

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

**Controle biológico de *Gymnandrosoma aurantianum* Lima, 1927, o bicho-  
furão-dos-citros, com o parasitoide de ovos *Trichogramma atopovirilia*  
Oatman & Platner, 1983**

**Lucas Vinicius Cantori**

Tese apresentada para obtenção do título de Doutor em  
Ciências. Área de concentração: Entomologia

**Piracicaba  
2023**

**Lucas Vinicius Cantori**  
**Engenheiro Agrônomo**

**Controle biológico de *Gymnandrosoma aurantianum* Lima, 1927, o bicho-furão-dos-citros, com o parasitoide de ovos *Trichogramma atopovirilia* Oatman & Platner, 1983**

versão revisada de acordo com a resolução CoPGr 6018 de 2011

Orientador:  
Prof. Dr. **JOSÉ ROBERTO POSTALI PARRA**

Tese apresentada para obtenção do título de Doutor em Ciências. Área de concentração: Entomologia

**Piracicaba**  
**2023**

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

Cantori, Lucas Vinicius

Controle biológico de *Gymnandrosoma aurantianum* Lima, 1927, o bicho-furão-dos-citros, com o parasitoide de ovos *Trichogramma atopovirilia* Oatman & Platner, 1983 / Lucas Vinicius Cantori. - - versão revisada de acordo com a resolução CoPGr 6018 de 2011 - - Piracicaba, 2023.

82 p.

Tese (Doutorado) - - USP / Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”.

1. Praga dos citros 2. Parasitoide de ovos 3. MIP 4. Controle biológico 5. Liberação de *Trichogramma* 6. Seletividade I. Título

## AGRADECIMENTOS

A Deus

Ao Prof. Dr. José Roberto Postali Parra pela orientação, ensinamentos, paciência e confiança e por estar sempre disponível.

À minha esposa Maria Lígia e minha filha amada Sofia.

À minha querida família, meus pais, Gilberto e Denir, minha irmã Daniela e meu sobrinho Olavo, pelo carinho e amor.

Aos meus avós, Judite e Antônio (*in memorian*), Salvador (*in memorian*) e Aparecida (*in memorian*).

Ao meu parceiro de jornada Alexandre de Sene Pinto, por sempre me apoiar no meu aprimoramento profissional, pela confiança e amizade.

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

Aos professores que compõem o corpo docente do Programa de Pós-Graduação em Entomologia.

Ao Coordenador em exercício do programa do Programa de Pós-Graduação em Entomologia, Prof. Dr. Fernando Luis Cônsoli e aos Professores do Departamento de Entomologia, em especial Dr. Pedro Takao Yamamoto e Dr. José Maurício Simões Bento.

À técnica do Laboratório de Biologia de Insetos, Neide Graciano Zério, pela colaboração na criação das espécies utilizadas nos experimentos e pela amizade.

Aos estagiários Luan, Geraldo, Gabriel, Heloísa, Leonardo, Bruno, que colaboraram na realização dos experimentos e criações de insetos.

Aos pós-docs Alexandre José Ferreira Diniz e Adriano Gomes Garcia, pela ajuda nos delineamentos experimentais e análises.

Ao meu amigo Fernando Iost, por ter sido meu parceiro e pela ajuda em vários momentos do doutorado.

A todos os amigos integrantes do Laboratório de Biologia de Insetos, pelo bom tempo que passamos juntos.

Ao Fundecitrus, (Projeto Tamarixia – 837), por todo o suporte financeiro e técnico necessários para a realização da presente pesquisa.



À Koppert Brasil – Produtos Biológicos, pelo fornecimento de material para os experimentos e pela confiança e apoio.

Às empresas NCB – Sistemas Embarcados e Agro21, pelo suporte com a tecnologia de liberação de parasitoides.

Ao SparcBio, (Fapesp-Koppert, 2018/02317-5), pelo suporte financeiro da pesquisa.

## SUMÁRIO

RESUMO.....	7
ABSTRACT .....	8
1. INTRODUÇÃO.....	9
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	11
2.1. Panorama citrícola no Brasil e em outras partes do mundo .....	11
2.2. Bioecologia e comportamento de <i>Gymnandrosoma aurantianum</i> Lima, 1927 .....	12
2.3. Danos e importância econômica.....	13
2.4. Táticas de controle de <i>G. aurantianum</i> em pomares cítricos .....	14
2.4.1. Monitoramento .....	14
2.4.2. Controle químico .....	15
2.4.3. Controle cultural .....	16
2.4.4. Controle biológico .....	17
2.5. Uso de espécies de <i>Trichogramma</i> em programas de controle biológico .....	17
2.6. Seleção de espécies de <i>Trichogramma</i> .....	19
2.7. Tecnologia de liberação de <i>Trichogramma</i> .....	20
3. MATERIAL E MÉTODOS .....	25
3.1. Seleção de espécies de <i>Trichogramma</i> para o controle de <i>Gymnandrosoma aurantianum</i> Lima, 1927 .....	25
3.1.1. Coleta de frutos atacados por <i>G. aurantianum</i> para manutenção da praga em laboratório e criação de <i>Trichogramma</i> spp. ....	25
3.1.2. Criação de <i>G. aurantianum</i> em laboratório .....	25
3.1.3. Criação de <i>Trichogramma</i> spp. em laboratório .....	26
3.1.4. Seleção de espécies de <i>Trichogramma</i> spp. ....	27
3.2. Determinação da quantidade de <i>T. atopovirilia</i> a ser liberada por hectare .....	28
3.3. Determinação do momento mais adequado para liberação e do número de liberações de <i>T. atopovirilia</i> .....	33
3.4. Seletividade de produtos a <i>T. atopovirilia</i> .....	37
3.4.1. Avaliação dos efeitos letal e subletais em adultos de <i>T. atopovirilia</i> .....	37
3.4.2. Avaliação dos efeitos letal e subletais em pupas de <i>T. atopovirilia</i> .....	38
3.4.3. Efeitos residuais (persistência) de inseticidas em <i>T. atopovirilia</i> .....	39
3.4.4. Análise estatística .....	39
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	41

4.1. Seleção de espécies de <i>Trichogramma</i> para o controle de <i>Gymnandrosoma aurantianum</i> Lima, 1927.....	41
4.2. Determinação da quantidade do parasitoide <i>T. atopovirilia</i> a ser liberada por hectare. ....	47
4.3. Determinação do momento mais adequado para liberação e do número de liberações de <i>T. atopovirilia</i> .....	52
4.4. Seletividade de produtos a <i>T. atopovirilia</i> .....	55
4.4.1. Avaliação dos efeitos letal e subletais em adultos de <i>T. atopovirilia</i> .....	55
4.4.2. Avaliação dos efeitos letal e subletais em pupas de <i>T. atopovirilia</i> .....	60
4.4.3. Efeitos residuais (persistência) de inseticidas em <i>T. atopovirilