

A seletividade de inseticidas para insetos do gênero *Cotesia* foi estudada por alguns autores. Li et al. (2005) avaliaram os efeitos letal e subletais do ingrediente ativo espinosade no parasitoide *Cotesia plutellae* Kurdjumov (Hymenoptera: Braconidae) após parasitarem lagartas sobreviventes do hospedeiro contaminado *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae). O inseticida analisado é do grupo químico de ativadores alostéricos de receptores nicotínicos da acetilcolina e age no sistema nervoso central. Observaram que, esse produto, na concentração de campo de 25 mg/L causou efeito direto em ovos e larvas, redução da porcentagem na formação de casulos e mortalidade de adultos do parasitoide.

Inseticidas utilizados na cultura de milho e sorgo para controle de *Chilo partellus* (Swinhoe) (Lepidoptera: Pyralidae) foram testados em lagartas parasitadas por *C. flavipes*. Diflubenzuron (aplicação tópica de 20 µL), um regulador de crescimento inibidor da formação de quitina (específico para lepidópteros), não causou mortalidade, tampouco efeitos colaterais no parasitoide. Entretanto, o pesticida sintético lambda-cialotrina (aplicação tópica de 0,025% de Karate® 5 EC), que age no sistema nervoso central, sendo modulador dos canais de sódio, apresentou alta toxicidade, provocando 100% de mortalidade quando aplicado em todos os

estágios de desenvolvimento de *C. flavipes*, não sendo, portanto, seletivo a este inimigo natural (MUZEYI; JEMBERE, 2005).

Em Shangjie, Minhou, na China, pesquisadores examinaram os efeitos de doses subletais de inseticidas aplicados no controle de *P. xylostella* e *Lipaphis erysimi* Kaltenbach (Hemiptera: Aphididae) na sobrevivência do endoparasitoide *C. plutellae*. O organofosforado (metamidofós) inibidor de acetilcolinesterase, e a avermectina, ativador dos canais de cloro, causaram impactos ao parasitoide com diminuição significativa da formação de casulos e emergência para ambos os pesticidas (LIN; WU; MIYATA, 2007).

Os efeitos inibitórios do inseticida piretroide permetrina sobre as respostas de comportamento de voo, procura de hospedeiro e forrageamento de *Cotesia vestalis* (Haliday) (Hymenoptera: Braconidae) foram investigados em condições de laboratório. As pequenas vespas mostraram preferência pelos hospedeiros em plantas tratadas com o inseticida. Segundo os autores, possivelmente, essa atração é realizada pelos infoquímicos voláteis presentes no pesticida. Além disso, foi verificada alta mortalidade de endoparasitoides mesmo em um curto período de tempo, bem como impactos sobre o comportamento de voo. Esses resultados preconizam que a aplicação do inseticida tenha um efeito inibitório sobre o comportamento de procura das vespas e consequentemente reduz a eficácia de *C. vestalis* como um agente de controle biológico para *P. xylostella*. Além do que houve atração das vespas para as plantas infestadas e tratadas com permetrina aumentando o risco de exposição do parasitoide a este inseticida (KAWAZU et al., 2010).

Os efeitos letais e subletais do regulador de crescimento lufenuron foram estudados na praga *D. flavipennella* e em seu parasitoide *C. flavipes*. Lagartas que sobreviveram às exposições (CL₂₀ e CL₅₀) em contaminação oral do inseticida foram ofertadas ao endoparasitoide. Dentre os parâmetros avaliados, houve diferença significativa no período de desenvolvimento de ovo à adulto, em que apresentou acréscimo de 5 e 10 dias nos tratamentos com CL₂₀ e CL₅₀, respectivamente, quando comparados aos indivíduos que se desenvolveram em lagartas não tratadas (FONSECA et al., 2015).

Na literatura, as pesquisas que abordam seletividade de diferentes grupos de inseticidas agrícolas a espécies do gênero de parasitoide *Cotesia* são escassos, principalmente para a espécie *C. flavipes*. Sendo assim, estudos nessa área são de extrema importância para contribuir com a implementação do MIP nesta cultura.

2.5. Inseticidas utilizados nos bioensaios

Todos os inseticidas testados são utilizados no controle inicial da broca-da-cana. Dentre os sete produtos comerciais estudados, dois deles possuem dois ingredientes ativos (i. a.) e os demais apenas um. Os inseticidas avaliados são pertencentes aos grupos químicos dos piretroides, neonicotinoides, diamidas e “reguladores de crescimento” dos subgrupos diacihidrazida e benzoilureia.

Lambda-cialotrina, pertencente ao grupo químico dos piretroides do tipo II, atua como modulador dos canais de sódio com atraso da inativação, levando a uma despolarização persistente da membrana nervosa sem descarga repetitiva no sistema nervoso central (EL-DEMERDASH, 2007; IRAC, 2017). Possui solubilidade em água de 5×10^{-3} mg/L em pH = 6,5 (hidrofóbico), peso molecular de 449,9 g/mol e log kow de 7 (FAO, 2017a). Por serem inseticidas neurotóxicos, os piretroides tem amplo espectro de ação e estudos tem mostrado que a seletividade destes para inimigos naturais é baixa (DESNEUX; DECOURTYE; DELPUECH, 2007). Os produtos comerciais estudados que possuem este i.a. em sua formulação foram Ampligo® 50+100 SC (Syngenta Proteção de cultivos Ltda.) e Engeo™ Pleno (Syngenta Proteção de cultivos Ltda.).

Tiametoxam é um neonicotinoide com atividade agonista de receptores de acetilcolina nicotínica no sistema nervoso dos insetos e age, sistemicamente, por contato e ingestão. Tem peso molecular de 291,7 g/mol, solubilidade em água de 4,1 g/L e log kow de -0,13. Pode induzir o inseto à superexcitação causando bloqueio de receptor, paralisia e morte (TOMIZAWA; CASIDA, 2005). Existem informações sobre sua toxicidade em que pode causar efeitos letal e subletais em predadores e parasitoides de diversas culturas em que é utilizado (COSTA et al., 2014; GONTIJO et al., 2014; YAO et al., 2015; CAMARGO et al., 2017; KO et al., 2015). O produto comercial utilizado no presente estudo contendo este i.a. em sua formulação foi Engeo™ Pleno (Syngenta Proteção de cultivos Ltda.).

Cloranthraniliprole atua como modulador dos receptores musculares darianodina, do grupo químico das diamidas antrálicas (IRAC, 2017). As diamidas se ligam aos receptores de rianodina (RyR) musculares e resultam em liberação descontrolada de cálcio das reservas celulares internas que prejudicam as contrações musculares e resultam em cessação da alimentação, letargia, paralisia e morte (CORDOVA et al., 2006; SIAL et al., 2011). Possui solubilidade em água de 0,972 mg/L, peso molecular de 483,15 g/mol e log kow de 2,86 (FAO, 2017b). Alguns autores observaram baixo impacto deste i.a. em insetos benéficos (HUANG, WU; JE, 2011; MARTINOU; SERAPHIDES; STAVRINDES, 2014; FERNANDES et al.,

2016; SILVA et al., 2017). Porém, existem relatos de efeitos subletais em predadores e parasitoides (GONTIJO et al., 2014; MOSCARDINI et al., 2014; AMARASEKARE; SHEARER; MILLS, 2016). Os produtos comerciais contendo este i.a. no presente estudo foram Altacor® 350 WG (Du Pont do Brasil S. A.) e Ampligo® 50+100 SC (Syngenta Proteção de cultivos Ltda.).

Os “reguladores de crescimento de insetos” (RCI) são um grupo químico de inseticidas cujo alvo é o sistema endócrino e o controle se dá na fase de desenvolvimento e metamorfose dos insetos. Possuem espectro de ação mais restrito e, geralmente, são considerados de baixa toxicidade a artrópodes não-alvo (STAAL, 1975; WILSON, 2004; LIU; STANSKY, 2004; BIDDINGER et al., 2014). Entretanto, estudos têm mostrado efeitos subletais em inimigos naturais (DESNEUX; DECOURTYE; DELPUECH, 2007; BELOTI et al., 2015; WANG; LIU, 2016).

Dentre os subgrupos dos RCI, destacam-se diacilhidrazinas e benzoilureias. Tebufenozida pertence as diacilhidrazinas que agem como agonistas dos receptores de ecdisteroides, causando indução precoce da muda; possui log kow de 4,25, solubilidade em água de 0,83 mg/L e peso molecular de 352 g/mol (FAO, 2017c; WANG et al., 2017). O produto comercial utilizado no presente estudo com este i.a. foi Mimic® 240 SC (IharaBras S. A. Indústrias Químicas).

Clorfluazuron, triflumuron e novaluron pertencem as benzoilureias que são inibidores da formação de quitina. Tem peso molecular de 540,6 g/mol; 358,7 g/mol e 492,7 g/mol, log kow de 5,8; 4,9 e 4,3 e solubilidade em água de 0,012 mg/L; 0,06 mg/L e 0,003 mg/L, respectivamente (SUN et al., 2015; FAO, 2017d, 2017e). Os produtos comerciais utilizados no presente estudo contendo estes i.a. foram, respectivamente, Atabron® 50 EC (Arysta Lifescience do Brasil Ind. Quím. E Agropec. Ltda.), Certero® 480 SC (Bayer Brasil CropScience Ltda.) e Rimon® 100 EC (Adama Brasil Ltda.).

REFERÊNCIAS

- AMARASEKARE, K. G.; SHEARER, P. W.; MILLS, N. J. Testing the selectivity of pesticide effects on natural enemies in laboratory bioassays. **Biological Control**, v. 102, p. 7-16, 2016.
- BELOTI, V. H. ALVES, G. R.; ARAÚJO, D. F. D.; PICOLI, M. M.; DE ANDRADE MORAL, R.; DEMÉTRIO, C. G. B.; YAMAMOTO, P. T. Lethal and sublethal effects of insecticides used on citrus, on the ectoparasitoid *Tamarixia radiata*. **PloS ONE**, v. 10, n. 7, p. e0132128, 2015.
- BIDDINGER, D. J.; LESLIE, T. W.; JOSHI, N. K. Reduced-risk pest management programs for Eastern US peach orchards: effects on arthropod predators, parasitoids, and select pests. **Journal of economic entomology**, v. 107, n. 3, p. 1084-1091, 2014.
- BOTELHO, P. S. M. Quinze anos de controle biológico da *Diatraea saccharalis* utilizando parasitóides. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 27, p. 255-262, 1992.
- BOTELHO, P. S. M.; MACEDO, N. *Cotesia flavipes* para o controle de *Diatraea saccharalis*. In: PARRA, J. R. P.; BOTELHO, P. S. M.; CORRÊA-FERREIRA, B. S.; BENTO, J. M. S. (Ed.) **Controle biológico no Brasil: parasitoides e predadores**. São Paulo: Manolecap., v. 5, p. 409-421, 2002.
- BOTELHO, P. S. M.; PARRA, J. R. P.; DAS CHAGAS NETO, J. F.; OLIVEIRA, C. P. B. Associação do parasitóide de ovos *Trichogramma galloi* Zucchi (Hymenoptera: Trichogrammatidae) e do parasitóide larval *Cotesia flavipes* (Cam.) (Hymenoptera: Braconidae) no controle de *Diatraea saccharalis*, (Fabr.) (Lepidoptera: Crambidae) em cana-de-açúcar. **Anais da Sociedade Entomologica do Brasil**, v. 28, p. 491-496, 1999.
- CAMARGO, C.; HUNT, T. E.; GIESLER, L. J.; SIEGFRIED, B. D. Thiamethoxam toxicity and effects on consumption behavior in *Orius insidiosus* (Hemiptera: Anthocoridae) on soybean. **Environmental Entomology**, v. 46, n. 3, p. 693-699, 2017.
- CAMPOS-FARINHA, A. E. DE C.; CHAUD-NETTO, J.; GOBBI, N. Biologia reprodutiva de *Cotesia flavipes* (Cameron) (Hymenoptera: Braconidae). IV. Discriminação entre lagartas parasitadas e não parasitadas de *Diatraea saccharalis* fabricius (Lepidoptera: Pyralidae), tempo de desenvolvimento e razão sexual dos parasitóides. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 67, n. 2, p. 229-234, 2000.
- COOK, J. M. Sex determination in the Hymenoptera: a review of models and evidence. **Heredity-London**, v. 71, p. 421-421, 1993.

- CORDOVA, D.; BENNER, E. A.; SACHER, M. D.; RAUH, J. J.; SOPA, J. S.; LAHM, G. P.; SELBY, T.P.; STEVENSON, T.M.; FLEXNER, L.; GUTTERIDGE, S.; RHOADES, D.F.; WU, L.; SMITH, R.M.; TAO, Y. Anthranilic diamides: a new class of insecticides with a novel mode of action, ryanodine receptor activation. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 84, n. 3, p. 196-214, 2006.
- CORTÉS, A. M. P.; ZARBIN, P. H.; TAKIYA, D. M.; BENTO, J. M. S.; GUIDOLIN, A. S.; CONSOLI, F. L. Geographic variation of sex pheromone and mitochondrial DNA in *Diatraea saccharalis* (Fab., 1794) (Lepidoptera: Crambidae). **Journal of insect physiology**, v. 56, n. 11, p. 1624-1630, 2010.
- COSTA, M. A.; MOSCARDINI, V. F.; GONTIJO, P. C.; CARVALHO, G. A.; de OLIVEIRA, R. L.; de OLIVEIRA, H. N. Sublethal and transgenerational effects of insecticides in developing *Trichogramma galloi* (Hymenoptera: Trichogrammatidae). **Ecotoxicology**, v. 23, n. 8, p. 1399-1408, 2014.
- DEGASPARI, N.; MACEDO, N.; BOTELHO, P. S. M.; ARAUJO, J.R.; ALMEIDA, L.C. Predadores e parasitóides de ovos de *Diatraea saccharalis* em cana-de-açúcar. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.22, p.785-792, 1987.
- DESNEUX, N.; DECOURTYE, A.; DELPUECH, J. M. The sublethal effects of pesticides on beneficial arthropods. **Annual Review of Entomology**, v. 52, p. 81-106, 2007.
- DINARDO-MIRANDA, L. L.; FRACASSO, J. V.; PERECIN, D. Variabilidade espacial de populações de *Diatraea saccharalis* em canaviais e sugestão de método de amostragem. **Bragantia**, v. 70, n. 3, p.577-585, 2011.
- DINARDO-MIRANDA, L. L.; FRACASSO, J. V.; DA COSTA, V. P.; LOPES, D. O. T. Dispersal of *Cotesia flavipes* in sugarcane field and implications for parasitoid releases. **Bragantia**, v. 73, n. 2, p.163-170, 2014.
- DYAR, H. G.; HEINRICH, C. The American moths of the genus *Diatraea* and allies. **Proceedings United States National Museum**, v. 71, p. 1–48, 1927.
- EL-DEMERDASH, F. M. Lambda-cyhalothrin-induced changes in oxidative stress biomarkers in rabbit erythrocytes and alleviation effect of some antioxidants. **Toxicology in vitro**, v. 21, n. 3, p. 392-397, 2007.
- EMANA, G. D. Comparative studies of the influence of relative humidity and temperature on the longevity and fecundity of the parasitoid, *Cotesia flavipes*. **Journal of Insect Science**, v. 7, p 7-19, 2007.
- FAO - FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. **Lambda-cyhalotrin**, 2017a. Disponível em:

http://www.fao.org/fileadmin/templates/agphome/documents/Pests_Pesticides/JMPR/Evaluation08/Lambda-cyhalothrin.pdf. Acessado em 16 de setembro de 2017.

FAO - FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS.

Chlorantraniliprole, 2017b. Disponível em:

http://www.fao.org/fileadmin/templates/agphome/documents/Pests_Pesticides/JMPR/Evaluation08/Chlorantraniliprole.pdf. Acessado 14 de setembro de 2017.

FAO - FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS.

Tebufenozide, 2017c. Disponível em:

http://www.fao.org/fileadmin/templates/agphome/documents/Pests_Pesticides/JMPR/Evaluation09/tebufen1.pdf. Acessado em 03 de outubro de 2017.

FAO - FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS.

Triflumuron, 2017d. Disponível em:

http://www.fao.org/fileadmin/templates/agphome/documents/Pests_Pesticides/Specs/Old_specs/TRIFLU.pdf. Acessado em 03 de outubro de 2017.

FAO - FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS.

Novaluron, 2017e. Disponível em:

http://www.fao.org/fileadmin/templates/agphome/documents/Pests_Pesticides/JMPR/Evaluation05/2005_Novaluron1.pdf. Acessado em 03 de outubro de 2017.

FERNANDES, M. E. S.; ALVES, F. M.; PEREIRA, R. C.; AQUINO, L. A.; FERNANDES, F. L.; ZANUNCIO, J. C. Lethal and sublethal effects of seven insecticides on three beneficial insects in laboratory assays and field trials. **Chemosphere**, v. 156, p. 45-55, 2016.

FREITAS, M. D. T.; MENDONÇA, A. L.; NASCIMENTO, R. R.; SANT'ANA, A. E. Behavioural evidence for a female sex pheromone in *Cotesia flavipes* (Hymenoptera: Braconidae). **Physiological Entomology**, v. 29, n. 2, p. 183-187, 2004.

FOERSTER, L.A. Seletividade de inseticidas a predadores e parasitóides. In: PARRA, J.R.P.; BOTELHO, P.S.M.; CORRÊA-FERREIRA, B.S.; BENTO, J.M.S. (Ed.) **Controle biológico no Brasil: parasitóides e predadores**. São Paulo: Manole, v. 5, p.95-114, 2002.

FONSECA, A. P. P.; MARQUES, E. J.; TORRES, J. B.; SILVA, L. M.; SIQUEIRA, H. I. A. Lethal and sublethal effects of lufenuron on sugarcane borer *Diatraea flavipennella* and its parasitoid *Cotesia flavipes*. **Ecotoxicology**, v. 24, n. 9, p. 1869- 1879, 2015.

GONTIJO, P. C.; MOSCARDINI, V. F.; MICHAUD, J. P.; CARVALHO, G. A. Non-target effects of chlorantraniliprole and thiamethoxam on *Chrysoperla carnea* when employed as sunflower seed treatments. **Journal of Pest Science**, v. 87, n. 4, p. 711-719, 2014.

- GRAVENA, S.; SANGUINO, J. R.; BARA, J. R. Controle biológico da broca da cana *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794) por predadores de ovos e *Bacillus thuringiensis* Berliner. **Anais da Sociedade Entomologica do Brasil**, v. 9, n. 1, p. 87-95, 1980.
- HUANG, J.; WU, S.; YE, G. Evaluation of lethal effects of chlorantraniliprole on *Chilo suppressalis* and its larval parasitoid, *Cotesia chilonis*. **Agricultural sciences in China**, v. 10, n. 7, p. 1134-1138, 2011.
- IRAC, INSECTICIDE RESISTANCE ACTION COMMITTEE. **Mode of Action Classification Scheme**. Version 8.3, 2017. Disponível em: <http://www.irac-online.org/documents/moa-classification/?ext=pdf>. Acessado em 13 de setembro de 2017.
- KAWAZU, K.; SHIMODA, T.; KOBORI, Y.; KUGIMIYA, S.; MUKAWA, S.; SUZUKI, Y. Inhibitory effects of permethrin on flight responses, host-searching, and foraging behaviour of *Cotesia vestalis* (Hymenoptera: Braconidae), a larval parasitoid of *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae). **Journal of Applied Entomology**, v. 134, n. 4, p. 313-322, 2010.
- KING, E. G.; BREWER, F. D.; MARTIN, D. F. Development of *Diatraea saccharalis* (Lep.: Pyralidae) at constant temperatures. **Entomophaga**, v. 20, n. 3, p. 301-306, 1975.
- KO, K.; LIU, Y.; HOU, M.; BABENDREIER, D.; ZHANG, F.; SONG, K. Toxicity of insecticides targeting rice planthoppers to adult and immature stages of *Trichogramma chilonis* (Hymenoptera: Trichogrammatidae). **Journal of economic entomology**, v. 108, n. 1, p. 69-76, 2015.
- KOGAN, M. Integrated pest management: historical perspectives and contemporary developments. **Annual review of entomology**, v. 43, n. 1, p. 243-270, 1998.
- LI, Z.; LIU, Y.; LIU, S. Lethal and sublethal effects of spinosad on the parasitoid *Cotesia plutellae*. **Chinese Journal of Pesticide Science**, v. 7, p. 24-28, 2005.
- LIN, Y. W.; WU, G.; MIYATA, T. Insecticide susceptibility of surviving *Cotesia plutellae* (Hym: Braconidae) and *Diaeretiella rapae* (M'Intosh) (Hym: Aphidiidae) as affected by sublethal insecticide dosages on host insects. **Pest Management Science**, v. 63, n. 9, p. 841-850, 2007.
- LIMA FILHO, M.; LIMA, J. O. G. Massas de ovos de *Diatraea saccharalis* (Fabr.) (Lepidoptera: Pyralidae) em cana-de-açúcar: número de ovos e porcentagem de parasitismo por *Trichogramma* spp. (Hymenoptera: Trichogrammatidae) em condições de campo. **Neotropical Entomology**, v. 30, p. 483-487, 2001.
- LIU, T. X.; STANSLY, P. A. Lethal and sublethal effects of two insect growth regulators on adult *Delphastus catalinae* (Coleoptera: Coccinellidae), a predator of whiteflies (Homoptera: Aleyrodidae). **Biological Control**, v. 30, n. 2, p. 298-305, 2004.

- MACEDO, N. New strain of *Apanteles flavipes* was imported to increase its adaptative potential in the Southern Brazil. **ISSCT Entomology Newsl**, v. 4, p. 11-12, 1978.
- MARTINOU, A. F.; SERAPHIDES, N.; STAVRINDES, M. C. Lethal and behavioral effects of pesticides on the insect predator *Macrolophus pygmaeus*. **Chemosphere**, v. 96, p. 167-173, 2014.
- MEISSLE, M.; MOURON, P.; MUSA, T.; BIGLER, F.; PONS, X.; VASILEIADIS, V. P.; OTTO, S.; ANTICHI, D.; KISS, J.; PALINKAS, Z.; DORNER, Z.; van DER WEIDE, R.; GROTEN, J.; CZEMBOR, E.; ADAMCZYK, J.; THIBORD, J. B.; MELANDER, B.; NIELSEN, G. C.; POULSEN, R. T.; ZIMMERMANN, O.; VERSCHWELE, A.; OLDENBURG, E. Pests, pesticide use and alternative options in European maize production: current status and future prospects. **Journal Applied Entomology**, v. 134, p. 357–375, 2010.
- MÉLO, A. B. P.; PARRA, J. R. P. Exigências térmicas e estimativas do número de gerações anuais da broca da cana-de-açúcar em quatro localidades canavieiras de São Paulo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 23, p. 691-696, 1988.
- MENDONÇA, A. F. **Pragas da cana-de-açúcar**. Insetos & CIA, Maceió, p. 3-48, 1996.
- MENDONÇA FILHO, A. F.; RISCO, S. H. B.; COSTA J. M. B. Introduction and rearing of *Apanteles flavipes* Cameron (Hymenoptera: Braconidae) in Brazil. **In Proceedings of the 19th Congress of International Society of Sugarcane Technologists**, São Paulo, 1977.
- METCALF, R. L. Changing role of pesticides in crop protection. **An. Rev. Entomol.**, v. 25, p. 219-256, 1980.
- MOHYUDDIN, A. I. Comparative biology and ecology of *Apanteles flavipes* (Cam.) and *A. sesamiae* Cam. as parasites of graminaceous borers. **Bulletin of Entomological Research**, v. 61, n. 1, p. 33-40, 1971.
- MÓLNAR, S.; LÓPEZ, I.; GÁMEZ, M.; GARAY, J. A two-agent model applied to the biological control of the sugarcaneborer (*Diatraea saccharalis*) by the egg parasitoid *Trichogramma galloi* and the larvae parasitoid *Cotesia flavipes*. **BioSystems**, v. 141, p. 45–54, 2016.
- MOSCARDINI, V. F.; GONTIJO, P. C.; MICHAUD, J. P.; CARVALHO, G. A. Sublethal effects of chlorantraniliprole and thiamethoxam seed treatments when *Lysiphlebus testaceipes* feed on sunflower extrafloral nectar. **BioControl**, v. 59, n. 5, p. 503-511, 2014.
- MUZEYI, S. S.; JEMBERE, B. Effects of botanicals, a synthetic insecticide and an insect growth regulator on survival and development of the parasitoid wasp *Cotesia flavipes*

- parasitising the stem-boring moth *Chilo partellus*. **International Journal of Pest Management**, v. 51, n. 1, p. 25-30, 2005.
- OVERHOLT, W. A.; NGI-SONG, A. J.; OMWEGA, C. O.; KIMANI, S. W.; MBAPILA, J.; SALLAM, M. N.; OFOMATA, V. A review of the introduction and establishment of *Cotesia flavipes* Cameron in East Africa for biological control of cereal stemborers. **Insect Science and its Application**, v. 17, p. 79-88, 1997.
- PÁDUA, L. E. M.; PARRA, J.R.P.; HADDAD, M. L. Efeito da temperatura e umidade relativa do ar na biologia de *Cotesia flavipes* (Cameron). **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v. 23, p. 105-114, 1994.
- PEREZ, R.; LONG, W. H. Sex attractant and mating behavior in the sugarcane borer. **Journal of Economic Entomology**, v. 57, n. 5, p. 688-691, 1964.
- PINHEIRO, D. O.; ROSSI, G. D.; CÔNSOLI, F. L. External morphology of *Cotesia flavipes* (Hymenoptera: Braconidae) during larval development. **Zoologia**, v. 27, n. 6, p. 986-992, 2010.
- RIPPER, W. E.; GREENSLADE, R. M.; HARTLEY, G. S. Selective insecticides and biological control. **Journal of Economic Entomology**, v. 44, n. 4, p. 448-459, 1951.
- ROSSI, M. N.; FOWLER, H. G. Predaceous at fauna in new sugarcane fields in the state of São Paulo, Brazil. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 47, p. 805-811, 2004.
- SIAL, A. A.; BRUNNER, J. F.; GARCZYNSKI, S. F. Biochemical characterization of chlorantraniliprole and spinetoram resistance in laboratory-selected obliquebanded leafroller, *Choristoneura rosaceana* (Harris) (Lepidoptera: Tortricidae). **Pesticide biochemistry and physiology**, v. 99, n. 3, p. 274-279, 2011.
- SILVA, C. C. M.; MARQUES, E. J.; OLIVEIRA, J. V.; VALENTE, E. C. N. Preference of the parasitoid *Cotesia flavipes* (Cam.) (Hymenoptera: Braconidae) for *Diatraea* (Lepidoptera: Crambidae). **Acta Scientiarum Agronomy Maringá**, v. 34, n. 1, p. 23-27, 2012.
- SILVA, B. K. A., GODOY, M. S. D., LIMA, A. G. D., OLIVEIRA, A. K. S.; PASTORI, P. L. Toxicity of insecticides used in muskmelon on first-instar larvae of *Chrysoperla genanigra* Freitas (Neuroptera: Chrysopidae). **Revista Caatinga**, v. 30, n. 3, p. 662-669, 2017.
- SOUZA, A. R.; BOIÇA JÚNIOR, A. L.; PERECIN, D.; COSTA, J. T.; PEIXOTO, M. L. Natural parasitism of lepidopteran eggs by *Trichogramma* species (Hymenoptera: Trichogrammatidae) in agricultural crops in Minas Gerais, Brazil. **Florida Entomologist**, v. 99, n. 2, p. 221-225, 2016.
- SUN, R.; LIU, C.; ZHANG, H.; WANG, Q. Benzoylurea chitin synthesis inhibitors. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 63, n. 31, p. 6847-6865, 2015.

- STARK, J. D.; BANKS, J. E.; ACHEAMPONG, S. Estimating susceptibility of biological control agents to pesticides: influence of life history strategies and population structure. **Biological Control**, v. 9, p. 92-398, 2004.
- STAAL, G. B. Insect growth regulators with juvenile hormone activity. **Annual Review of Entomology**, v. 20, n. 1, p. 417-460, 1975.
- TOMIZAWA, M.; CASIDA, J. E. Neonicotinoid insecticide toxicology: mechanisms of selective action. **Annual Review Pharmacology Toxicology**, v. 45, p. 247-268, 2005.
- VAN WILGENBURG, E.; DRIESSEN, G.; BEUKEBOOM, L. W. Single locus complementary sex determination in Hymenoptera: an "unintelligent" design? **Frontiers in Zoology**, v. 3, n. 1, p. 1, 2006.
- VARGAS, E. L.; PEREIRA, F. F.; TAVARES, M. T.; PASTORI, P. L. Record of *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) parasitizing *Diatraea* sp (Lepidoptera: Crambidae) in sugarcane crop in Brazil. **Entomotropica**, v. 26, n. 3, p. 143-146, 2011.
- VILELA, E. F.; FERNANDES, J. B.; PARRA, J. R. P.; MOSCARDI, F.; RABINOVITCH, L. **Controle biológico e feromônios de insetos no âmbito do agronegócio**, 74 p., 1998.
- WALKER, D. W. A bionomics of the sugarcane borer *Diatraea saccharalis* (Fab.). I. A description of the mating behavior. **Proceedings of the Entomological Society of Washington**, Washington, v. 67, n. 2, p. 80-83, 1965.
- WANG, Q. L.; LIU, T. X. Effects of three insect growth regulators on *Encarsia formosa* (Hymenoptera: Aphelinidae), an endoparasitoid of *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae). **Journal of Economic Entomology**, p. 1-8, 2016.
- WANG, Y.; XU, F.; YU, G.; SHI, J.; LI, C.; LIU, Z.; XU, J.; WANG, F.; WU, J. Synthesis and insecticidal activity of diacylhydrazine derivatives containing a 3-bromo-1-(3-chloropyridin-2-yl)-1 H-pyrazole scaffold. **Chemistry Central Journal**, v. 11, n. 1, p. 50, 2017.
- WIEDENMANN, R. N., SMITH JR., J. W.; DARNELL, P.O. Laboratory rearing and biology of the parasite *Cotesia flavipes* (Hymenoptera: Braconidae) using *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Pyralidae) as a host. **Environmental Entomology**, v. 21, p. 1160-1167, 1992.
- WILSON, T. G. The molecular site of action of juvenile hormone and juvenile hormone insecticides during metamorphosis: how these compounds kill insects. **Journal of Insect Physiology**, v. 50, n. 2, p. 111-121, 2004.
- WRIGHT, D. J.; VERKERK, R. H. J. Integration of chemical and biological control systems for arthropods: evaluation in a multitrophic context. **Pesticide Science**, v. 44, p. 207-218, 1995.

- YAO, F. L.; ZHENG, Y.; ZHAO, J. W.; DESNEUX, N.; HE, Y. X.; WENG, Q. Y. Lethal and sublethal effects of thiamethoxam on the whitefly predator *Serangium japonicum* (Coleoptera: Coccinellidae) through different exposure routes. **Chemosphere**, v. 128, p. 49-55, 2015.
- ZUCCHI, R. A.; MONTEIRO, R. C. O gênero *Trichogramma* na América do Sul, p.41-65. In: J.R.P. Parra & R.A. Zucchi (ed.), ***Trichogramma e o controle biológico aplicado***. Piracicaba, Fealq, 324 p., 1997.

3. EFEITO LETAL DE INSETICIDAS UTILIZADOS PARA CONTROLE DE *Diatraea saccharalis* (LEPIDOPTERA: CRAMBIDAE) AO PARASITOIDE LARVAL *Cotesia flavipes* (HYMENOPTERA: BRACONIDAE)

Resumo

Cotesia flavipes (Cameron) é um importante endoparasitoide utilizado como agente de controle biológico de *Diatraea saccharalis* (Fabricius) em cana-de-açúcar. Porém, a população deste inseto benéfico pode ser afetada por resíduos de inseticidas usados para controle dessa praga. Neste cenário, objetivou-se avaliar a toxicidade aguda de inseticidas registrados para controle da praga em *C. flavipes*. Os tratamentos foram clorantianiliprole (Altacor® 350 WG), lambda-cialotrina + clorantianiliprole (Ampligo® 50+100 SC), clorfluazuron (Atabron® 50 EC), triflumuron (Certero® 480 SC), lambda-cialotrina + tiametoxam (Engeo™ Pleno 106+141 SC), tebufenozide (Mimic® 240 SC), novaluron (Rimon® 100 EC) e controle (água destilada). Foram realizados quatro bioensaios: i) fêmeas antes de parasitarem; ii) fêmeas após parasitarem; iii) machos e fêmeas do parasitoide; e iv) efeito dos ingredientes ativos (i. a.) dos inseticidas Ampligo® e Engeo™ Pleno separadamente, realizando teste com lambda-cialotrina (Karate® Zeon 50), tiametoxam (Actara® 250 WG), clorantianiliprole (Premio® 20 SC) e controle (água destilada). Para cada bioensaio, discos da folha de cana-de-açúcar foram inseridos em placas de Petri (3,5 cm de diâmetro) contendo uma solução de [água:ágar] e pulverizados em torre de Potter, conforme recomendações da IOBC/WPRS. Após aplicação, 10 a 12 adultos de *C. flavipes* foram anestesiados com CO₂ por 10 segundos e introduzidos em placas contendo os tratamentos, as quais foram fechadas com tecido *voile* e fixadas pelas tampas com orifício na região central para permitir aeração. As placas foram acondicionadas em sala climatizada com temperatura de 25 ± 2 °C, UR $70 \pm 10\%$ e fotofase de 14 horas. Avaliou-se a mortalidade dos insetos que entraram em contato com os tratamentos após 24 horas. Ampligo®, Engeo™ Pleno, Karate® Zeon e Actara® causaram 100% de mortalidade aos espécimes, demonstrando que os i.a. lambda-cialotrina e tiametoxam são nocivos ao parasitoide. A mortalidade provocada por Altacor®, Premio®, Atabron®, Certero®, Mimic® e Rimon® foi semelhante ao tratamento controle em todos os bioensaios. Segundo normas da IOBC, Ampligo® e Engeo™ Pleno foram classificados como nocivos (classe 4) e os demais inseticidas foram enquadrados como inócuos à adultos de *C. flavipes* (classe 1).

Palavras-chave: Broca-da-cana; Controle químico; Endoparasitoide; Resíduos; Seletividade

Abstract

Cotesia flavipes (Cameron) is an important endoparasitoid used as a biological control agent for *Diatraea saccharalis* (Fabricius) in sugarcane. However, the population of this beneficial insect can be affected by residues of insecticides used to control the borer. In this scenario, the objective of this study was to evaluate the acute toxicity of insecticides registered for pest control on *C. flavipes*. The treatments were chlorantraniliprole (Altacor® 350 WG), lambda-cyhalothrin + chlorantraniliprole (Ampligo® 50 + 100 SC), chlorfluazuron (Atabron® 50 EC), triflumuron (Certero® 480 SC), lambda-cyhalothrin + thiamethoxam (Engeo™ Pleno 106 +141 SC), tebufenozide (Mimic® 240 SC), novaluron (Rimon® 100 EC) and control (distilled water). Four bioassays were performed: i) females before parasitism; ii) females after parasitism; iii) males and females of the parasitoid; and iv) to evaluate the effect of the active ingredients (a.i.) of the Ampligo® and Engeo™ Pleno insecticides separately, additional testing was performed with lambda-cyhalothrin (Karate® Zeon 50), thiamethoxam (Actara® 250 WG), chlorantraniliprole (Premio 200 SC) and control (distilled water). For each bioassay, sugar cane leaf discs were inserted into Petri dishes (3.5 cm in diameter) containing a solution of [water: agar] and sprayed on a Potter tower, as recommended by IOBC / WPRS. After application, 10 to 12 adults of *C. flavipes* were anesthetized with CO₂ for 10 seconds and introduced into plates containing the treatments, which were closed with *voile* type fabric and fixed by the orifice caps in the central region to allow aeration. The plates were in a climate-controlled room with temperature of 25 ± 2 °C, RH $70 \pm 10\%$ and photophase of 14 hours. The mortality of the insects that came in contact with the treatments for 24 hours was evaluated. Lambda-cyhalothrin + chlorantraniliprole, lambda-cyhalothrin + thiamethoxam, lambda-cyhalothrin and thiamethoxam caused 100% mortality to the specimens, demonstrating that the a.i. lambda-cyhalothrin and thiamethoxam are harmful to the parasitoid. The mortality caused by chlorantraniliprole, triflumuron, tebufenozide and novaluron was similar to the control treatment in all bioassays. According to IOBC standards lambda-cyhalothrin + chlorantraniliprole and lambda-cyhalothrin + thiamethoxam were classified as harmful (class 4) and the other insecticides were classified as innocuous to adults of *C. flavipes* (class 1).

Keywords: Sugarcane borer; Chemical control; Endoparasitoid; Residues; Selectivity

3.1. INTRODUÇÃO

Cotesia flavipes (Cameron) (Hymenoptera: Braconidae) é um endoparasitoide larval de brocas de gramíneas de origem Indo-Australiana (OVERHOLT et al., 1997). Este inimigo natural foi introduzido no Brasil na década de 1970 para controle da broca-da-cana *Diatraea saccharalis* (Fabricius) (Lepidoptera: Crambidae), praga-chave da cultura da cana-de-açúcar (*Saccharum officinarum* L.) (MENDONÇA FILHO; RISCO; COSTA, 1977). Desde então, muitas biofábricas e usinas sucroenergéticas produzem o parasitoide para liberação massal em campo (VACARI et al., 2012).

O sucesso do controle biológico com esta espécie deve-se, principalmente, pela alta capacidade de fêmeas do parasitoide em encontrarem as lagartas da broca-da-cana no interior dos colmos (SILVA et al., 2012). No Brasil, esta tática é realizada em, aproximadamente, 3,3 milhões de hectares da cultura (PARRA; BOTELHO; PINTO, 2010) e, apesar da eficiência do método, *D. saccharalis* continua como a principal praga da cana. No manejo integrado da broca-da-cana, o método químico vem sendo utilizado para controle da fase inicial da lagarta, antes da entrada no colmo, como mais uma alternativa de controle.

Existe uma variedade de inseticidas sintéticos registrados para seu controle com diferentes modos de ação (AGROFIT, 2016). Entretanto, para que ambos os métodos sejam efetivos, inseticidas seletivos ao inimigo natural devem ser preferidos para que causem a morte apenas da praga (RIPPER; GREENSLADE; HARTLEY, 1951). Desta maneira, há a necessidade de conhecer a toxicidade dos agroquímicos para controle da broca a *C. flavipes*. O contato dos parasitoides com resíduos inseticidas pode reduzir a população, causar prejuízos financeiros pelo investimento na produção massal e ainda reduzir a eficácia no desempenho para controle da broca.

Pesquisas têm demonstrado que resíduos de inseticidas presentes em lagartas sobreviventes às pulverizações podem causar efeitos negativos ao parasitoide. O ingrediente ativo (i.a.) lambda-cialotrina causou morte de larvas de *C. flavipes* quando o hospedeiro foi submetido à subdoses do inseticida (MUZEYI; JEMBERE, 2005). Já os resíduos do i.a. lufenuron não causaram efeito letal, no entanto, acarretou maior duração do desenvolvimento do parasitoide após parasitar lagartas de *Diatraea flavipennella* (Box) (Lepidoptera: Crambidae) sobreviventes ao agroquímico (FONSECA et al., 2015).

Na literatura, há uma escassez de informação com relação à toxicidade de inseticidas para *C. flavipes* em contato com resíduos de folhas tratadas. Neste contexto, buscou-se com o presente estudo conhecer o efeito letal dos principais inseticidas usados nos canaviais brasileiros para controle de *D. saccharalis* no parasitoide larval.

3.2. MATERIAL E MÉTODOS

3.2.1. Local e condições ambientais

A criação do parasitoide *C. flavipes* e de seu hospedeiro *D. saccharalis*, assim como os bioensaios, foram realizados no Laboratório de Biologia de Insetos e no Laboratório de Manejo Integrado de Pragas do Departamento de Entomologia e Acarologia da ESALQ/USP,

em Piracicaba/SP, sob temperatura de 25 ± 2 °C, umidade relativa de $70 \pm 10\%$ e fotofase de 14 horas.

3.2.2. Criação e manutenção de *D. saccharalis*

A criação foi realizada no Laboratório de Biologia de Insetos, Esalq/USP, com espécimes obtidos em 2016 na Usina de cana-de-açúcar Iracema do Grupo São Martinho, no estado de São Paulo. Cerca de 20 casais foram mantidos em gaiolas do tipo PVC (12 cm de diâmetro $\times$ 30 cm de altura), forradas com folha de papel sulfite onde as posturas eram feitas, e fechadas com placas de Petri de acrílico. Foi oferecida uma solução a base de mel (5%) diluído em água como alimento.

Para assepsia das posturas, as áreas do papel contendo os ovos foram cortadas e, em seguida, mergulhadas durante 3 min em uma solução aquosa de limpeza composta por formaldeído (3%) e sulfato de cobre (1%). Os ovos foram mantidos dentro de recipientes de plástico até a eclosão das lagartas. As lagartas recém-eclodidas foram transferidas para tubos de vidro (2 cm de diâmetro $\times$ 8,5 cm de altura) contendo dieta artificial de alimentação (HENSLEY; HAMMOND, 1968, modificada) composta por: germe de trigo (35 g), farelo de soja (120 g); açúcar (120 g), sais de Wesson (17 g), ácido ascórbico (4,2 g), cloreto de colina (0,9 g), solução vitamínica (25 mL), nipagin (7 g), formaldeído 40% (1,7 mL), tetrex (0,3 g), ágar (25 g) e água destilada (2 L).

A dieta foi oferecida a grupos de 5 lagartas por tubo, fechados com algodão e mantidos em ângulo de 45° em prateleiras de madeira. As pupas eram retiradas dos tubos de vidro e transferidas para placas de Petri (10 cm de diâmetro $\times$ 2 cm de altura) e colocadas dentro das gaiolas de PVC novamente para emergência.

3.2.3. Criação e manutenção de *C. flavipes*

A criação foi realizada no Laboratório de Biologia de Insetos Esalq/USP, em que os espécimes foram obtidos em 2016 na usina de cana-de-açúcar Iracema do Grupo São Martinho, no estado de São Paulo.

Adultos foram mantidos em recipientes plásticos com tampa (6 cm de diâmetro $\times$ 6 cm de altura) contendo mel como alimento por 24 horas após a emergência para acasalamento. Em seguida, lagartas de *D. saccharalis* de quinto ínstar foram oferecidas através de um orifício na tampa para as fêmeas de *C. flavipes* realizarem parasitismo. Essas lagartas foram mantidas em placas de Petri (10 cm de diâmetro $\times$ 2 cm de altura) contendo dietas de realimentação

(HENSLEY; HAMMOND, 1968, modificada) composta por: germe de trigo (20 g), farelo de soja (100 g), açúcar (80 g), ácido ascórbico (2 g), cloreto de colina (1 g), solução vitamínica (7,5 mL), nipagin (3 g), formaldeído 40% (2 mL), tetrex (0,4 g), ágar (20 g) e água destilada (1,1 L).

Após cerca de 15 dias da inoculação, as larvas dos parasitoides perfuravam o tegumento do hospedeiro para saída e após 5 dias formavam-se os casulos. Esses casulos, de coloração branca, eram retirados das placas e transferidos para novos recipientes plásticos com tampa para emergência dos adultos.

3.2.4. Inseticidas avaliados

Os estudos foram realizados com alguns inseticidas registrados junto ao Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA) para o controle de *D. saccharalis* em cana-de-açúcar (Tabela 1) (AGROFIT, 2016). O tratamento controle foi constituído somente de água destilada.

Tabela 1. Nomes comercial e técnico, grupo químico e concentração dos inseticidas utilizados para controle de *Diatraea saccharalis* em cana-de-açúcar, que foram avaliados quanto a seletividade fisiológica para *Cotesia flavipes*

Nome Comercial	Nome Técnico	Grupo Químico	Concentração (g ou mL do p.c. 100 L ⁻¹)
Altacor® 350 WG	Clorantniliprole	Diamida	24
Ampligo® 50+100 SC	Lambda-cialotrina+ clorantniliprole	Piretroide+ diamida	67
Atabron® 50 EC	Clorfluazuron	Benzoilureia	170
Certero® 480 SC	Triflumuron	Benzoilureia	27
Engeo™ Pleno 106+141 SC	Lambda-cialotrina+ tiametoxam	Piretroide+ neonicotioide	100
Mimic® 240 SC	Tebufenozida	Diacilhidrazina	200
Rimon® 100 EC	Novaluron	Benzoilureia	50

*EC – concentrado emulsionável; SC – suspensão concentrada; WG – grânulo dispersível em água. **p.c. – produto comercial.

3.2.5. Efeito letal

3.2.5.1. Efeito em fêmeas do parasitoide

Para avaliar o efeito dos inseticidas em fêmeas do parasitoide *C. flavipes*, utilizaram-se folhas de cana-de-açúcar da variedade RB84-7515. Em laboratório, discos de 3,3 cm de diâmetro foram confeccionados com o auxílio de uma tesoura. Os mesmos foram colocados em placas de Petri (3,5 cm de diâmetro) contendo uma solução composta por água e ágar (2,5%) para evitar ressecamento das folhas. As placas contendo os discos foram pulverizadas com solução de 2 mL de calda inseticida em torre de Potter ajustada a pressão de 15 lb pol⁻², assegurando a aplicação de $1,8 \pm 0,1$ mg de calda por cm² de folha conforme recomendações da IOBC/WPRS (“International Organization for Biological and Integrated Control of Noxious Animals and Plants, West Palearctic Regional Section”) (HASSAN, 1994). Foram avaliados sete inseticidas recomendados para o controle da broca-da-cana e um tratamento controle (água destilada). Utilizaram-se as maiores doses recomendadas pelos fabricantes.

Após aplicação, as placas ficaram por duas horas em temperatura ambiente para secagem dos resíduos dos inseticidas. Posteriormente, 12 fêmeas adultas de *C. flavipes* copuladas com idade de 24 horas foram anestesiadas com CO₂ por 10 segundos e introduzidas em cada placa contendo os tratamentos. Cada placa foi fechada com tecido tipo *voile* sendo fixado pela tampa da placa contendo um orifício (2,5 cm de diâmetro) na região central permitindo a aeração para evitar acúmulo de vapores tóxicos. Na área central do tecido, foi oferecida uma gotícula de mel para servir de alimento aos parasitoides. As placas foram acondicionadas em sala aclimatizada com temperatura de 25 ± 1 °C, umidade relativa do ar de $70 \pm 10\%$ e fotofase de 14 horas. O delineamento estatístico adotado foi o inteiramente casualizado com cinco repetições.

O efeito letal foi avaliado 24 horas após a exposição dos parasitoides aos respectivos tratamentos, contando-se o número de insetos mortos no interior de cada placa. Foram considerados mortos os insetos que não apresentaram estímulo ao toque de um pincel de cerdas macias.

3.2.5.2. Efeito em machos e fêmeas de *C. flavipes*

O mesmo procedimento citado no subitem 3.2.5.1 foi realizado, porém, com ambos os sexos do parasitoide. Entretanto, neste caso, foi avaliado se ocorreram diferenças de resposta do efeito letal dos tratamentos em machos e fêmeas. Para cada tratamento foram realizadas cinco repetições, sendo que, em cada uma, utilizadas seis fêmeas e seis machos de *C. flavipes*. O delineamento estatístico foi o inteiramente casualizado.

O efeito letal foi avaliado 24 horas após a exposição dos parasitoides aos respectivos tratamentos, contando-se o número de insetos mortos no interior de cada placa. Foram considerados mortos os insetos que não apresentaram estímulo ao toque de um pincel de cerdas macias.

3.2.5.3. Efeito letal em fêmeas de *C. flavipes* após parasitismo de lagartas de *D. saccharalis*

Neste bioensaio, objetivou-se avaliar se espécimes de *C. flavipes* após parasitarem ficam mais vulneráveis aos inseticidas, por terem tido um gasto energético antes da exposição aos resíduos. Dessa maneira, realizou-se o procedimento citado no tópico 3.2.5.1. Em seguida, 10 fêmeas do parasitoide com 24 horas de idade parasitaram e foram introduzidas em cada placa contendo os tratamentos como no subitem 3.2.5.1. Avaliou-se o efeito dos inseticidas. O delineamento estatístico adotado foi inteiramente casualizado com cinco repetições, em que cada placa constituiu uma repetição.

O efeito letal foi avaliado 24 horas após a exposição dos parasitoides aos respectivos tratamentos, contando-se o número de insetos mortos no interior de cada placa. Foram considerados mortos os insetos que não apresentaram estímulo ao toque de um pincel de cerdas macias.

3.2.5.4. Efeito letal de inseticidas com ingredientes ativos (i.a.) separados

Os inseticidas Ampligo® (lambda-cihalotrina + clorantpriliprole) e Engeo™ Pleno (lambda-cihalotrina + tiametoxam) são inseticidas que contêm em sua formulação dois ingredientes ativos. Sendo assim, foram estudados inseticidas contendo os i.a. separadamente.

O mesmo procedimento citado no tópico 3.2.5.1 foi realizado. O delineamento estatístico foi inteiramente casualizado com cinco repetições e 12 adultos por repetição. O efeito letal foi avaliado 24 horas após a exposição dos parasitoides aos respectivos tratamentos,

contando-se o número de insetos mortos no interior de cada placa. Foram considerados mortos os insetos que não apresentaram estímulo ao toque de um pincel de cerdas macias.

Para Foram utilizados três inseticidas comerciais contendo os i.a. e testaram-se as mesmas doses utilizadas nos inseticidas contendo as misturas de i.a. (Tabela 2).

Tabela 2. Nomes comercial e técnico, grupo químico e concentração dos inseticidas avaliados quanto a seletividade fisiológica para *Cotesia flavipes* para análise dos ingredientes ativos separadamente.

Nome Comercial	Nome Técnico	Grupo Químico	Concentração (g ou mL do p.c. 100 L ⁻¹)
Actara® 250 WG	Tiametoxam	Neonicotinoide	56
Premio® 200 SC	Cloranthraniliprole	Diamida	33
Karate® 50 CS	Lambda-cialotrina	Piretroide	67

*SC – suspensão concentrada; WG – grânulo dispersível em água; CS - suspensão de encapsulado.

**p.c. – produto comercial.

3.2.5.5. Classificação dos inseticidas segundo escala de toxicidade estabelecida pela IOBC/WPRS

Os produtos foram enquadrados em classes de toxicidade conforme critérios estabelecidos pela “International Organization for Biological and Integrated Control of Noxious Animals and Plants, West Palearctic Regional Section” (IOBC/WPRS). Os valores da mortalidade foram corrigidos (Mc) utilizando a fórmula de Abbott (1925), em função do número de insetos vivos observados no tratamento controle. De acordo com os valores de Mc obtidos, os produtos foram, então, enquadrados em classes toxicológicas: classe 1 - inócuos ($Mc < 25\%$); classe 2 - levemente nocivos ($25 \leq Mc < 50\%$); classe 3 - moderadamente nocivos ($50 \leq Mc < 75\%$), e classe 4 - nocivos ($\geq 75\%$), conforme escala porposta pela IOBC para estudos de laboratório (HASSAN, 1997).

3.2.6. Análises estatísticas

Dados de mortalidade obtidos em todos os bioensaios foram submetidos ao GLM (Modelos Lineares Generalizados) utilizando distribuição do tipo “binomial” (R DEVELOPMENT CORE TEAM, 2016). A qualidade do ajuste foi avaliada pelos gráficos de probabilidade semi-normais com um envelope de simulação (DEMÉTRIO; HINDE; MORAL, 2014).

3.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Em todos os bioensaios em que se avaliou o efeito letal após 24 h, os inseticidas Ampligo® e Engeo™ Pleno causaram 100% de mortalidade aos espécimes do parasitoide *C. flavipes* e foram classificados como nocivos (classe 4). Os demais inseticidas apresentaram resultados de mortalidade menor que 25%, enquadrando-se como inócuos (classe 1) (Tabelas 3, 4, 5 e 6). No bioensaio com os i.a. dos inseticidas nocivos testados separadamente, foi possível verificar que, para Ampligo®, apenas lambda-cialotrina (Karate® 50 CS) causou alta mortalidade. Porém, para Engeo™ Pleno, tanto os ingredientes ativos lambda-cialotrina (Karate® 50 CS) como tiametoxam (Actara® 250 WG) foram altamente tóxicos a este inimigo natural (100% de mortalidade) (Tabela 4).

Lambda-cialotrina e tiametoxam pertencem aos grupos químicos piretroide e neonicotinoide, respectivamente. São inseticidas neurotóxicos com amplo espectro de ação e podem causar morte não só dos insetos-praga como também dos insetos benéficos (DESNEUX; DECOURTYE; DELPUECH, 2007; CEUPPENS et al., 2015; MILLS et al., 2016).

Lambda-cialotrina possui alta lipofilicidade, visto que apresenta log Kow 7 e peso molecular 449,9 g mol⁻¹, o que pode ter contribuído para sua entrada através da cutícula durante o contato dos espécimes com as folhas tratadas. Quando no sistema nervoso central, o piretroide se liga aos canais de sódio de voltagem-dependente no sistema nervoso provocando sua abertura e também atua nos canais de cálcio e cloreto, levando o inseto à uma hiperexcitação, paralisia e, posteriormente, morte (BURR; RAY, 2004; EL-DEMERDASH, 2007).

Tabela 3. Média do número de fêmeas vivas ($\pm$ erro padrão) de *Cotesia flavipes* (antes do parasitismo) 24 horas após contato direto com discos de folhas de cana-de-açúcar tratados, mortalidade corrigida (%) e classe de toxicidade dos compostos avaliados.

Tratamento	Número de insetos vivos (n=12) ¹	Mc ²	Classe ³
Controle	11,6 $\pm$ 0,4	-	-
Altacor® 350 WG	11,2 $\pm$ 0,8	3,7	1
Ampligo® 50+100 SC	0,0 $\pm$ 0,0 *	100,0	4
Atabron® 50 EC	10,8 $\pm$ 0,8	7,2	1
Certero® 480 SC	11,4 $\pm$ 0,6	2,1	1
Engeo™ Pleno 106+141 SC	0,0 $\pm$ 0,0 *	100,0	4
Mimic® 240 SC	11,0 $\pm$ 0,8	5,1	1
Rimon® 100 EC	11,4 $\pm$ 0,6	2,1	1
<i>P</i> valor > 0,05			

*Tratamentos foram excluídos da análise pela falta de variabilidade.

¹ Não houve diferença significativa de acordo com o modelo linear generalizado (GLM) com distribuição “binomial” ($P < 0,05$).

²Mc - mortalidade corrigida pela fórmula de Abbott (ABBOTT, 1925).

³Classe de toxicidade recomendada pela IOBC para estudos de laboratório, onde: classe 1 - inócuos ($Mc < 25\%$); classe 2 - levemente nocivos ($25 \leq Mc < 50\%$); classe 3 - moderadamente nocivos ($50 \leq Mc < 75\%$), e classe 4 - nocivos ($Mc \geq 75\%$) (HASSAN, 1997).

Tabela 4. Média do número de insetos vivos ($\pm$ erro padrão) de *Cotesia flavipes* (n=12) 24 horas após contato direto com discos de folhas de cana-de-açúcar tratados com inseticidas contendo ingredientes ativos separados, mortalidade corrigida (%) e classe de toxicidade dos compostos avaliados.

Tratamento	Número de insetos vivos (n=12) ¹	Mc ²	Classe ³
Controle	11,6 $\pm$ 0,8	-	-
Actara® 250 WG	0,0 $\pm$ 0,0 *	100,0	4
Ampligo® 50+100 SC	0,0 $\pm$ 0,0 *	100,0	4
Karate® 50 CS	0,0 $\pm$ 0,0 *	100,0	4
Engeo™ Pleno 106+141 SC	0,0 $\pm$ 0,0 *	100,0	4
Premio® 20 SC	11,2 $\pm$ 0,8	4,1	1
<i>P</i> valor > 0,05			

*Tratamentos foram excluídos da análise pela falta de variabilidade.

¹ Não houve diferença significativa de acordo com o modelo linear generalizado (GLM) com distribuição “binomial” ($P < 0,05$).

²Mc - mortalidade corrigida pela fórmula de Abbott (ABBOTT, 1925).

Classe de toxicidade recomendada pela IOBC para estudos de laboratório, onde: classe 1 - inócuos ($Mc < 25\%$); classe 2 - levemente nocivos ($25 \leq Mc < 50\%$); classe 3 - moderadamente nocivos ($50 \leq Mc < 75\%$), e classe 4 - nocivos ($Mc \geq 75\%$) (HASSAN, 1997).

Tabela 5. Média do número de fêmeas vivas ($\pm$ erro padrão) de *Cotesia flavipes* (n=10) que fizeram parasitismo, 24 horas após contato direto com discos de folhas de cana-de-açúcar tratados, mortalidade corrigida (%) e classe de toxicidade dos compostos avaliados.

Tratamento	Número de insetos vivos (n=10) ¹	Mc ²	Classe ³
Controle	9,2 $\pm$ 0,5	-	-
Altacor® 350 WG	10,0 $\pm$ 0,0 *	0,0	1
Ampligo® 50+100 SC	0,0 $\pm$ 0,0 *	100,0	4
Atabron® 50 EC	9,4 $\pm$ 0,8	0,0	1
Certero® 480 SC	9,8 $\pm$ 0,9	0,0	1
Engeo™ Pleno 106+141 SC	0,0 $\pm$ 0,0 *	100,0	4
Mimic® 240 SC	8,8 $\pm$ 0,9	4,3	1
Rimon® 100 EC	9,2 $\pm$ 0,7	0,0	1
<i>P</i> valor > 0,05			

*Tratamentos foram excluídos da análise pela falta de variabilidade.

¹ Não houve diferença significativa de acordo com o modelo linear generalizado (GLM) com distribuição “binomial” ($P < 0,05$).

²Mc - mortalidade corrigida pela fórmula de Abbott (ABBOTT, 1925).

³ Classe de toxicidade recomendada pela IOBC para estudos de laboratório, onde: classe 1 - inócuos ($Mc < 25\%$); classe 2 - levemente nocivos ($25 \leq Mc < 50\%$); classe 3 - moderadamente nocivos ($50 \leq Mc < 75\%$), e classe 4 - nocivos ($Mc \geq 75\%$) (HASSAN, 1997).

Tabela 6. Número de machos (n=6) e fêmeas (n=6) vivos, e de ambos os sexos ($\pm$ erro padrão) de *Cotesia flavipes* 24 horas após contato direto com discos de folhas de cana-de-açúcar tratados, mortalidade corrigida (%) e classe de toxicidade dos compostos avaliados.

Tratamento	Número de insetos vivos			Mc ²	Classe ³
	Macho	Fêmea	Média ¹		
Controle	5,2	6,0	5,6 $\pm$ 0,8	-	-
Altacor® 350 WG	5,8	5,2	5,5 $\pm$ 1,0	1,6	1
Ampligo® 50+100 SC	0,0	0,0	0,0 $\pm$ 0,0 *	100,0	4
Atabron® 50 EC	5,8	5,6	5,7 $\pm$ 0,6	0,0	1
Certero® 480 SC	5,4	5,8	5,6 $\pm$ 0,8	0,0	1
Engeo™ Pleno 106+141 SC	0,0	0,0	0,0 $\pm$ 0,0 *	100,0	4
Mimic® 240 SC	5,6	6,0	5,8 $\pm$ 0,8	0,0	1
Rimon® 100 EC	5,8	5,6	5,7 $\pm$ 0,8	0,0	1
<i>P</i> valor > 0,05					

*Tratamentos foram excluídos da análise pela falta de variabilidade.

¹ Não houve diferença significativa de acordo com o modelo linear generalizado (GLM) com distribuição “binomial” ($P < 0,05$).

²Mc - mortalidade corrigida pela fórmula de Abbott (ABBOTT, 1925).

³ Classe de toxicidade recomendada pela IOBC para estudos de laboratório, onde: classe 1 - inócuos ($Mc < 25\%$); classe 2 - levemente nocivos ($25 \leq Mc < 50\%$); classe 3 - moderadamente nocivos ($50 \leq Mc < 75\%$), e classe 4 - nocivos ($Mc \geq 75\%$) (HASSAN, 1997).

Alguns autores relataram efeitos negativos, semelhantes aos do presente estudo, em *Cotesia* spp., com inseticidas contendo lambda-cialotrina (TILLMAN; MULROONEY, 2000; HASEEB; LIU; JONES, 2004; MUZEYI; JEMBERE, 2005; ANJUM; WRIGHT, 2016). Na concentração subletal de 0,025% (Karate® 50 EC) da dose recomendada de campo, este i.a. foi testado nos estágios de desenvolvimento de *C. flavipes*, em aplicação tópica no hospedeiro *Chilo partellus* (Swinhoe) (Lepidoptera: Pyralidae), aos 4, 8 e 12 dias após o parasitismo de *C. flavipes*. Estes dias foram referentes as fases de ovo, primeiro, segundo e terceiro ínstaes, respectivamente. Em todas as fases o inseticida não afetou o hospedeiro, mas causou 100% de mortalidade aos parasitoide (MUZEYI; JEMBERE, 2005).

Resultados semelhantes foram obtidos por Mills et al. (2016) que, estudando o efeito de lambda-cialotrina em predadores e parasitoides presentes em pomares de macieira, pereira e nogueira, relataram toxicidade aguda aos parasitoides *Aphelinus mali* (Haldeman) (Hymenoptera: Aphelinidae) e *Trioxys pallidus* (Haliday) (Hymenoptera: Braconidae). Para todos esses insetos benéficos a mortalidade foi superior a 80% em pelo menos um estágio do ciclo de vida.

Actara® 250 WG causou alta mortalidade de *C. flavipes* via contato, confirmando que ambos i.a. presentes no inseticida Engeo™ Pleno são responsáveis pelo efeito letal neste parasitoide. Apesar de agir no sistema nervoso, tiametoxam é um inseticida sistêmico, que possui log Kow baixo (-0,13), o que lhe confere a capacidade de translocar-se via sistema vascular nas plantas, diferindo-o dos piretroides. Por esse motivo, é, prioritariamente, utilizado para controle de insetos sugadores, como afídeos, cigarrinhas e mosca branca. Agem como agonistas dos receptores nicotínicos de acetilcolina o que leva o inseto a sofrer hiperexcitação, paralisia e morte (TOMIZAWA; CASIDA, 2005).

Para uma outra espécie do gênero, *C. glomerata* L. (Hymenoptera: Braconidae), a mortalidade foi de 19,0% quando houve aplicação de tiametoxam direta sobre adultos (ULLAH et al., 2016). Entretanto, para o braconídeo *Aphidius gifuensis* (Ashmead) (Hymenoptera: Braconidae) exposto aos resíduos deste neonicotinoide em placas de vidro, a mortalidade foi de 95,8% (OHTA; TAKEDA, 2015). Possivelmente, essas diferenças se dão pelas formas de exposição do inseticida.

Nauen et al. (2003) demonstraram que tiametoxam, quando na superfície das folhas de algodão, causa toxicidade aguda em larvas de *Spodoptera frugiperda* (Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) e isso se dá pela metabolização de um outro neonicotinoide, conhecido como clotianidina, mais lipofílico e menos solúvel em água. Supõe-se que o mesmo acontece quando em superfície de folhas de cana-de-açúcar, provocando alta mortalidade ao endoparasitoide.

Outras formas de exposição de tiametoxam aos insetos benéficos *Trichogramma galloi* Zucchi (Hymenoptera: Trichogrammatidae), *Trichogramma chilonis* Ishii (Hymenoptera: Trichogrammatidae), *Chrysoperla carnea* (Stephens) (Neuroptera: Chrysopidae), *Orius insidiosus* Say (Hemiptera: Anthocoridae), *Serangium japonicum* Chapin (Coleoptera: Coccinellidae) e *Apis mellifera carnica* (Hymenoptera: Apidae) foram registradas. Estes autores explicitaram que, além de efeito letal direto, observado no presente estudo, tiametoxam pode provocar efeitos subletais quando não há toxicidade aguda (COSTA et al., 2014; GONTIJO et al., 2014; KO et al., 2015; YAO et al., 2015; CAMARGO et al., 2017; GAJGER; SAKAČ; GREGORC, 2017).

Os inseticidas considerados inócuos a *C. flavipes* foram Altacor® (clorantraniliprole), Premio® (clorantraniliprole), Atabron® (clorfluazuron), Certero® (triflumuron), Mimic® (tebufenozida) e Rimon® (novaluron). Todos estes, exceto clorantraniliprole, são reguladores de crescimento de insetos e agem no sistema endócrino e fases imaturas, o que pode ter contribuído para a inocuidade nos adultos. Além disso, possuem log kow entre 4,2 e 5,8, o que lhes confere alta lipofilicidade, e, portanto, há menor chance de penetração na cutícula através desta rota de exposição.

Premio® e Altacor® são inseticidas de mesmo ingrediente ativo e do grupo das diamidas, mas em concentração e formulação diferentes, sendo Premio® na formulação suspensão concentrada (SC), com 20% de clorantraniliprole, e Altacor® na formulação granulado dispersível (WG), com 35% de concentração. Apesar dessa diferença de formulação e concentração, ambos foram classificados como inócuos (classe 1) ao parasitoide *C. flavipes* (Tabelas 3 e 4), indicando que não há efeito dos inertes que fazem parte das duas formulações.

Como no presente estudo, clorantraniliprole não apresentou toxicidade aguda a outros insetos benéficos (MARTINOU; SERAPHIDES; STAVRINDES, 2014; FERNANDES et al., 2016; SILVA et al., 2017). Espécimes do endoparasitoide *Cotesia chilonis* (Matsumura) (Hymenoptera: Braconidae) foram expostos à material inerte contendo a maior concentração de campo e a mortalidade foi inferior a 30%. Em bioensaio de ingestão, com lagartas do hospedeiro *Chilo suppressalis* (Walker) (Lepidoptera: Crambidae) submetidas à aplicação tópica da CL₅₀, também houve baixa toxicidade (HUANG; WU; YE, 2011).

Para os reguladores de crescimento, pesquisadores relataram baixa ou ausência de toxicidade em adultos de diversos parasitoides nas maiores concentrações de campo. Ação residual de clorfluazuron em tubos de vidro não afetou a sobrevivência de *Cotesia plutellae* (Kurdjumov) (Hymenoptera: Braconidae) (HASEEB; AMANO, 2002; SHI et al., 2004). Triflumuron pulverizado em placas de vidro, por meio de torre de Potter, foi inócuo a duas

espécies de *Trichogramma* (GOULART et al., 2012). Tebufenozida foi inócuo ao braconídeo *Psytalia* (*Opius*) *concolor* Szèpligueti (Hymenoptera: Braconidae) por exposição oral e de contato (BENGOCHEA et al., 2012). Novaluron foi seletivo ao parasitoide *T. pallidus* via contato (AMARASEKARE; SHEARER; MILLS, 2016).

Os diferentes bioensaios, para verificar efeito letal em fêmeas antes do parasitismo (Tabela 3) e fêmeas depois do parasitismo (Tabela 5), foram baseados na hipótese de que existe um gasto energético alto ao parasitarem e o efeito dos inseticidas poderia ser mais evidente, considerando que estariam mais suscetíveis à algum tipo de estresse. Entretanto, não ocorreram diferenças e todos foram classificados como inócuos (classe 1).

O mesmo ocorreu na avaliação de mortalidade de machos e fêmeas (Tabela 6), demonstrando que o sexo de *C. flavipes* não interfere na avaliação de efeito letal que os inseticidas causam. A classificação dos inseticidas Engeo™ Pleno 106+141 SC, Ampligo® 50+100 SC, Altacor® 350 WG, Atabron® 50 EC, Certero® 480 SC, Mimic® 240 SC e Rimon® 100 EC foi a mesma para todos os bioensaios.

3.4. CONCLUSÃO

- Os inseticidas Engeo™ Pleno 106+141 SC, Ampligo® 50+100 SC, Karate® 50 CS e Actara® 250 WG não são seletivos ao parasitoide *C. flavipes*;

- Os inseticidas Altacor® 350 WG, Atabron® 50 EC, Certero® 480 SC, Mimic® 240 SC, Rimon® 100 EC e Premio® 20 SC não causam efeito letal à fase adulta do parasitoide.

REFERÊNCIAS

- ABBOTT, W. S. A method of computing the effectiveness of an insecticide. **Journal of Economic Entomology**, v. 18, p. 265-266, 1925.
- AGROFIT, 2016. Sistema de agrotóxicos fitossanitários. Disponível em: http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons. Acessado em 20 de março de 2016.
- AMARASEKARE, K. G.; SHEARER, P. W.; MILLS, N. J. Testing the selectivity of pesticide effects on natural enemies in laboratory bioassays. **Biological Control**, v. 102, p. 7-16, 2016.
- ANJUM, F.; WRIGHT, D. Relative toxicity of insecticides to the crucifer pests *Plutella xylostella* and *Myzus persicae* and their natural enemies. **Crop Protection**, v. 88, p. 131-136, 2016.
- BENGOCHEA, P.; CHRISTIAENS, O.; AMOR, F.; VIÑUELA, E.; ROUGÉ, P.; MEDINA, P.; SMAGGHE, G. Ecdysteroid receptor docking suggests that dibenzoylhydrazine-based insecticides are devoid of any deleterious effect on the parasitic wasp *Psytalia concolor* (Hym. Braconidae). **Pest management science**, v. 68, n. 7, p. 976-985, 2012.
- BURR, S. A.; RAY, D. E. Structure-activity and interaction effects of 14 different pyrethroids on voltage-gated chloride ion channels. **Toxicological Sciences**, v. 77, n. 2, p. 341-346, 2004.
- CAMARGO, C.; HUNT, T. E.; GIESLER, L. J.; SIEGFRIED, B. D. Thiamethoxam Toxicity and Effects on Consumption Behavior in *Orius insidiosus* (Hemiptera: Anthocoridae) on Soybean. **Environmental Entomology**, v. 46, n. 3, p. 693-699, 2017.
- CEUPPENS, B.; EERAERTS, M.; VLEUGELS, T.; CNOPS, G.; ROLDAN-RUIZ, I.; SMAGGHE, G. Effects of dietary lambda-cyhalothrin exposure on bumblebee survival, reproduction, and foraging behavior in laboratory and greenhouse. **Journal of pest science**, v. 88, n. 4, p. 777-783, 2015.
- COSTA, M. A.; MOSCARDINI, V. F.; DA COSTA GONTIJO, P.; CARVALHO, G. A.; DE OLIVEIRA, R. L.; DE OLIVEIRA, H. N. Sublethal and transgenerational effects of insecticides in developing *Trichogramma galloi* (Hymenoptera: Trichogrammatidae). **Ecotoxicology**, v. 23, n. 8, p. 1399-1408, 2014.
- DEMÉTRIO, C. G. B.; HINDE, J.; MORAL, R. A. Models for Overdispersed Data in Entomology. In: Ferreira, C. P.; Godoy, W. A. C., editors. **Ecological Modelling Applied to Entomology**, Springer; p. 219-259, 2014.

- DESNEUX, N.; DECOURTYE, A.; DELPUECH, J. M. The sublethal effects of pesticides on beneficial arthropods. **Annual Review of Entomology**, v. 52, p. 81-106, 2007.
- EL-DEMERDASH, F. M. Lambda-cyhalothrin-induced changes in oxidative stress biomarkers in rabbit erythrocytes and alleviation effect of some antioxidants. **Toxicology in vitro**, v. 21, n. 3, p. 392-397, 2007.
- FERNANDES, M. E. S.; ALVES, F. M.; PEREIRA, R. C.; AQUINO, L. A.; FERNANDES, F. L.; ZANUNCIO, J. C. Lethal and sublethal effects of seven insecticides on three beneficial insects in laboratory assays and field trials. **Chemosphere**, v. 156, p. 45-55, 2016.
- FONSECA, A. P. P.; MARQUES, E. J.; TORRES, J. B.; SILVA, L. M.; SIQUEIRA, H. I. A. Lethal and sublethal effects of lufenuron on sugarcane borer *Diatraea flavipennella* and its parasitoid *Cotesia flavipes*. **Ecotoxicology**, v. 24, n. 9, p. 1869- 1879, 2015.
- GAJGER, I. T.; SAKAČ, M.; GREGORC, A. Impact of thiamethoxam on honey bee queen (*Apis mellifera carnica*) reproductive morphology and physiology. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 99, n. 3, p.297-302, 2017.
- GONTIJO, P. C.; MOSCARDINI, V. F.; MICHAUD, J. P.; CARVALHO, G. A. Non-target effects of chlorantraniliprole and thiamethoxam on *Chrysoperla carnea* when employed as sunflower seed treatments. **Journal of pest science**, v. 87, n. 4, p.711-719, 2014.
- GOULART, R. M.; VOLPE, H. X.; VACARI, A. M.; THULER, R. T.; DE BORTOLI, S. A. Insecticide selectivity to two species of *Trichogramma* in three different hosts, as determined by IOBC/WPRS methodology. **Pest management science**, v. 68, n. 2, p. 240-244, 2012.
- HASSAN, S. A. Activities of the IOBC/WPRS Working Group "Pesticides and Beneficial Organisms". **IOBC/WPRS Bulletin**, v. 17, n. 10, p. 1-5, 1994.
- HASSAN, S. A. Métodos padronizados para testes de seletividade, com ênfase em *Trichogramma*. In: PARRA, J. R. P.; ZUCCHI, R. A. (Eds.) **Trichogramma e o controle biológico aplicado**, n. 63296, p. 857. Piracicaba: Fealq, 1997.
- HASEEB, M.; AMANO, H. Effects of contact, oral and persistent toxicity of selected pesticides on *Cotesia plutellae* (Hym., Braconidae), a potential parasitoid of *Plutella xylostella* (Lep., Plutellidae). **Journal of Applied Entomology**, v. 126, n. 1, p.8-13, 2002.
- HASEEB, M.; LIU, T. X.; JONES, W. A. Effects of selected insecticides on *Cotesia plutellae*, endoparasitoid of *Plutella xylostella*. **BioControl**, v. 49, n. 1, p. 33-46, 2004.
- HENSLEY, S. D.; HAMMOND, A. H. Laboratory techniques for rearing the sugar cane borer on an artificial diet. **Journal of Economic Entomology**, v. 61, p. 1742-1743, 1968.

- HUANG, J.; WU, S.; YE, G. Evaluation of lethal effects of chlorantraniliprole on *Chilo suppressalis* and its larval parasitoid, *Cotesia chilonis*. **Agricultural Sciences in China**, v. 10, n. 7, p. 1134-1138, 2011.
- KO, K.; LIU, Y.; HOU, M.; BABENDREIER, D.; ZHANG, F.; SONG, K., Toxicity of insecticides targeting rice planthoppers to adult and immature stages of *Trichogramma chilonis* (Hymenoptera: Trichogrammatidae). **Journal of Economic Entomology**, v. 108, n. 1, p.69-76, 2015.
- MARTINOU, A. F.; SERAPHIDES, N.; STAVRINDES, M. C. Lethal and behavioral effects of pesticides on the insect predator *Macrolophus pygmaeus*. **Chemosphere**, v. 96, p. 167-173, 2014.
- MENDONÇA FILHO, A. F.; RISCO, S. H. B.; COSTA J. M. B. Introduction and rearing of *Apanteles flavipes* Cameron (Hymenoptera: Braconidae) in Brazil. **In Proceedings of the 19th Congress of International Society of Sugarcane Technologists**, São Paulo, 1977.
- MILLS, N. J.; BEERS, E. H.; SHEARER, P. W.; UNRUH, T. R.; AMARASEKARE, K. G. Comparative analysis of pesticide effects on natural enemies in western orchards: a synthesis of laboratory bioassay data. **Biological Control**, v. 102, p. 17-25, 2016.
- MUZEYI, S. S.; JEMBERE, B. Effects of botanicals, a synthetic insecticide and an insect growth regulator on survival and development of the parasitoid wasp *Cotesia flavipes* parasitizing the stem-boring moth *Chilo partellus*. **International journal of pest management**, v. 51, n. 1, p. 25-30, 2005.
- NAUEN, R.; EBBINGHAUS-KINTSCHER, U.; SALGADO, V. L.; KAUSSMANN, M. Thiamethoxam is a neonicotinoid precursor converted to clothianidin in insects and plants. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 76, n. 2, p.55-69, 2003.
- OHTA, I.; TAKEDA, M. Acute toxicities of 42 pesticides used for green peppers to an aphid parasitoid, *Aphidius gifuensis* (Hymenoptera: Braconidae), in adult and mummy stages. **Applied Entomology and Zoology**, v. 50, n. 2, p. 207-212, 2015.
- OVERHOLT, W. A.; NGI-SONG, A. J.; OMWEGA, C. O.; KIMANI, S. W.; MBAPILA, J.; SALLAM, M. N.; OFOMATA, V. A review of the introduction and establishment of *Cotesia flavipes* Cameron in East Africa for biological control of cereal stemborers. **Insect Science and its Application**, v.17, p. 79-88, 1997.
- PARRA, J. R. P; BOTELHO, P. S. M; PINTO, A. S. Bioecological control of pests as key component of sustainable sugarcane production, cap 20, p. 441- 450. In: CORTEZ, L. A. B. (ED.), Sugarcane bioethanol R & D for productivity and sustainability. **Blicher**, São Paulo, 2010.

- R, DEVELOPMENT CORE TEAM. **R: A Language and Environment for Statistical Computing**. Version 3.2.5. Vienna, Austria: R Foundation for Statistical Computing, 2016.
- RIPPER, W. E.; GREENSLADE, R. M.; HARTLEY, G. S. Selective insecticides and biological control. **Journal of Economic Entomology**, v. 44, n. 4, p. 448-459, 1951.
- SILVA, C. C. M.; MARQUES, E. J.; OLIVEIRA, J. V.; VALENTE, E. C. N. Preference of the parasitoid *Cotesia flavipes* (Cam.) (Hymenoptera: Braconidae) for *Diatraea* (Lepidoptera: Crambidae). **Acta Scientiarum Agronomy Maringá**, v. 34, n. 1, p. 23-27, 2012.
- SILVA, B. K. A., GODOY, M. S. D., LIMA, A. G. D., OLIVEIRA, A. K. S.; PASTORI, P. L. Toxicity of insecticides used in muskmelon on first-instar larvae of *Chrysoperla genanigra* Freitas (Neuroptera: Chrysopidae). **Revista Caatinga**, v. 30, n. 3, p. 662-669, 2017.
- SHI, Z. H.; GUO, S. J.; LIN, W. C.; LIU, S. S. Evaluation of selective toxicity of five pesticides against *Plutella xylostella* (Lep: Plutellidae) and their side-effects against *Cotesia plutellae* (Hym: Braconidae) and *Oomyzus sokolowskii* (Hym: Eulophidae). **Pest management science**, v. 60, n. 12, p.1213-1219, 2004.
- TILLMAN, P. G.; MULROONEY, J. E. Effect of selected insecticides on the natural enemies *Coleomegilla maculata* and *Hippodamia convergens* (Coleoptera: Coccinellidae), *Geocoris punctipes* (Hemiptera: Lygaeidae), and *Bracon mellitor*, *Cardiochiles nigriceps*, and *Cotesia marginiventris* (Hymenoptera: Braconidae) in cotton. **Journal of Economic Entomology**, v. 93, n. 6, p. 1638-1643, 2000.
- TOMIZAWA, M.; CASIDA, J. E. Neonicotinoid insecticide toxicology: mechanisms of selective action. **Annual Review of Pharmacology and Toxicology**, v. 45, p. 247-268, 2005.
- ULLAH, M. I.; ARSHAD, M.; ALI, S.; IFTIKHAR, Y.; MAHMOOD, S. U. effect of thiamethoxam and some botanical extracts on *Cotesia glomerata* L. (Braconidae: Hymenoptera): an endoparasitoid of *Pieris brassicae* (L.) (Pieridae: Lepidoptera). **Egyptian Journal of Biological Pest Control**, v. 26, n. 3, p. 545, 2016.
- VACARI, A. M.; BORTOLI, S. A.; BORBA, D. F.; MARTINS, M. I. E. G. Quality of *Cotesia flavipes* (Hymenoptera: Braconidae) reared at different host densities and the estimated cost of its commercial production. **Biological Control**, v. 63, n. 2, p. 102-106, 2012.
- YAO, F. L.; ZHENG, Y.; ZHAO, J. W.; DESNEUX, N.; HE, Y.X.; WENG, Q. Y. Lethal and sublethal effects of thiamethoxam on the whitefly predator *Serangium japonicum* (Coleoptera: Coccinellidae) through different exposure routes. **Chemosphere**, v. 128, p. 49-55, 2015.

4. EFEITOS SUBLETAIS DE INSETICIDAS USADOS PARA CONTROLE DA BROCA-DA-CANA *Diatraea saccharalis* (LEPIDOPTERA: CRAMBIDAE) NO PARASITOIDE *Cotesia flavipes* (HYMENOPTERA: BRACONIDAE)

Resumo

A broca *Diatraea saccharalis* (Fabricius) é uma praga-chave na cultura canavieira, podendo causar sérios prejuízos na produção. Dentre os métodos utilizados para redução da população desta espécie, o controle químico e o biológico se destacam. Inseticidas são pulverizados nas folhas para controle inicial das lagartas que se alimentam do parênquima foliar. No controle biológico, *Cotesia flavipes* (Cameron) é uma espécie liberada em campo de forma massal que tem a capacidade de parasitar lagartas já dentro do colmo. Entretanto, alguns inseticidas mesmo sendo considerados seletivos ao inimigo natural quanto ao efeito letal, podem causar efeitos subletais após contato residual. Em vista disso, este estudo teve a finalidade de determinar se inseticidas utilizados para controle da broca-da-cana podem causar efeitos subletais em *C. flavipes*. Os tratamentos foram clorantraniliprole (Altacor® 350 WG), clorfluazuron (Atabron® 50 EC), triflumuron (Certero® 480 SC), tebufenozide (Mimic® 240 SC), novaluron (Rimon® 100 EC) e controle (água destilada). O bioensaio foi realizado apenas com fêmeas do parasitoide. Discos da folha de cana-de-açúcar foram inseridos em placas de Petri (3,5 cm de diâmetro) contendo uma solução composta por [água:ágar]. Em seguida, as placas foram pulverizadas com os tratamentos em torre de Potter, conforme recomendações da IOBC/WPRS. Após aplicação, espécimes de *C. flavipes* foram anestesiados com CO₂ por 10 segundos e introduzidos em placas contendo os tratamentos, as quais foram fechadas com tecido *voile* e fixadas pelas tampas com orifício na região central para permitir a aeração. As placas foram acondicionadas em sala climatizada com temperatura de 25 ± 2 °C, UR 70 ± 10% e fotofase de 14 horas. Após 24 h, os espécimes foram transferidos para tubos de vidro. Em seguida, lagartas de quinto ínstar de *D. saccharalis* foram ofertadas para parasitismo de 20 fêmeas de cada tratamento, as quais foram individualizadas em tubos de vidro. Para avaliar a geração F₂, ofertaram-se lagartas de *D. saccharalis* de quinto ínstar para 20 fêmeas copuladas e com 24 h de idade da geração F₁ de cada tratamento. Os parâmetros avaliados foram longevidade da geração maternal e da F₁; número de casulos por lagarta, porcentagem de emergência, razão sexual, peso das massas de casulos e duração dos períodos entre ovo-casulo e casulo-adulto das gerações F₁ e F₂; e tamanho das tíbias posteriores de fêmeas da geração F₁. Os tratamentos não afetaram a longevidade em nenhuma das avaliações. Porém, Altacor®, Atabron®, Certero® e Rimon® reduziram o tamanho da tíbia posterior das fêmeas da geração F₁, Rimon® reduziu a razão sexual e Atabron® reduziu o peso das massas de casulos da geração F₂. Dessa forma, apenas Mimic® não causou efeito subletal e pode ser utilizado em programas de manejo para controle de *D. saccharalis* em associação ao controle biológico com uso de *C. flavipes*.

Palavras-chave: Contato residual; Efeito transgeracional; Inimigo natural; Seletividade

Abstract

The borer *Diatraea saccharalis* (Fabricius) is a key pest in the sugarcane crop, which can cause serious losses on production. Among the methods used to reduce the population of this species, chemical and biological control are used. Insecticides are sprayed on the leaves for initial control of caterpillars feeding on the leaf parenchyma. In biological control, the species *Cotesia flavipes* (Cameron) is a mass released field that has the ability to parasitize caterpillars inside the stem. However, some insecticides, even though they are considered selective to the natural enemy as to the lethal effect, can cause sublethal effects after residual contact. In view of this, the study had the purpose of determining if insecticides used to control the sugarcane borer can cause side effects in *C. flavipes*. The treatments were chlorantraniliprole (Altacor® 350 WG), chlorfluazuron (Atabron® 50 EC), triflumuron (Certo® 480 SC), tebufenozide (Mimic® 240 SC), novaluron (Rimon® 100 EC) and control (distilled water). The bioassay was performed with only females of *C. flavipes*. Sugarcane leaf discs were placed in Petri dishes (3.5 cm in diameter) containing a solution composed of [water:agar]. After that, the plates were sprayed with the Potter tower treatments as recommended by IOBC/WPRS. Then specimens of *C. flavipes* were anesthetized with CO₂ for 10 seconds and inserted into plates containing the treatments, which were closed with voile type fabric and affixed to the cover lid, with a hole in the central region to allow gas exchange. The plates were in a climate-controlled room with temperature of 25 ± 2 °C, RH $70 \pm 10\%$ and photophase of 14 hours. After 24 h, the specimens were transferred to glass tubes. Then, fifth instar caterpillars of *D. saccharalis* were offered to parasitism for 20 females of each treatment, which were individualized in glass tubes. To evaluate the F₂ generation, fifth instar *D. saccharalis* caterpillars were offered to 20 copulated females and 24 h old from the F₁ generation of each treatment. The parameters evaluated were maternal and F₁ longevity; number of cocoons per caterpillar, emergence percentage, sex ratio, weight of cocoons masses and duration of periods between egg-cocoon and cocoon-adult of the F₁ and F₂ generations; and size of the posterior tibia of F₁ females. Treatments did not affect longevity in any of the evaluations. However, chlorantraniliprole, chlorfluazuron, triflumuron and novaluron reduced the size of the posterior tibia of the F₁ generation females, novaluron reduced the sex ratio and chlorfluazuron reduce the weight of parasitoid pupa of the F₂ generation. Therefore, only Mimic® did not cause sublethal effect and can be used in management programs to control *D. saccharalis* in association with biological control with *C. flavipes*.

Keywords: Residual Contact; Transgenerational effect; Natural enemy; Selectivity

4.1. INTRODUÇÃO

Diatraea saccharalis (Fabricius) (Lepidoptera: Crambidae) é um inseto que pode ser encontrado causando danos à cultura canavieira em todo território brasileiro (DYAR; HEINRICH, 1927; MENDONÇA, 1996; CORTÉS et al., 2010). As lagartas desta praga se alimentam do parênquima foliar após a eclosão até a segunda ecdise e, em seguida, perfuram o colmo para se alimentarem e permanecem até o final da fase imatura (BOTELHO; MACEDO, 2002). Para reduzir a população da praga o método biológico tem sido realizado no Brasil desde

a implementação do microhimenóptero *Cotesia flavipes* (Cameron) (Hymenoptera: Braconidae) na década de 1970 (MENDONÇA FILHO; RISCO; COSTA, 1977).

Quando se deu início às liberações massais do parasitoide em campo, pesquisadores constataram redução das infestações da praga de 10 para 2% e consideraram o maior programa de controle biológico do mundo, com uma economia de cerca de 80 milhões de dólares no setor (VILELA et al., 1998). O controle com *C. flavipes* é realizado em mais de 3 milhões de hectares dos canaviais brasileiros (PARRA; BOTELHO; PINTO, 2010). E, apesar do sucesso do programa, *D. saccharalis* continua sendo a praga-chave da cultura, sendo que ao longo de um ano, é possível que ocorram até cinco gerações (FREITAS et al., 2004; DINARDO-MIRANDA; VASCONCELOS; LANDELL, 2011).

Com este cenário, o método químico passou a ser utilizado para controle das lagartas quando ainda estão nas folhas e diversos são os produtos fitossanitários registrados para seu controle. Dentre os principais grupos químicos de inseticidas estão as diamidas, os reguladores de crescimento de insetos (RCI), piretroides e neonicotinóides (AGROFIT, 2016). Entretanto, há o risco de os resíduos químicos destes produtos afetarem o desempenho do inimigo natural liberado em campo quando em contato com as folhas pulverizadas. Portanto, para uma melhor associação dos métodos para o manejo integrado de pragas (MIP) na cultura da cana-de-açúcar, é vantajoso que os produtos utilizados sejam seletivos ao parasitoide.

Pesquisadores demonstraram que o estudo de seletividade fisiológica considerando apenas o efeito letal não é o mais indicado, visto que os produtos químicos conhecidos pelo menor espectro de ação podem causar efeitos adversos. Os efeitos subletais na população maternal bem como de gerações seguintes como redução de longevidade, parasitismo, fecundidade, razão sexual e tamanho corporal devem ser levados em conta, uma vez que podem prejudicar o controle biológico (DESNEUX; DECOURTYE; DELPUECH, 2007; MEISSLE et al., 2010).

Estudos da seletividade de inseticidas considerados de baixo risco verificaram que podem haver efeitos subletais em populações de espécies do gênero *Cotesia*. Shi et al. (2004) observaram que a longevidade de adultos do parasitoide larval *Cotesia plutellae* (Kurdjumov) (Hymenoptera: Braconidae) em contato com resíduos de clorfluazuron após 48 h de exposição foi reduzida. Para a espécie *Cotesia ayerza* (Brèthes) (Hymenoptera: Braconidae), parasitoide larval do desfolhador de alfafa, houve redução da proporção de fêmeas com a ação indireta de extratos de frutos de *Melia azedarach* L. E lufenuron, do subgrupo químico das benzoilureias, aplicado de forma tópica no hospedeiro, prolongou a duração de desenvolvimento de ovo a casulo de *C. flavipes* após parasitismo das lagartas tratadas (FONSECA et al., 2015).

Contudo, pouco se sabe dos efeitos subletais de inseticidas considerados de baixo espectro de ação no endoparasitoide larval *C. flavipes* quando em contato com resíduos em folhas tratadas. Buscou-se com o presente trabalho estudar os efeitos subletais de cinco inseticidas dos grupos químicos das diamidas e RCI para controle da broca-da-cana em *C. flavipes* após contato residual de folhas contaminadas.

4.2. MATERIAL E MÉTODOS

4.2.1. Local e condições ambientais

A criação do parasitoide *C. flavipes* e de seu hospedeiro *D. saccharalis*, assim como os bioensaios, foram realizados no Laboratório de Biologia de Insetos e no Laboratório de Manejo Integrado de Pragas do Departamento de Entomologia e Acarologia da ESALQ/USP, em Piracicaba/SP, sob temperatura de 25 ± 2 °C, umidade relativa de $70 \pm 10\%$ e fotofase de 14 horas.

4.2.2. Criação e manutenção de *D. saccharalis*

A criação foi feita com a população já existente do Laboratório de Biologia de Insetos, Esalq/USP. A metodologia utilizada foi a mesma citada no subitem 3.2.2 do capítulo 3.

4.2.3. Criação e manutenção de *C. flavipes*

As populações de *C. flavipes* foram oriundas das já existentes do Laboratório de Biologia de Insetos Esalq/USP que foram obtidas da usina de cana-de-açúcar Iracema, do Grupo São Martinho, no estado de São Paulo. A metodologia utilizada foi a mesma citada no subitem 3.2.3 do capítulo 3.

4.2.4. Inseticidas avaliados

Os estudos foram realizados com os inseticidas registrados junto ao Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA) para o controle de *D. saccharalis* em cana-de-açúcar (Tabela 1) (AGROFIT, 2016). O tratamento controle foi constituído somente de água destilada.

Tabela 1. Nomes comercial e técnico, grupo químico e concentração dos inseticidas utilizados para controle de *Diatraea saccharalis* em cana-de-açúcar, que foram avaliados quanto a seletividade fisiológica para *Cotesia flavipes*

Nome Comercial	Nome Técnico	Grupo Químico	Concentração (g ou mL do p.c. 100 L ⁻¹)
Altacor® 350 WG	Clorantraniliprole	Diamida	24
Atabron® 50 EC	Clorfluazuron	Benzoilureia	170
Certero® 480 SC	Triflumuron	Benzoilureia	27
Mimic® 240 SC	Tebufenozida	Diacilhidrazina	200
Rimon® 100 EC	Novaluron	Benzoilureia	50

*EC – concentrado emulsionável; SC – suspensão concentrada; WG – grânulo dispersível em água. **p.c. – produto comercial.

4.2.5. Efeito subletal de inseticidas em *C. flavipes*

Foram estudados apenas os inseticidas que foram classificados como inócuos (classes 1) nos testes de efeito letal (mortalidade < 50% segundo critérios propostos pela IOBC/WPRS).

As fêmeas de *C. flavipes* que sobreviveram à exposição de resíduos de inseticidas no ensaio com fêmeas (subitem 3.2.5.1, capítulo 3) foram transferidas para tubos de vidro. Em seguida, foram selecionadas, aleatoriamente, 20 fêmeas sobreviventes de cada tratamento (geração maternal). Para cada fêmea, foi oferecida uma lagarta de *D. saccharalis* de quinto ínstar para parasitismo. A lagarta parasitada foi mantida em placa de Petri de acrílico com tampa (6 cm de diâmetro) contendo dieta de realimentação (4,5 g) (subitem 3.2.2, capítulo 3) até a formação de casulos dos parasitoides e, em seguida, foram descartadas. As fêmeas que parasitaram foram mantidas individualmente em tubos de vidro (2,0 cm de diâmetro × 8,5 cm de altura) com uma gotícula de mel para alimentação e avaliou-se diariamente a longevidade.

Após a formação dos casulos de *C. flavipes* (geração F₁), os mesmos foram retirados das placas e colocados em tubos de vidro (2,0 cm de diâmetro × 8,5 cm de altura) contendo mel como alimento, e, 24 horas após à emergência (período de maturação sexual), os adultos que emergiram de cada repetição foram acondicionados juntos para cópula e, posteriormente, retirou-se 20 fêmeas para avaliação do parasitismo e longevidade. Novamente, foi oferecida uma lagarta de *D. saccharalis* de quinto ínstar para parasitismo (para obtenção da F₂), as quais foram mantidas nas mesmas condições citadas anteriormente.

Após a emergência, tanto das gerações F₁ como F₂, avaliou-se a razão sexual de acordo com o dimorfismo sexual das antenas (MOHYUDDIN, 1971), emergência, número de casulos

por lagarta, peso das massas de casulos e o tamanho da tíbia direita posterior das fêmeas da geração F₁ que realizaram parasitismo.

Avaliou-se a longevidade das fêmeas da geração maternal. Na geração F₁ os parâmetros avaliados foram longevidade, quantidade de casulos por lagarta, emergência, razão sexual, peso das massas de casulos, duração dos períodos entre ovo-casulo e casulo-adulto e tamanho da tíbia direita posterior. Na geração F₂, avaliaram-se os parâmetros quantidade de casulos por lagarta, emergência, razão sexual, peso das massas de casulos e duração dos períodos entre ovo-casulo e casulo-adulto.

Para avaliar o efeito dos tratamentos no tamanho do corpo dos insetos, 20 fêmeas da geração F₁ de cada tratamento, que realizaram parasitismo e foram individualizadas anteriormente para avaliação da longevidade, foram armazenadas após a morte em tubos tipo *ependorf* contendo solução de álcool 70%. Após uma semana, foram feitas lâminas com cada fêmea, as quais passaram por processo de clarificação baseado na metodologia de preparação para montagem de espécimes de *Trichogramma* sp. (QUERINO; ZUCCHI, 2011). Após retiradas dos tubos contendo álcool 70%, os espécimes foram colocados, separadamente, em solução de hidróxido de potássio (KOH) a 10% por 12 horas, o qual é usado para clarear e amolecer os indivíduos para facilitar sua manipulação no processo de montagem. Em seguida, cada fêmea passou por imersão em água destilada por 10 minutos. Posteriormente, ficaram por uma hora em ácido acético glacial e, por fim, foi feita a montagem das lâminas. Cada lâmina (25 × 75 mm e 1-1,2 mm de espessura) foi identificada com uma etiqueta no lado esquerdo contendo informações do tratamento e repetição. No centro da mesma, aplicou-se uma gota de solução de cloreto de sódio a 0,9% e, com pincel de cerdas macias, cada inseto foi posicionado de forma que fosse possível observar a tíbia posterior direita.

Para medir o tamanho da tíbia foi utilizado um microscópio óptico de luz (Zeiss®, magnitude-10×) ao qual estava acoplada câmera (IS300 – Eureka Bel® 3.0 MP). Para as medições utilizou-se o software Bel Capture (versão 3.0).

Figura 1. Medição da tíbia posterior direita de um espécime de *Cotesia flavipes* em lâmina. A linha vermelha indica onde se fez a medição de acordo com o software Bel Capture 3.0.

4.2.6. Análises estatísticas

Dados de longevidade foram submetidos ao teste de sobrevivência de acordo com modelo de distribuição de Cox (COX, 1974). Para análise de emergência e razão sexual, os dados foram submetidos ao GLM (Modelos Lineares Generalizados) utilizando modelo de distribuição do tipo “betabinomial” ou “quasibinomial”. A qualidade do ajuste foi avaliada utilizando-se gráficos de probabilidade semi-normais com um envelope de simulação (DEMÉTRIO; HINDE; MORAL, 2014).

Os demais dados obtidos foram submetidos ao teste de Shapiro-Wilk e Bartlett (BARTLETT, 1950; SHAPIRO; WILK, 1965) ($p > 0,05$) para verificação dos pressupostos de normalidade e homocedasticidade da análise de variância (ANOVA). Os dados que não assumiram distribuição normal foram submetidos ao teste de Kruskal-Wallis (KRUSKAL; WALLIS, 1952) e, em seguida, à ajustes do tipo Bonferroni. Os dados que se encaixaram nos pressupostos foram submetidos a one-way ANOVA e, posteriormente, ao teste de médias Tukey (TUKEY, 1949).

Para as análises utilizou-se o programa estatístico R (R DEVELOPMENT CORE TEAM, 2016).

4.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os inseticidas não afetaram a longevidade das fêmeas F_0 ($P = 0,8116$; g.l. = 5) (Figura 2), bem como das fêmeas da geração F_1 ($P = 0,6543$; g.l. = 5) (Figura 3). Altacor®

(cloranthraniliprole), o qual pertence ao grupo químico das diamidas, não causou diferenças na longevidade de *C. flavipes*. A literatura é limitada para efeito residual deste ingrediente ativo (i.a.) em himenópteros parasitoides e, para este parâmetro, não foram encontrados estudos. Entretanto, para adultos do predador *Chrysoperla carnea* (Stephens) (Neuroptera: Chrysopidae) quando em contato com hastes de girassol cultivadas a partir de sementes tratadas com cloranthraniliprole, a sobrevivência foi reduzida em relação ao tratamento controle. Especula-se que este fato se dá pelo hábito desses insetos se alimentarem do néctar extrafloral que foi contaminado com resíduos do produto (GONTIJO et al., 2014).

Já para os inseticidas Atabron® (clorfluazuron), Certero® (triflumuron), Mimic® (tebufenozida) e Rimon® (novaluron), sugere-se que não afetaram a sobrevivência por serem inseticidas reguladores de crescimento de insetos (RCI). Clorfluazuron, triflumuron e novaluron pertencem ao subgrupo das benzoilureias e agem na síntese de quitina, que se dá no processo de muda das fases imaturas (SUN et al., 2015). Tebufenozida pertence ao subgrupo das diacilhidrazinas e atuam como agonistas dos receptores de ecdisteroides, causando indução precoce da muda no desenvolvimento (WANG et al., 2017).

Os resultados obtidos no presente estudo diferem daqueles obtidos por Shi et al. (2004) que observaram mortalidade de 47% de adultos do parasitoide larval *Cotesia plutellae* (Kurdjumov) (Hymenoptera: Braconidae) em contato com resíduos de clorfluazuron após 48 h de exposição. Da mesma forma, quando adultos de *Doru luteipes* (Scudder) (Dermaptera: Forficulidae) tiveram contato por vários dias com resíduos de triflumuron, a sobrevivência deste predador foi reduzida (REDOAN et al., 2013). Provavelmente, a diferença de resultados seja devido ao tempo de exposição dos insetos aos resíduos e por serem espécies diferentes.

Resultado similar ao do presente estudo foi obtido para tebufenozide sobre o ectoparasitoide *Tamarixia radiata* (Waterston) (Hymenoptera: Eulophidae). Esse inseticida não causou alterações na longevidade da geração F₁, mas causou aumento na geração F₂ (BELOTI et al., 2015).

Os reguladores de crescimento novaluron e triflumuron foram testados em *Trichogramma pretiosum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae). Ovos de seu hospedeiro alternativo *Anagasta kuehniella* (Zeller) (Lepidoptera: Pyralidae) foram mergulhados nas caldas químicas e oferecidos após 1, 24 e 48 h para fêmeas do parasitoide. Os autores relataram que a longevidade foi reduzida nas gerações maternal e F₁ após 1 h, e não contataram diferenças após 24 e 48 h (CARVALHO et al., 2010).

Figura 2. Média ($\pm$ desvio padrão) da longevidade de fêmeas de *Cotesia flavipes* após contato com resíduos inseticidas por 24 h (teste de sobrevivência, modelo de distribuição de Cox, $P < 0,05$).

Figura 3. Média ($\pm$ desvio padrão) da longevidade de fêmeas F_1 de *Cotesia flavipes* (teste de sobrevivência, modelo de distribuição de Cox, $P < 0,05$).

Para os parâmetros de emergência e razão sexual da geração F_1 , e emergência da geração F_2 não ocorreram diferenças significativas ($P > 0,05$; g.l. = 5). Porém, na geração F_2 , a razão sexual foi reduzida pelo inseticida Rimon® ($0,53 \pm 0,36$; $P = 0,00677$; g.l. = 5) (Tabela 2). Embora Atabron®, Certero® e Mimic® também sejam RCI não ocorreram alterações.

O mecanismo para determinação de sexo em insetos da ordem Hymenoptera é haplodiploide, em que fêmeas são diploides e machos haploides, e depende da capacidade da espermateca presente nas fêmeas em armazenar os espermatozoides (van WILGENBURG; DRIESSEN; BEUKEBOOM, 2006). Esse efeito transgeracional causado por Rimon® (novaluron) pode ter sido por sua ação em um sítio de ação que interferiu na viabilidade de espermatozoides e na capacidade da espermateca em armazená-los. À exemplo disso, Novaluron®,

sendo um outro inseticida regulador de crescimento, pode promover mudanças no desenvolvimento de artrópodes benéficos atuando no sistema endócrino (DESNEUX; DECOURTYE; DELPUECH, 2007).

O mesmo efeito de redução da proporção de fêmeas foi observado com a ação indireta de extratos de frutos de *Melia azedarach* L. em *Cotesia ayerza* (Brèthes) (Hymenoptera: Braconidae). Fêmeas do parasitoide do desfolhador de alfafa *Colias lesbia* (Fabricius) (Lepidoptera: Pieridae) parasitaram lagartas alimentadas com dietas contendo os extratos, contudo, a razão sexual dos insetos que emergiram foi menor. O estudo também demonstrou que os extratos apresentaram ação larvicida em lagartas de *C. lesbia* e não permitiram que os insetos pupassem (DEFAGÓ et al., 2011). Esse fato indica que seu sítio de ação possivelmente é o sistema endócrino dos insetos, o que explica o efeito indireto no parasitoide *C. ayerza*, e também em *C. flavipes*.

Os inseticidas Atabron® (clorfluazuron), Certero® (triflumuron), Mimic® (tebufenozida) e Rimon® (tebufenozida) não causaram alterações no parâmetro de porcentagem de emergência, e resultados semelhantes foram apresentados em estudos como gênero *Cotesia*. *C. flavipes* não sofreu alterações quando houve parasitismo em lagartas de *D. saccharalis* sobreviventes à baixas doses de lufenuron (FONSECA et al., 2015). E para *C. plutellae*, a qual teve seus casulos imersos em calda inseticida de clorfluazuron, não ocorreram diferenças para este mesmo parâmetro (SHI et al., 2004). Por outro lado, pesquisadores estudaram efeitos subletais no parasitoide de lagartas *Bracon brevicornis* (Wesmael) (Hymenoptera: Braconidae) e no parasitoide de ovos *Trichogramma evanescens* Westwood (Hymenoptera: Trichogrammatidae). Observaram que concentrações subletais dos inseticidas flufenoxuron e lufenuron, também RCI, causaram redução da emergência em ambos insetos (TABOZADA; EL-ARNAOUTY; SAYED, 2014).

No presente estudo, Altacor® (clorantraniliprole) se mostrou inócuo nas gerações F₁ e F₂ tanto para razão sexual quanto para emergência quando a geração maternal de *C. flavipes* teve contato com resíduos deste diamida. Pazini et al. (2017) demonstraram inocuidade de clorantraniliprole para *Telenomus podisi* Ashmead (Hymenoptera: Platygasteridae) ao pulverizar ovos do hospedeiro *Euschistus heros* (Fabricius) (Hemiptera: Pentatomidae) e oferecer ao parasitoide.

Tabela 2. Médias ($\pm$ erro padrão) de emergência (%) e razão sexual das gerações F₁ e F₂ de fêmeas de *Cotesia flavipes* que tiveram contato direto com discos de folhas de cana-de-açúcar tratadas.

Tratamento	Emergência		Razão sexual	
	F ₁ ^a	F ₂ ^a	F ₁ ^b	F ₂ ^c
Controle	93 $\pm$ 1,06	95 $\pm$ 1,04	0,42 $\pm$ 0,25	0,75 $\pm$ 0,31 a
Altacor® 350 WG	92 $\pm$ 0,86	91 $\pm$ 2,15	0,51 $\pm$ 0,35	0,76 $\pm$ 0,37 a
Atabron® 50 EC	93 $\pm$ 1,05	95 $\pm$ 0,99	0,35 $\pm$ 0,38	0,76 $\pm$ 0,38 a
Certero® 480 SC	91 $\pm$ 1,24	95 $\pm$ 1,80	0,46 $\pm$ 0,35	0,63 $\pm$ 0,37 a
Mimic® 240 SC	94 $\pm$ 1,31	92 $\pm$ 2,59	0,41 $\pm$ 0,35	0,71 $\pm$ 0,36 a
Rimon® 100 EC	95 $\pm$ 0,85	95 $\pm$ 1,44	0,42 $\pm$ 0,36	0,53 $\pm$ 0,36 b
P valor	>0,05	>0,05	>0,05	<0,05

^a Não houve diferença de acordo com o modelo linear generalizado (GLM) com distribuição “quasi binomial” ($P < 0,05$).

^b Não houve diferença de acordo com o modelo linear generalizado (GLM) com distribuição “beta binomial” ($P < 0,05$).

^c Médias seguidas da mesma letra não diferem de acordo com o modelo linear generalizado (GLM) com distribuição “beta binomial” ($P < 0,05$).

Os parâmetros avaliados para número de casulos por lagarta de F₁ ($F=1,19$; $P > 0,05$; g.l. = 5) e F₂ ($F=1,58$; $P > 0,05$; g.l. = 5) , e as durações dos períodos entre ovo-casulo de F₁ ($F= 0,32$; $P > 0,05$; g.l. = 5) e F₂ ($F= 0,30$; $P > 0,05$; g.l. = 5) e casulo-ovo de F₁ ($F= 0,92$; $P > 0,05$; g.l. = 5) e F₂ ($F= 1,19$; $P > 0,05$; g.l. = 5) foram semelhantes ao tratamento controle (Tabelas 3 e 4). Para o peso dos casulos não ocorreram diferenças na geração F₁ ($F= 1,19$; $P > 0,05$; g.l. = 5) e na geração F₂ o tratamento Mimic® apresentou maior valor e Atabron® causou redução do peso das massas de caulos ($F=2,63$; $P < 0,05$; g.l. = 5) (Tabela 3).

Estes resultados corroboram com os obtidos por Fonseca et al. (2015) em que espécimes de *C. flavipes* parasitaram lagartas de *Diatraea flavipennella* (Box) (Lepidoptera: Crambidae) alimentadas previamente com dietas contendo subdoses de lufenuron, um RCI. Demonstraram que não houve alterações quanto aos parâmetros de número de casulos por lagarta. Porém, os mesmos autores demonstraram alterações na duração do período de desenvolvimento de ovo à adulto. Possivelmente, esta diferença se deu pela rota de exposição do agroquímico, já que no presente estudo o parasitoide foi exposto ao contato residual.

Em contrapartida, *C. plutellae* ao parasitar lagartas de *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae) alimentadas com subdoses do inseticida botânico timol afetou a biologia da progênie. Houve redução do número total de oviposição por fêmea e do período entre ovo-pupa e pupa-adulto (YOTAVONG et al., 2015).

Tabela 3. Médias ($\pm$ erro padrão) do número de casulos por lagarta e peso das massas de casulos (mg) das gerações F₁ e F₂ de fêmeas de *Cotesia flavipes* que tiveram contato direto com discos de folhas de cana-de-açúcar tratadas.

Tratamento	Casulos por lagarta		Peso das massas de casulos	
	F ₁	F ₂	F ₁	F ₂
Controle	70 $\pm$ 5,46	61 $\pm$ 5,03	72,1 $\pm$ 4,22	68,3 $\pm$ 4,30 ab
Altacor® 350 WG	81 $\pm$ 5,46	63 $\pm$ 5,03	73,0 $\pm$ 4,10	66,9 $\pm$ 4,30 ab
Atabron® 50 EC	63 $\pm$ 6,02	53 $\pm$ 5,17	66,2 $\pm$ 4,49	59,6 $\pm$ 4,30 b
Certero® 480 SC	77 $\pm$ 5,17	70 $\pm$ 5,17	75,9 $\pm$ 3,99	72,7 $\pm$ 4,42 ab
Mimic® 240 SC	71 $\pm$ 5,17	68 $\pm$ 4,89	74,8 $\pm$ 3,99	78,6 $\pm$ 4,18 a
Rimon® 100 EC	76 $\pm$ 5,63	69 $\pm$ 4,89	75,8 $\pm$ 4,49	76,1 $\pm$ 4,18 ab
P. valor > 0,05				

*Médias, nas colunas, não diferem pelo teste de Tukey ($P < 0,05$)

Tabela 4. Médias ($\pm$ erro padrão) das durações ovo-casulo e casulo-adulto (dias) das gerações F₁ e F₂ de fêmeas de *Cotesia flavipes* que tiveram contato direto com discos de folhas de cana-de-açúcar tratadas.

Tratamento	Duração ovo-casulo		Duração casulo-adulto	
	F ₁	F ₂	F ₁	F ₂
Controle	13,11 $\pm$ 0,20	14,67 $\pm$ 0,24	7,29 $\pm$ 0,21	6,50 $\pm$ 0,19
Altacor® 350 WG	12,94 $\pm$ 0,20	14,67 $\pm$ 0,24	7,06 $\pm$ 0,19	6,56 $\pm$ 0,19
Atabron® 50 EC	13,07 $\pm$ 0,21	14,94 $\pm$ 0,24	7,60 $\pm$ 0,21	6,22 $\pm$ 0,19
Certero® 480 SC	13,00 $\pm$ 0,19	14,59 $\pm$ 0,24	7,11 $\pm$ 0,18	6,35 $\pm$ 0,19
Mimic® 240 SC	12,84 $\pm$ 0,19	14,63 $\pm$ 0,23	7,21 $\pm$ 0,18	6,00 $\pm$ 0,18
Rimon® 100 EC	13,13 $\pm$ 0,21	14,79 $\pm$ 0,23	7,20 $\pm$ 0,21	6,32 $\pm$ 0,18
P. valor > 0,05				

*Médias, nas colunas, não diferem pelo teste de Tukey ($P < 0,05$)

O principal efeito subletal evidenciado no presente estudo foi no tamanho da tíbia posterior direita de fêmeas da geração F₁ (Figura 4). Os tratamentos Altacor® (0,583 $\pm$ 0,007 mm; g.l.= 5; $P = 0,0022$), Atabron® (0,578 $\pm$ 0,007 mm; g.l.= 5; $P = 0,0002$), Certero® (0,572 $\pm$ 0,007 mm; g.l.= 5; $P < 0,0001$) e Rimon® (0,587 $\pm$ 0,007 mm; g.l.= 5; $P = 0,009$) causaram redução no tamanho das tíbias, com exceção do tratamento Mimic® (0,605 $\pm$ 0,007 mm; g.l.= 5; $P = 0,6113$). Possivelmente, essa alteração se deu devido à um maior gasto de energia da geração maternal para detoxificar os componentes invasivos no organismo, contribuindo para a redução no tamanho dos espécimes (DEVORSHAK; ROE, 1998).

Alguns autores, ao estudarem *Cotesia* spp., utilizaram o tamanho da tíbia mediana ou posterior com intuito de estimar o tamanho do corpo. À exemplo disso, avaliou-se o parasitismo de *C. flavipes* em lagartas de *D. saccharalis* alimentadas com dietas contendo tecidos de cana transgênica expressando proteínas de *Galanthus nivalis agglutinin* (GNA). Pela medição das

tíbias medianas observou-se redução no tamanho dos insetos (SÉTAMOU et al., 2002). Também realizando medidas da tíbia mediana de *Cotesia marginiventris* (Cresson) (Hymenoptera: Braconidae), Riddick (2006) observou a relação da quantidade de ovos obtidos na postura com o tamanho do corpo. Simões et al. (2014) observaram o tamanho da tíbia posterior de *C. flavipes* após serem infectadas com *Nosema* sp. (Microsporidia: Nosematidae) e perceberam que o tamanho do corpo foi reduzido pela presença do patógeno.

Figura 4. Médias ($\pm$ desvio padrão) de comprimento das tíbias posteriores direitas de fêmeas *Cotesia flavipes* da geração F₁. Médias seguidas da mesma letra não diferem pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).

4.4. CONCLUSÃO

- Altacor® 350 WG, Atabron® 50 EC, Certero® 480 SC e Rimon® 100 EC causam redução do tamanho do corpo de fêmeas da geração F₁;
- Rimon® 100 EC causou redução da razão sexual e Atabron® 50 EC reduziu o peso das massas de casulos da geração F₂, podendo prejudicar a eficiência do controle biológico com *C. flavipes*;
- Apenas Mimic® 240 SC não causou nenhum efeito subletal em *C. flavipes*.

REFERÊNCIAS

- AGROFIT, 2016. Sistema de agrotóxicos fitossanitários. Disponível em: http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons. Acessado em 20 de março de 2016.
- BARTLETT, M.S. Tests of significance in factor analysis. **British Journal of Mathematical and Statistical Psychology**, v. 3, n. 2, p. 77-85, 1950.
- BELOTI, V. H.; ALVES, G. R.; ARAÚJO, D. F. D.; PICOLI, M. M.; DE ANDRADE MORAL, R.; DEMÉTRIO, C. G. B.; YAMAMOTO, P. T. Lethal and sublethal effects of insecticides used on citrus, on the ectoparasitoid *Tamarixia radiata*. **PloS ONE**, v. 10, n. 7, p. e0132128, 2015.
- BOTELHO, P. S. M.; MACEDO, N. *Cotesia flavipes* para o controle de *Diatraea saccharalis*. In: PARRA, J. R. P.; BOTELHO, P. S. M.; CORRÊA-FERREIRA, B. S.; BENTO, J. M. S. (Ed.) **Controle biológico no Brasil: parasitoides e predadores**. São Paulo: Manolecap., v. 5, p. 409-421, 2002.
- CARVALHO, G. A.; GODOY, M. S.; PARREIRA, D. S.; LASMAR, O.; SOUZA, J. R.; MOSCARDINI, V. F. Selectivity of growth regulators and neonicotinoids for adults of *Trichogramma pretiosum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae). **Revista Colombiana de Entomologia**, v. 36, n. 2, p. 195-201, 2010.
- CORTÉS, A. M. P.; ZARBIN, P. H.; TAKIYA, D. M.; BENTO, J. M. S.; GUIDOLIN, A. S.; CONSOLI, F. L. Geographic variation of sex pheromone and mitochondrial DNA in *Diatraea saccharalis* (Fab., 1794) (Lepidoptera: Crambidae). **Journal of insect physiology**, v. 56, n. 11, p. 1624-1630, 2010.
- COX, D. R. Regression models and life tables (with discussion). **Journal of the Royal Statistics Society**, v. 34, p. 187-220, 1972.
- DEFAGÓ, M. T.; DUMÓN, A.; AVALOS, D. S.; PALACIOS, S. M.; VALLADARES, G. Effects of *Melia azedarach* extract on *Cotesia ayerza*, parasitoid of the alfalfa defoliator *Colias lesbia*. **Biological Control**, v. 57, n. 2, p. 75-78, 2011.
- DEMÉTRIO, C. G. B.; HINDE, J.; MORAL, R. A. Models for overdispersed data in entomology. In: Ferreira, C. P.; Godoy, W. A. C., editors. **Ecological Modelling Applied to Entomology**, Springer; p. 219-259, 2014.
- DESNEUX, N.; DECOURTYE, A.; DELPUECH, J. M. The sublethal effects of pesticides on beneficial arthropods. **Annual Review of Entomology**, v. 52, p. 81-106, 2007.

- DEVORSHAK, C.; ROE, R. M. The role of esterases in insecticide resistance. **Reviews in Toxicology**, v. 2, p. 501-537, 1998.
- DINARDO-MIRANDA, L. L.; FRACASSO, J. V.; PERECIN, D. Variabilidade espacial de populações de *Diatraea saccharalis* em canaviais e sugestão de método de amostragem. **Bragantia**, Campinas, v. 70, n. 3, p.577-585, 2011.
- DYAR, H. G.; HEINRICH, C. The American moths of the genus *Diatraea* and allies. **Proceedings United States National Museum**, v. 71, p. 1-48, 1927.
- FONSECA, A. P. P.; MARQUES, E. J.; TORRES, J. B.; SILVA, L. M.; SIQUEIRA, H. I. A. Lethal and sublethal effects of lufenuron on sugarcane borer *Diatraea flavipennella* and its parasitoid *Cotesia flavipes*. **Ecotoxicology**, v. 24, n. 9, p. 1869- 1879, 2015.
- FREITAS, M. D. T.; MENDONÇA, A. L.; NASCIMENTO, R. R.; SANT'ANA, A. E. Behavioural evidence for a female sex pheromone in *Cotesia flavipes* (Hymenoptera: Braconidae). **Physiological Entomology**, v. 29, n. 2, p. 183-187, 2004.
- GONTIJO, P. C.; MOSCARDINI, V. F.; MICHAUD, J. P.; CARVALHO, G. A. Non-target effects of chlorantraniliprole and thiamethoxam on *Chrysoperla carnea* when employed as sunflower seed treatments. **Journal of pest science**, v. 87, n. 4, p. 711-719, 2014.
- KRUSKAL, W. H.; WALLIS, W. A. Use of ranks in one-criterion variance analysis. **Journal of the American Statistical Association**, v. 47, n. 260, p. 583-621, 1952.
- MEISSE, M.; MOURON, P.; MUSA, T.; BIGLER, F.; PONS, X.; VASILEIADIS, V. P.; OTTO, S.; ANTICHI, D.; KISS, J.; PALINKAS, Z.; DORNER, Z.; van DER WEIDE, R.; GROTEN, J.; CZEMBOR, E.; ADAMCZYK, J.; THIBORD, J. B.; MELANDER, B.; NIELSEN, G. C.; POULSEN, R. T.; ZIMMERMANN, O.; VERSCHWELE, A.; OLDENBURG, E. Pests, pesticide use and alternative options in European maize production: current status and future prospects. **Journal Applied Entomology**, v. 134, p. 357-375, 2010.
- MENDONÇA, A. F. **Pragas da cana-de-açúcar**. Insetos & CIA, Maceió, p. 3-48, 1996.
- MENDONÇA FILHO, A. F.; RISCO, S. H. B.; COSTA, J. M. B. Introduction and rearing of *Apanteles flavipes* Cameron (Hymenoptera: Braconidae) in Brazil. **In Proceedings of the 19th Congress of International Society of Sugarcane Technologists**, São Paulo, 1977.
- MOHYUDDIN, A. I. Comparative biology and ecology of *Apanteles flavipes* (Cam.) and *A. sesamiae* (Cam.) as parasites of graminaceous borers. **Bulletin of Entomological Research**, v. 61, p. 33-39, 1971.
- PARRA, J. R. P.; BOTELHO, P. S. M.; PINTO, A. S. Bioecological control of pests as key component of sustainable sugarcane production, cap 20, p. 441- 450. In: CORTEZ, L. A. B.

- (ED.), Sugarcane bioethanol R & D for productivity and sustainability. **Blicher**, São Paulo, 2010.
- PAZINI, J. B.; PASINI, R. A.; SEIDEL, E. J.; RAKES, M.; DA SILVA MARTINS, J. F.; GRÜTZMACHER, A. D. Side-effects of pesticides used in irrigated rice areas on *Telenomus podisi* Ashmead (Hymenoptera: Platygasteridae). **Ecotoxicology**, v. 26, p. 1-10, 2017.
- QUERINO, R. B.; ZUCCHI, R. A. Guia de identificação de Trichogramma para o Brasil. **Embrapa Informação Tecnológica**, Brasília, 2011.
- R DEVELOPMENT CORE TEAM. **R: A Language and Environment for Statistical Computing**. Version 3.2.5. Vienna, Austria: R Foundation for Statistical Computing, 2016.
- REDOAN, A. C. M.; CARVALHO, G. A.; CRUZ, I.; FIGUEIREDO, M. D. L. C.; SILVA, R. B. D. Physiological selectivity of insecticides to adult of *Doru luteipes* (Scudder, 1876) (Dermoptera: Forficulidae). **Revista Ciência Agronômica**, v. 44, n. 4, p. 842-850, 2013.
- RIDDICK, E. W. Egg load and body size of lab-cultured *Cotesia marginiventris*. **BioControl**, v. 51, n. 5, p. 603-610, 2006.
- SÉTAMOU, M.; BERNAL, J. S.; LEGASPI, J. C.; MIRKOV, T. E. Effects of snowdrop lectin (*Galanthus nivalis agglutinin*) expressed in transgenic sugarcane on fitness of *Cotesia flavipes* (Hymenoptera: Braconidae), a parasitoid of the nontarget pest *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae). **Annals of the Entomological Society of America**, v. 95, n. 1, p. 75-83, 2002.
- SIMÕES, R. A.; REIS, L. G.; BENTO, J. M. S.; SOLTER, L. F.; DELALIBERA, I. Biological and behavioral parameters of the parasitoid *Cotesia flavipes* (Hymenoptera: Braconidae) are altered by the pathogen *Nosema* sp. (Microsporidia: Nosematidae). **Biological Control**, v. 63, n. 2, p. 164-171, 2012.
- SHAPIRO, S. S.; WILK, M. B. An analysis of variance test for normality (complete samples). **Biometrika**, v. 52, n. 3/4, p. 591-611, 1965.
- SHI, Z. H.; GUO, S. J.; LIN, W. C.; LIU, S. S. Evaluation of selective toxicity of five pesticides against *Plutella xylostella* (Lep: Plutellidae) and their side-effects against *Cotesia plutellae* (Hym: Braconidae) and *Oomyzus sokolowskii* (Hym: Eulophidae). **Pest management science**, v. 60, n. 12, p. 1213-1219, 2004.
- SUN, R.; LIU, C.; ZHANG, H.; WANG, Q. Benzoylurea chitin synthesis inhibitors. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 63, n. 31, p. 6847-6865, 2015.
- TABOZADA, E. K.; EL-ARNAOUTY, S. A.; SAYED, S. M. Effectiveness of two chitin synthesis inhibitors; flufenoxuron and lufenuron on *Spodoptera littoralis* (Lepidoptera:

- Noctuidae) and side effects of sublethal concentrations of them on two hymenopteran parasitoids. **Life Sci. J**, v. 11, n. 10, p. 239-245, 2014.
- TUKEY, J.W. Comparing individual means in the analysis of variance. **Biometrics**, p. 99-114, 1949.
- van WILGENBURG, E.; DRIESSEN, G.; BEUKEBOOM, L. W. Single locus complementary sex determination in Hymenoptera: an "unintelligent" design? **Frontiers in Zoology**, v. 3, n. 1, p. 1, 2006.
- VILELA, E. F.; FERNANDES, J. B.; PARRA, J. R. P.; MOSCARDI, F.; RABINOVITCH, L. Controle biológico e feromônios de insetos no âmbito do agronegócio. **Viçosa: CNPq/Embrapa**, 74 p., 1998.
- WANG, Y.; XU, F.; YU, G.; SHI, J.; LI, C.; LIU, Z.; XU, J.; WANG, F.; WU, J., Synthesis and insecticidal activity of diacylhydrazine derivatives containing a 3-bromo-1-(3-chloropyridin-2-yl)-1 H-pyrazole scaffold. **Chemistry Central Journal**, v. 11, n. 1, p. 50, 2017.
- YOTAVONG, P.; BOONSOONG, B.; PLUEMPANUPAT, W.; KOUL, O.; BULLANGPOTI, V. Effects of the botanical insecticide thymol on biology of a braconid, *Cotesia plutellae* (Kurdjumov), parasitizing the diamondback moth, *Plutella xylostella* L. **International journal of pest management**, v. 61, n. 2, p. 171-178, 2015.

5. PERSISTÊNCIA DOS RESÍDUOS DOS INSETICIDAS USADOS PARA CONTROLE DE *Diatraea saccharalis* (LEPIDOPTERA: CRAMBIDAE) SOBRE O PARASITOIDE *Cotesia flavipes* (HYMENOPTERA: BRACONIDAE)

Resumo

O manejo integrado de pragas (MIP) preconiza o uso de diversas táticas para reduzir as populações de pragas nas culturas agrícolas. Dentre os métodos, o controle químico e o biológico são utilizados no manejo de *Diatraea saccharalis* (Fabricius) na cultura da cana-de-açúcar. Inseticidas são pulverizados em folhas para controle das lagartas neonatas e liberações massais do endoparasitoide *Cotesia flavipes* (Cameron) são realizadas para controlar a broca-da-cana quando dentro do colmo. No entanto, há o risco dos agroquímicos serem tóxicos aos inimigos naturais mesmo após determinado tempo da aplicação. Desse modo, objetivou-se com este estudo avaliar a persistência toxicológica de inseticidas registrados para controle de *D. saccharalis* ao parasitoide *C. flavipes*. Os tratamentos foram clorantniliprole (Altacor® 350 WG), lambda-cialotrina + clorantniliprole (Ampligo® 50 + 100 SC), clorfluazuron (Atabron® 50 EC), triflumuron (Certero® 480 SC), lambda-cialotrina + tiametoxam (Engeo™ Pleno 106 + 141 SC), tebufenozide (Mimic® 240 SC), novaluron (Rimon® 100 EC) e controle (água destilada). Em casa de vegetação, quatro plantas de cana-de-açúcar por tratamento foram pulverizadas com auxílio de um pulverizador manual, até o ponto de escorrimento (cerca de 125 mL por planta), conforme recomendações da IOBC/WPRS. Decorridos 5, 15 e 30 dias após a aplicação (DAA), folhas de cada tratamento foram coletadas, aleatoriamente, e transportadas ao laboratório para exposição aos insetos, sendo seccionadas em discos de 3,3 cm de diâmetro e introduzidas em placas de Petri (3,5 cm de diâmetro) com uma solução de [água:ágar]. Adultos de *C. flavipes* foram anestesiados com CO₂ por 10 segundos e introduzidos nas placas contendo os respectivos tratamentos. Para fechar as placas, utilizou-se de tecido *voile* que foi fixado pela tampa constituída de um orifício na região central para permitir aeração. As placas foram acondicionadas em sala climatizada com temperatura de 25 ± 2 °C, UR de 70 ± 10% e fotofase de 14 horas. As avaliações da mortalidade foram realizadas 24 horas após a exposição dos parasitoides e os tratamentos foram enquadrados nas classes de persistência de acordo com a IOBC/WPRS. Para os tratamentos em que houve sobrevivência de espécimes, os efeitos subletais foram avaliados. Ampligo® e Engeo™ Pleno causaram mais de 30% de mortalidade até os 30 DAA e foram classificados como persistentes (classe 4). Altacor®, Atabron®, Certero®, Mimic® e Rimon® não causaram mortalidade maior do que 30% aos 5 DAA (classe 1) e não foram observados efeitos subletais nas duas gerações seguintes. Aos 30 DAA foi possível avaliar os efeitos subletais aos espécimes sobreviventes do tratamento Ampligo®, porém, mesmo sendo persistente, esse inseticida não causou efeitos colaterais. Com estes resultados, sugere-se que a liberação de *C. flavipes* deve ser realizada antes da utilização dos inseticidas Ampligo® e Engeo™ Pleno, em detrimento da persistência dos produtos avaliados.

Palavras-chave: Broca-da-cana; Controle biológico; Microhimenóptero; Seletividade; Toxicidade

Abstract

For the integrated pest management (IPM) it is important the use of various strategies to reduce pest populations in agricultural crops. Among the methods, the chemical and biological controls are used in the management of *Diatraea saccharalis* (Fabricius) in sugarcane crop. Synthetic insecticides are sprayed on leaves to control neonatal caterpillars and mass releases of the endoparasitoid *Cotesia flavipes* (Cameron) are carried out to control the sugarcane borer when inside the stem. However, there is a risk that agrochemicals could be toxic to natural enemies even after a certain time of application. Thus, this study aimed to evaluate the toxicological persistence of insecticides registered for the control of *D. saccharalis* to the parasitoid *C. flavipes*. The treatments were chlorantraniliprole (Altacor® 350 WG), lambda-cyhalothrin + chlorantraniliprole (Ampligo® 50 + 100 SC), chlorfluazuron (Atabron® 50 EC), triflumuron (Certero® 480 SC), lambda-cyhalothrin + thiamethoxam (Engeo™ Pleno 106 +141 SC), tebufenozide (Mimic® 240 SC), novaluron (Rimon® 100 EC) and control (distilled water). In a greenhouse, four sugarcane plants per treatment were sprayed with the aid of a hand sprayer to the point of drainage (about 125 mL per plant), as recommended by IOBC / WPRS. After 5, 15 and 30 days after application (DAA), leaves of each treatment were randomly collected and transported to the laboratory for exposure to the insects, being sectioned on 3.3 cm diameter discs and introduced into Petri dishes (3.5 cm in diameter) with a solution of [water:agar]. Adults of *C. flavipes* were anesthetized with CO₂ for 10 seconds and introduced into the plates containing the respective treatments. To close the plates, *voile* type fabric was used, which was fixed by a lid made of a hole in the central region to allow aeration. The plates were in a climate-controlled room with a temperature of 25 ± 2 °C, RH of $70 \pm 10\%$ and photophase of 14 hours. The evaluations of mortality were performed 24 hours after parasitoid exposure and treatments were framed in the persistence classes according to IOBC / WPRS. For treatments in which specimens survived, sublethal effects were evaluated. Lambda-cyhalothrin + chlorantraniliprole and lambda-cyhalothrin + thiamethoxam caused more than 30% mortality up to 30 DAA and were classified as persistent (class 4). Chlorantraniliprole, chlorfluazuron, triflumuron, tebufenozide and novaluron did not cause mortality greater than 30% at 5 DAA (class 1) and no sublethal effects were observed in the following two generations. At 30 DAA it was possible to evaluate the sublethal effects to the surviving specimens of the lambda-cyhalothrin + chlorantraniliprole treatment, however, even though it was persistent, this insecticide did not cause side effects. With these results, it is suggested that the release of *C. flavipes* should be performed prior to the use of Ampligo® and Engeo™ Pleno insecticides, in detriment to the persistence of the evaluated products.

Keywords: Sugarcane borer; Biological control; Microhymenopteran; Selectivity; Toxicity.

5.1. INTRODUÇÃO

A intensificação da agricultura oferece condições para diversos insetos-praga se desenvolverem e causarem grandes prejuízos na produção (MATSON et al., 1997). A cana-de-açúcar (*Saccharum officinarum* L.) é uma cultura produzida em grandes extensões territoriais mundialmente e, no Brasil, maior produtor, são cerca de 9 milhões de hectares cultivados nas regiões centro-sul e norte-nordeste (FAO, 2015). Dentre as principais pragas que atacam esta gramínea, *Diatraea saccharalis* (Fabricius) (Lepidoptera: Crambidae) é considerada a praga-chave, reduzindo a produção e afetando a qualidade do produto final (MACEDO; BOTELHO, 1988).

Para reduzir a população da broca-da-cana, desde a década de 1970, são feitas liberações massais do parasitoide larval *Cotesia flavipes* (Cameron) (Hymenoptera: Braconidae) que tem a capacidade de encontrar lagartas de *D. saccharalis* dentro do colmo e realizar parasitismo (MENDONÇA FILHO; RISCO; COSTA, 1977). E, embora o controle biológico seja o mais adequado para esta praga, devido ao hábito de permanecer a maior parte do tempo na parte interna do caule, o controle químico também tem sido realizado.

Após a eclosão, lagartas neonatas se alimentam do parênquima foliar, permanecendo nas folhas por algum tempo. Neste momento, é possível haver pulverizações de inseticidas, os quais se encontram registrados para controle *D. saccharalis* (AGROFIT, 2016). Entretanto, os resíduos químicos podem atingir a população de *C. flavipes* ali presente, afetando a eficácia do controle biológico mesmo passado algum tempo da pulverização devido à persistência residual (KÖHLER; TRIEBSKORN, 2013).

Visando a um manejo da cultura canavieira de forma sustentável, é fundamental que as táticas sejam compatíveis. De acordo com o manejo integrado de pragas (MIP), são necessárias integrações de vários métodos para reduzir a população das pragas com intuito de evitar danos econômicos, sociais e ambientais (KOGAN, 1998). Dessa forma, os inseticidas usados no controle da broca devem ser seletivos e ou de baixa persistência toxicológica ao parasitoide, no entanto, tais informações são escassas e tornam-se relevante estudos a este respeito.

Inseticidas considerados de amplo espectro de ação como os piretroides devem ser observados quanto aos efeitos desfavoráveis em inimigos naturais. Em laboratório, foi constatado que subdoses de Karate® 5 EC, cujo ingrediente ativo (i. a.) é o lambda-cialotrina foram capazes de causar 100% de mortalidade a espécimes de *C. flavipes* (MUZEYI;

JEMBERE, 2005). No entanto, não se sabe por quanto tempo os resíduos deste inseticida são capazes de causar efeitos adversos nesta espécie em campo.

Diante disso, é importante conhecer a toxicidade dos inseticidas usados na cultura ao longo do tempo. O presente trabalho teve como objetivo estudar a persistência dos resíduos dos inseticidas utilizados para controle de *D. saccharalis* ao endoparasitoide *C. flavipes* em condições de casa de vegetação.

5.2. MATERIAL E MÉTODOS

5.2.1. Local e condições ambientais

A criação do parasitoide *C. flavipes* e de seu hospedeiro *D. saccharalis*, assim como os bioensaios, foram realizados no Laboratório de Biologia de Insetos e no Laboratório de Manejo Integrado de Pragas do Departamento de Entomologia e Acarologia da ESALQ/USP, em Piracicaba/SP, sob temperatura de 25 ± 2 °C, umidade relativa de $70 \pm 10\%$ e fotofase de 14 horas.

5.2.2. Criação e manutenção de *D. saccharalis*

A criação foi feita com a população já existente do Laboratório de Biologia de Insetos, Esalq/USP. A metodologia utilizada foi a mesma citada no subitem 3.2.2 do capítulo 3.

5.2.3. Criação e manutenção de *C. flavipes*

As populações de *C. flavipes* foram oriundas das já existentes do Laboratório de Biologia de Insetos Esalq/USP que foram obtidas da usina de cana-de-açúcar Iracema do Grupo São Martinho, no estado de São Paulo.

A metodologia utilizada foi a mesma citada no subitem 3.2.3 do capítulo 3.

5.2.4. Inseticidas avaliados

Os estudos foram realizados com os inseticidas registrados junto ao Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA) para o controle de *D. saccharalis* em cana-de-açúcar (Tabela 1) (AGROFIT, 2016). O tratamento controle foi constituído somente de água destilada.

Tabela 1. Nomes comercial e técnico, grupo químico e concentração dos inseticidas utilizados para controle de *Diatraea saccharalis* em cana-de-açúcar, que foram avaliados quanto a seletividade fisiológica para *Cotesia flavipes*

Nome Comercial	Nome Técnico	Grupo Químico	Concentração (g ou mL do p.c. 100 L ⁻¹)
Altacor® 350 WG	Clorantraniliprole	Diamida	24
Ampligo® 50+100 SC	Lambda-cialotrina+ clorantraniliprole	Piretroide+ diamida	67
Atabron® 50 EC	Clorfluazuron	Benzoilureia	170
Certero® 480 SC	Triflumuron	Benzoilureia	27
Engeo™ Pleno 106+141 SC	Lambda-cialotrina+ tiametoxam	Piretroide+ neonicotioide	100
Mimic® 240 SC	Tebufenozida	Diacilhidrazina	200
Rimon® 100 EC	Novaluron	Benzoilureia	50

*EC – concentrado emulsionável; SC – suspensão concentrada; WG – grânulo dispersível em água. **p.c. – produto comercial.

Os inseticidas Ampligo® e Engeo™ Pleno foram classificados como nocivos (classe 4) em testes de laboratório e, portanto, há a necessidade do conhecimento da persistência dos mesmos. Os demais inseticidas foram inócuos (classe 1); entretanto, foram testados novamente nas condições de casa de vegetação para efeito de confirmação.

5.2.5. Teste de persistência de inseticidas ao parasitoide *C. flavipes*

Para avaliação da ação residual de inseticidas, em semi-campo, no parasitoide *C. flavipes*, quatro plantas de cana-de-açúcar da variedade RB84-7515 com idade aproximada de cinco meses e com altura entre 70 e 90 cm cultivadas em vaso de 20 L (2 plantas por vaso) foram utilizadas. Mantidas em casa de vegetação, foram pulverizadas com os produtos com um pulverizador manual, com capacidade de 0,5 litro, até o ponto de escorrimento (cerca de 125 mL por planta), conforme recomendações da IOBC/WPRS. Decorridos 5, 15 e 30 dias após a aplicação (DAA), folhas de cada tratamento foram aleatoriamente coletadas e transportadas ao laboratório para exposição aos insetos, sendo seccionados discos de 3,3 cm de diâmetro e introduzidos em placas de Petri (3,5 cm de diâmetro) com uma solução de [ágar:água] a 2,5%.

Adultos de *C. flavipes* foram anestesiados com CO₂ por 10 segundos e introduzidos nas placas contendo os respectivos tratamentos. Para o fechamento das placas, utilizou-se de tecido *voile* que foi fixado pela tampa da placa constituída de um orifício (2,5 cm de diâmetro) na região central permitindo a aeração para que não houvesse acúmulo de vapores tóxicos. As

placas foram acondicionadas em sala climatizada com temperatura de 25 ± 2 °C, umidade relativa do ar de $70 \pm 10\%$ e fotofase de 14 horas.

Foram avaliados os sete inseticidas e um tratamento controle (água destilada), com as maiores doses recomendadas para o controle de insetos-praga em cana-de-açúcar. O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado com cinco repetições por tratamento, sendo cada uma formada por 20 adultos com idade de até 24 horas.

A avaliação da mortalidade foi realizada 24 horas após a exposição dos parasitoides aos respectivos tratamentos, contando-se o número de insetos vivos e mortos no interior de cada placa. Foram considerados vivos os insetos que apresentaram estímulo em seus apêndices ao toque de um pincel de cerdas macias. Posteriormente, os insetos sobreviventes de cada placa foram transferidos para tubos de vidro (2,0 cm de diâmetro $\times$ 8,5 cm de altura) contendo uma gotícula de mel para alimentação. Avaliou-se a longevidade dos mesmos diariamente.

Para aqueles tratamentos em que a mortalidade foi menor que 30%, as fêmeas de *C. flavipes* sobreviventes foram resgatadas para a avaliação do efeito subletal dos inseticidas (subitem 3.2.4). As duas gerações seguintes foram utilizadas para a avaliação da emergência, razão sexual e número de casulos por lagarta.

Para os tratamentos cuja persistência foi maior, mesmo com índices de mortalidade maiores que 30%, avaliou-se o efeito subletal de indivíduos que sobreviveram, com adicional avaliação de peso das massas de casulos da geração F₁ e F₂ e tamanho da tíbia direita posterior da F₁ (de acordo com metodologia citada no capítulo 4, subitem 4.2.5).

5.2.6. Classificação dos inseticidas segundo escala de toxicidade estabelecida pela IOBC/WPRS

Os produtos foram enquadrados em classes de toxicidade conforme critérios estabelecidos pela “International Organization for Biological and Integrated Control of Noxious Animals and Plants, West Palearctic Regional Section” (IOBC/WPRS). Os valores da mortalidade foram corrigidos (Mc) utilizando a fórmula de Abbott (1925), em função do número de insetos vivos observados no tratamento controle. Quando os produtos reduziram, em menos de 30% a mortalidade dos insetos em comparação ao tratamento controle, foram classificados de acordo com a escala de persistência da IOBC/WPRS em: 1 - vida curta (<5 dias); 2 - levemente persistente (5-15 dias); 3 - moderadamente persistente (16-30 dias) e 4 - persistente (>31 dias) (HASSAN, 1994).

5.2.7. Análises estatísticas

Para avaliar mortalidade, utilizou-se o modelo linear generalizado (GLM) com distribuição do tipo “binomial”. Dados de longevidade foram submetidos ao teste de sobrevivência de acordo com modelo de distribuição de Cox (COX, 1974). Para análise de emergência e razão sexual, os dados foram submetidos ao GLM (Modelos Lineares Generalizados) utilizando modelo de distribuição do tipo “betabinomial” ou “quasibinomial”. A qualidade do ajuste foi avaliada através de gráficos de probabilidade semi-normais com um envelope de simulação (DEMÉTRIO; HINDE; MORAL, 2014).

Os demais dados obtidos foram submetidos ao teste de Shapiro-Wilk e Bartlett (BARTLETT, 1950; SHAPIRO; WILK, 1965) ($p > 0,05$) para verificação dos pressupostos de normalidade e homocedasticidade da análise de variância (ANOVA). Os dados que não assumiram distribuição normal foram submetidos ao teste de Kruskal-Wallis (KRUSKAL; WALLIS, 1952) e, em seguida, à ajustes do tipo Bonferroni. Os dados que se encaixaram nos pressupostos foram submetidos a one-way ANOVA e, posteriormente, ao teste de médias Tukey (TUKEY, 1949).

Para as análises utilizou-se o programa estatístico R (R DEVELOPMENT CORE TEAM, 2016).

5.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.3.1. Efeito letal

Para os inseticidas Altacor® (clorantraniliprole), Atabron® (clorfluazuron), Certero® (triflumuron), Mimic® (tebufenozida) e Rimon® (novaluron), que foram considerados inócuos (classe 1) em teste de laboratório, foi possível confirmar a hipótese de classificação como vida curta em teste de persistência em semi-campo, os quais foram enquadrados na classe 1, conforme critérios da IOBC/WPRS (Tabela 2).

Já os inseticidas Ampligo® (lambda-cialotrina + clorantraniliprole) e Engeo™ Pleno (lambda-cialotrina + tiametoxam), os quais foram nocivos em laboratório (classe 4), causaram 86 e 100% de mortalidade, respectivamente, aos 5 dias após aplicação (DAA) ($P < 0,008$; g.l. = 6). Aos 15 e 30 DAA, Ampligo® causou 69 e 36% ($P < 0,001$; g.l. = 1), respectivamente, e Engeo™ Pleno causou 100% de mortalidade nas duas avaliações. Estes inseticidas foram

classificados como persistentes (classe 4) por ocasionarem mais de 30% de letalidade em todas as avaliações após 30 dias da aplicação (Tabela 2).

A persistência desses inseticidas pode estar relacionada à diversos fatores associados às suas composições químicas. Ambos possuem dois ingredientes ativos (i.a.) e compartilham de um mesmo i.a. do grupo químico dos piretroides, lambda-cialotrina. Com o mesmo efeito observado no presente trabalho, Karate® 1,75% EC 30 (lambda-cialotrina), apresentou ação prolongada em testes realizados sobre plantas de tomate, em casa de vegetação, aos parasitoides *Trichogrammatoidea* sp. nr. *lutea* e *Trichogramma* sp. nr. *mwanzai* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) e foi enquadrado na classe 4 (MOMANYI et al., 2012). Acredita-se que, em condições de semi-campo, a lenta degradação das moléculas inseticidas piretroides ocorre pela menor luminosidade no ambiente. Quando há maior luminosidade, em condições de campo, ocorre um processo de fotólise que acelera o processo de degradação (HOLMSTEAD et al., 1978; BI et al., 1996).

A diferença entre Ampligo® e Engeo™ Pleno pode ser explicada pela concentração do piretroide lambda-cialotrina, sendo no primeiro 5% e no segundo 10,6%. Além disso, Engeo™ Pleno contém neonicotinoide (tiametoxam), que causou alta mortalidade em laboratório e, provavelmente, contribuiu para que o inseticida provocasse 100% de letalidade para todos os espécimes que entraram em contato com folhas tratadas 30 DAA. Outros autores também constataram alta persistência de tiametoxam em citros e em milho, ocasionando mortalidade de inimigos naturais (YAMAMOTO et al., 2009; STEFANELLO et al., 2012). E Ampligo®, embora também seja classe 4 de acordo com a IOBC/WPRS, não causou mortalidade total em nenhuma análise de persistência e, ao longo das avaliações, houve um decréscimo de efeito letal, provavelmente devido a redução na concentração do resíduo.

Tabela 2. Média ($\pm$ erro padrão) do número de adultos vivos (n=20) de *Cotesia flavipes* 24 horas após contato direto com discos de folhas de cana-de-açúcar tratadas em casa de vegetação (5, 15 e 30 dias após aplicação - DAA), mortalidade corrigida (%) e classe de toxicidade dos compostos avaliados.

Tratamento	Número de insetos vivos ¹	Mc ²	Número de insetos vivos ¹	Mc ²	Número de insetos vivos ¹	Mc ²	Classe ³
	5 DAA		15 DAA		30 DAA		
Controle	16,2 $\pm$ 0,25 a	-	17,2 $\pm$ 0,28 a	-	17,2 $\pm$ 0,28 a	-	-
Altacor® 350 WG	16,2 $\pm$ 0,36 a	0	-	-	-	-	1
Ampligo® 50+100 SC	2,2 $\pm$ 0,41 b	86	5,4 $\pm$ 0,35 b	69	5,4 $\pm$ 0,35 b	36	4
Atabron® 50 EC	15,2 $\pm$ 0,35 a	6	-	-	-	-	1
Certero® 480 SC	17,8 $\pm$ 0,41 a	0	-	-	-	-	1
Engeo™ Pleno 106+141 SC	0 $\pm$ 0,00 *	100	0,0 $\pm$ 0,00 *	100	0,0 $\pm$ 0,00 *	100	4
Mimic® 240 SC	17,6 $\pm$ 0,39 a	0	-	-	-	-	1
Rimon® 100 EC	16,2 $\pm$ 0,36 a	0	-	-	-	-	1
P valor	$\leq 0,008$		$\leq 0,001$		$\leq 0,001$		

*Tratamentos foram excluídos da análise pela falta de variabilidade.

¹Médias seguidas da mesma letra não diferem de acordo com o modelo linear generalizado (GLM) com distribuição “binomial” ($P < 0,05$).

²Mc - mortalidade corrigida pela fórmula de Abbott (ABBOTT, 1925).

³Classe de persistência da IOBC/WPRS em: 1 - vida curta (<5 dias); 2 - levemente persistente (5-15 dias); 3 - moderadamente persistente (16-30 dias) e 4 - persistente (>31 dias) (HASSAN, 1994).

5.3.2. Efeito subletal

Aos 5 DAA, os tratamentos Altacor® (cloranthraniliprole), Atabron® (clorfluazuron), Certero® (triflumuron), Mimic® (tebufenozida) e Rimon® (novaluron) não causaram mortalidade, bem como nenhum efeito subletal avaliado. A longevidade média da geração maternal ($P = 0,5625$; g.l. = 5) e da geração F₁ ($P = 0,3098$; g.l. = 5) foi semelhante ao tratamento controle (Figuras 1 e 2). Para os parâmetros emergência, razão sexual, número de casulos por lagarta e duração ovo-adulto ($P > 0,05$; g.l. = 5) das gerações F₁ e F₂, também não se observou nenhuma modificação comparado-se ao tratamento (Tabelas 5 e 6). Esses inseticidas podem ter sido metabolizados em substâncias secundárias após contato com as folhas de cana-de-açúcar ao longo do tempo; entretanto, os resultados demonstraram que mesmo que tenha ocorrido alguma reação, não afetou o inimigo natural. À exemplo da persistência para insetos benéficos, Match® EC (lufenuron) pulverizado em pessegueiros não causou nenhum efeito colateral no predador *Chrysoperla externa* (Hagen) (Neuroptera: Chrysopidae) após quatro dias em contato com as folhas contaminadas (CASTILHOS et al., 2017).

Cloranthraniliprole (WG 0,03%) pulverizado em plantas de cana-de-açúcar e constatou-se que os resíduos deste ingrediente ativo na planta atingiram os valores máximos entre 5 e 7 dias, e após isso a persistência diminuiu (WANG; ZHANG, 2017). Como no presente estudo, a persistência de Altacor® causou baixa mortalidade de *Orius laevigatus* (Fieber) (Hemiptera: Anthocoridae) e não afetou o predador após 1, 7 e 14 dias da aplicação do produto (BIONDI et al., 2012).

Figura 1. Longevidade ($\pm$ desvio padrão) de fêmeas de *Cotesia flavipes* após contato com resíduos inseticidas (5 dias após aplicação – DAA) por 24 h (teste de sobrevivência, modelo de distribuição de Cox, $P < 0,05$).

Figura 2. Longevidade ($\pm$ desvio padrão) de fêmeas de *Cotesia flavipes* da geração F_1 após parasitismo em lagartas de quinto ínstar de *Diatraea saccharalis* (teste de sobrevivência, modelo de distribuição de Cox, $P < 0,05$).

Tabela 3. Médias ($\pm$ erro padrão) de emergência (%) e razão sexual das gerações F₁ e F₂ de fêmeas de *Cotesia flavipes* que tiveram contato direto com discos de folhas de cana-de-açúcar tratadas em casa de vegetação (5 dias após aplicação – DAA).

Tratamento	Emergência		Razão sexual	
	F ₁ ^a	F ₂ ^a	F ₁ ^a	F ₂ ^b
Controle	97,0 $\pm$ 0,97	84,2 $\pm$ 3,13	0,20 $\pm$ 0,32	0,62 $\pm$ 0,32
Altacor® 350 WG	95,6 $\pm$ 1,61	79,2 $\pm$ 4,92	0,23 $\pm$ 0,35	0,74 $\pm$ 0,32
Atabron® 50 EC	92,9 $\pm$ 3,35	86,7 $\pm$ 3,44	0,30 $\pm$ 0,34	0,65 $\pm$ 0,32
Certero® 480 SC	97,6 $\pm$ 1,93	85,0 $\pm$ 4,60	0,23 $\pm$ 0,37	0,63 $\pm$ 0,32
Mimic® 240 SC	95,6 $\pm$ 1,32	81,6 $\pm$ 4,29	0,23 $\pm$ 0,38	0,69 $\pm$ 0,32
Rimon® 100 EC	97,8 $\pm$ 1,84	77,7 $\pm$ 8,85	0,14 $\pm$ 0,35	0,49 $\pm$ 0,32

P. valor > 0,05

^aNão houve diferença significativa de acordo com o modelo linear generalizado (GLM) com distribuição “beta binomial” ($P < 0,05$).

^b Não houve diferença significativa de acordo com o modelo linear generalizado (GLM) com distribuição “quasi binomial” ($P < 0,05$).

Tabela 4. Médias ($\pm$ erro padrão) do número de casulos por lagarta e duração de ovo-adulto (dias) das gerações F₁ e F₂ de fêmeas de *Cotesia flavipes* que tiveram contato direto com discos de folhas de cana-de-açúcar tratadas.

Tratamento	Casulos por lagarta ^a		Duração ovo-adulto ^b	
	F ₁	F ₂	F ₁	F ₂
Controle	61 $\pm$ 4,66	36 $\pm$ 3,53	18,8 $\pm$ 0,2	21,4 $\pm$ 0,2
Altacor® 350 WG	59 $\pm$ 4,79	42 $\pm$ 3,53	18,9 $\pm$ 0,2	21,1 $\pm$ 0,2
Atabron® 50 EC	50 $\pm$ 4,79	36 $\pm$ 3,42	19,2 $\pm$ 0,2	21,1 $\pm$ 0,2
Certero® 480 SC	58 $\pm$ 4,54	33 $\pm$ 3,66	18,2 $\pm$ 0,2	21,9 $\pm$ 0,2
Mimic® 240 SC	60 $\pm$ 5,43	30 $\pm$ 3,42	18,9 $\pm$ 0,2	21,4 $\pm$ 0,2
Rimon® 100 EC	58 $\pm$ 5,08	32 $\pm$ 4,56	19,2 $\pm$ 0,2	21,5 $\pm$ 0,2

P. valor > 0,05

^a Não houve diferença significativa de acordo com o teste de Tukey ($P < 0,05$)

^b Não houve diferença significativa de acordo com o teste Kruskal-Wallis ($P < 0,05$)

O inseticida Ampligo® causou mortalidade de mais de 30% dos espécimes após 30 dias da aplicação, porém, acredita-se que a concentração do produto foi reduzida após esse período e foi possível avaliar efeitos subletais do restante que sobreviveu. A longevidade da geração maternal ($P = 0,7199$; g.l. = 1) (Figura 3) foi semelhante ao tratamento controle e da geração F₁ ($P = 0,0274$; g.l. = 5) (Figura 4) foi prolongada, resposta positiva que pode ter ocorrido pelo efeito hormese (CUTLER, 2013). Alguns estudos reportaram comportamentos melhores do que os que ocorrem naturalmente de insetos quando submetidos à subdoses de piretroides (DESNEUX; PHAM-DELÈGUE; KAISER, 2004; FERNANDES et al., 2016; LALOUETTE et al., 2016).

Para os demais parâmetros avaliados (Tabelas 7, 8 e 9) ($P > 0,05$; g.l. = 1) não houve diferenças em relação ao tratamento controle. Hipoteticamente, os insetos foram mais

resistentes à concentração mais baixa e é possível que houve ação de enzimas detoxificadoras em seus organismos.

Figura 3. Média ($\pm$ desvio padrão) da longevidade de fêmeas de *Cotesia flavipes* após contato com resíduos inseticidas (30 dias após aplicação – DAA) por 24 h (teste de sobrevivência, modelo de distribuição de Cox, $P < 0,05$).

Figura 4. Média ($\pm$ desvio padrão) da longevidade de fêmeas de *Cotesia flavipes* da geração F_1 de fêmeas que tiveram contato com resíduos inseticidas (30 dias após aplicação – DAA) por 24 h (teste de sobrevivência, modelo de distribuição de Cox, $P < 0,05$).

Tabela 5. Médias ($\pm$ erro padrão) da emergência (%) e razão sexual das gerações F₁ e F₂ de fêmeas de *Cotesia flavipes* que tiveram contato direto com discos de folhas de cana-de-açúcar tratadas em casa de vegetação (30 dias após aplicação - DAA).

Tratamento	Emergência*		Razão sexual*	
	F ₁	F ₂	F ₁	F ₂
Controle	92,8 $\pm$ 1,48	95,3 $\pm$ 1,09	0,58 $\pm$ 0,45	0,58 $\pm$ 0,31
Ampligo® 50+100 SC	89,8 $\pm$ 1,41	92,4 $\pm$ 1,61	0,57 $\pm$ 0,29	0,58 $\pm$ 0,23
P. valor > 0,05				

*Não houve diferença significativa de acordo com o modelo linear generalizado (GLM) com distribuição “beta binomial” ($P < 0,05$).

Tabela 6. Médias ($\pm$ erro padrão) do número de casulos por lagarta, e peso das massas de casulos (mg) das gerações F₁ e F₂ de fêmeas de *Cotesia flavipes* que tiveram contato direto com discos de folhas de cana-de-açúcar tratadas em casa de vegetação (30 dias após aplicação - DAA).

Tratamento	Casulos por lagarta		Peso das massas de casulos	
	F ₁ ^a	F ₂ ^b	F ₁ ^a	F ₂ ^a
Controle	64,9 $\pm$ 5,7	64,9 $\pm$ 5,7	60,0 $\pm$ 4,3	60,3 $\pm$ 4,4
Ampligo® 50+100 SC	67,3 $\pm$ 5,7	67,3 $\pm$ 5,7	59,0 $\pm$ 4,4	59,7 $\pm$ 3,9
P. valor > 0,05				

^a Não houve diferença significativa de acordo com o teste Scott-knott ($P < 0,05$)

^b Não houve diferença significativa de acordo com o teste Kruskal-Wallis ($P < 0,05$)

Tabela 7. Médias ($\pm$ erro padrão) da duração ovo-adulto (dias) das gerações F₁ e F₂ e da medida da tibia posterior direita (mm) da geração F₁ de fêmeas de *Cotesia flavipes* que tiveram contato direto com discos de folhas de cana-de-açúcar tratadas em casa de vegetação (30 dias após aplicação - DAA).

Tratamento	Duração ovo-adulto*		Medida da tibia*
	F ₁	F ₂	F ₁
Controle	20,5 $\pm$ 0,2	20,9 $\pm$ 0,14	0,60 $\pm$ 0,01
Ampligo® 50+100 SC	20,2 $\pm$ 0,2	20,8 $\pm$ 0,12	0,60 $\pm$ 0,01
P. valor > 0,05			

* Não houve diferença significativa de acordo com o teste Kruskal-Wallis ($P < 0,05$)

5.4. CONCLUSÃO

- Os inseticidas Altacor® 350 WG, Atabron® 50 EC, Certero® 480 SC, Mimic® 240 SC e Rimon® 100 EC são inseticidas vida curta (classe 1) e não causam efeitos subletais ao parasitoide;

- EngeoTM Pleno 106+141 SC e Ampligo® 50+100 SC são inseticidas persistentes (classe 4).

REFERÊNCIAS

- ABBOTT, W.S. A method of computing the effectiveness of an insecticide. **Journal of Economic Entomology**, v. 18, p. 265-266, 1925.
- AGROFIT, 2016. Sistema de agrotóxicos fitossanitários. Disponível em: http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons. Acessado em 20 de março de 2016.
- BARTLETT, M. S. Tests of significance in factor analysis. **British Journal of Mathematical and Statistical Psychology**, v. 3, n. 2, p. 77-85, 1950.
- BI, G.; TIAN, S.; FENG, Z.; CHENG, J. Study on the sensitized photolysis of pyrethroids; 1. Kinetic characteristic of photooxidation by singlet oxygen. **Chemosphere**, v. 32, n. 7, p. 1237-1243, 1996.
- BIONDI, A.; DESNEUX, N.; SISCARO, G.; ZAPPALÀ, L. Using organic certified rather than synthetic pesticides may not be safer for biological control agents: Selectivity and side effects of 14 pesticides on the predator *Orius laevigatus*. **Chemosphere**, v. 87, p. 803-812, 2012.
- CASTILHOS, R.V., GRÜTZMACHER, A.D., NEVES, M.B.D., MORAES, Í.L.D. AND GAUER, C.J. Selectivity of insecticides used in peach farming to larvae of *Chrysoperla externa* (Neuroptera: Chrysopidae) in semi-field conditions. **Revista Caatinga**, v. 30, n. 1, p. 109-115, 2017.
- COX, D. R. Regression models and life tables (with discussion). **Journal of the Royal Statistics Society**, v. 34, p. 187-220, 1972.
- CUTLER, G.C. Insects, insecticides and hormesis: evidence and considerations for study. **Dose-Response**, v. 11, n. 2, p. 154-177, 2013.
- DEMÉTRIO, C. G. B.; HINDE, J; MORAL, R. A. Models for Overdispersed Data in Entomology. In: Ferreira, C. P.; Godoy, W. A. C., editors. **Ecological Modelling Applied to Entomology**, Springer; p. 219-259, 2014.
- DESNEUX, N.; PHAM-DELÈGUE, M.H.; KAISER, L. Effects of sub-lethal and lethal doses of lambda-cyhalothrin on oviposition experience and host-searching behavior of a parasitic wasp, *Aphidius ervi*. **Pest management science**, v. 60, n. 4, p. 381-389, 2004.
- FAO, **Food and Agriculture Organization of the United Nations**. 2015. Disponível em: <http://faostat3.fao.org/browse/Q/QC/E>. Acessado em 16 de junho de 2017.

- FERNANDES, M. E.; ALVES, F. M.; PEREIRA, R. C.; AQUINO, L. A.; FERNANDES, F. L.; ZANUNCIO, J. C. Lethal and sublethal effects of seven insecticides on three beneficial insects in laboratory assays and field trials. **Chemosphere**, v. 156, p. 45-55, 2016.
- HASSAN, S. A. Activities of the IOBC/WPRS Working Group "Pesticides and Beneficial Organisms". **IOBC/WPRS Bulletin**, v. 17, n. 10, p. 1-5, 1994.
- HOLMSTEAD, R. L.; CASIDA, J. E.; RUZO, L. O.; FULMER, D. G. Pyrethroid photodecomposition: permethrin. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 26, p. 590-595, 1978.
- KÖHLER, H.R.; TRIEBSKORN, R. Wildlife ecotoxicology of pesticides: can we track effects to the population level and beyond? **Science**, v. 341, n. 6147, p. 759-765, 2013.
- KOGAN, M. Integrated pest management: historical perspectives and contemporary developments. **Annual review of entomology**, v. 43, n. 1, p. 243-270, 1998.
- KRUSKAL, W. H.; WALLIS, W. A. Use of ranks in one-criterion variance analysis. **Journal of the American Statistical Association**, v. 47, n. 260, p. 583-621, 1952.
- LALOUETTE, L.; POTTIER, M. A.; WYCKE, M. A.; BOITARD, C.; BOZZOLAN, F.; MARIA, A.; DEMONDION, E.; CHERTEMPS, T.; LUCAS, P.; RENAULT, D.; MAIBECHE, M. Unexpected effects of sublethal doses of insecticide on the peripheral olfactory response and sexual behavior in a pest insect. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 23, n. 4, p. 3073-3085, 2016.
- MACEDO, N.; BOTELHO, P. S. M. Controle integrado da broca da cana-de-açúcar, *Diatraea saccharalis* (Fabr., 1794) (Lepidoptera: Pyralidae). **Brasil Açucareiro**, v. 106, n. 2, p. 2-14. 1988
- MATSON, P. A.; PARTON, W. J.; POWER, A. G.; SWIFT, M. J. Agricultural intensification and ecosystem properties. **Science**, v. 277, p. 504-509, 1997.
- MENDONÇA FILHO, A. F.; RISCO, S. H. B.; COSTA J. M. B. Introduction and rearing of *Apanteles flavipes* Cameron (Hymenoptera: Braconidae) in Brazil. **In Proceedings of the 19th Congress of International Society of Sugarcane Technologists**, São Paulo, 1977.
- MOMANYI, G.; MARANGA, R.; SITHANANTHAM, S.; AGONG, S.; MATOKA, C. M.; HASSAN, S. A. Evaluation of persistence and relative toxicity of some pest control products to adults of two native trichogrammatid species in Kenya. **BioControl**, v. 57, n. 5, p. 591-601, 2012.
- MUZEYI, S. S.; JEMBERE, B. Effects of botanicals, a synthetic insecticide and an insect growth regulator on survival and development of the parasitoid wasp *Cotesia flavipes*

- parasitising the stem-boring moth *Chilo partellus*. **International Journal of Pest Management**, v. 51, n. 1, p. 25-30, 2005.
- R DEVELOPMENT CORE TEAM. **R: A Language and Environment for Statistical Computing**. Version 3.2.5. Vienna, Austria: R Foundation for Statistical Computing, 2016.
- SCOTT, A. J.; KNOTT, M. Cluster analysis method for grouping means in the analysis of variance. **Biometrics**, v. 30, p. 507-512, 1974.
- SHAPIRO, S. S.; WILK, M. B. An analysis of variance test for normality (complete samples). **Biometrika**, v. 52, n. 3/4, p. 591-611, 1965.
- SHARMA, S.; SINGH, B. Persistence of imidacloprid and its major metabolites in sugarcane leaves and juice following its soil application. **International Journal of Environmental Analytical Chemistry**, v. 94, n. 4, p. 319-331, 2014.
- STEFANELLO, G. J.; GRUTZMACHER, A. D.; SPAGNOL, D.; PASINI, R. A.; BONEZ, C.; CARVALHO MOREIRA, D. Persistência de agrotóxicos utilizados na cultura do milho ao parasitoide *Trichogramma pretiosum* Riley, 1879 (Hymenoptera: Trichogrammatidae). **Ciência Rural**, v. 42, n. 1, p. 17-23, 2012.
- TUKEY, J.W. Comparing individual means in the analysis of variance. **Biometrics**, p. 99-114, 1949.
- WANG, D.; ZHANG, K. Determination of the dissipation dynamics and residue behaviors of chlorantraniliprole in sugarcane and soil by LC–MS/MS. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 189, n. 8, p. 372, 2017.
- YAMAMOTO, P. T.; FELLIPE, M. R.; SANCHES, A. L.; COELHO, J. H.; GARBIM, L. F.; XIMENES, N. L. Eficácia de inseticidas para o manejo de *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae) em citros. **BioAssay**, v. 4, 2009.

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Para o manejo integrado de *Diatraea saccharalis* (Fabricius) (Lepidoptera: Crambidae) na cultura da cana-de-açúcar é importante o conhecimento do efeito dos inseticidas usados para controle desta praga sobre *Cotesia flavipes* (Cameron) (Hymenoptera: Braconidae), espécie utilizada em programas de controle biológico da praga. Até o presente estudo, poucos eram os conhecimentos sobre os possíveis efeitos letal e subletais de resíduos de inseticidas pulverizados em folhas de cana-de-açúcar sobre o parasitoide.

Em testes realizados em laboratório, com as maiores concentrações recomendadas para uso em campo, Altacor® 350 WG, Atabron® 50 EC, Certero® 480 SC, Mimic® 240 SC e Rimon® 100 EC não causaram efeito letal à este inimigo natural e, portanto, são inseticidas inócuos e foram enquadrados na classe 1 da classificação de toxicidade da IOBC/WPRS. Engeo™ Pleno e Ampligo® causaram 100% de mortalidade ao parasitoide e foram enquadrados na classe 4, sendo considerados nocivos.

Foi possível observar que apenas Mimic® 240 SC não causou efeitos letal e subletais, podendo assim ser utilizado em associação com liberações de *C. flavipes* para controle da broca-da-cana. Altacor® 350 WG, Atabron® 50 EC, Certero® 480 SC e Rimon® 100 EC reduziram o tamanho da tíbia posterior de fêmeas da geração F₁; Atabron® 50 EC causou redução no peso das massas de casulos e Rimon® 100 EC reduziu a razão sexual da geração F₂.

Em testes para avaliação da persistência residual, Engeo™ Pleno e Ampligo® foram considerados persistentes, sendo enquadrados na classe 4 da escala proposta pela IOBC/WPRS. Embora sejam considerados persistentes, o efeito desses inseticidas, principalmente aos dias 30 dias após a aplicação, foi diferente, devido provavelmente a mistura de inseticidas de cada um e as suas formulações distintas.

Contudo, sugere-se que as liberações de *C. flavipes* sejam feitas antes da aplicação dos inseticidas Altacor® 350 WG, Atabron® 50 EC, Certero® 480 SC, Rimon® 100 EC, Engeo™ Pleno e Ampligo®, para evitar efeitos prejudiciais à eficácia do controle biológico. Ademais, testes com Engeo™ Pleno e Ampligo® devem ser realizados em nível de campo para conhecimento do efeito letal devido à persistência residual.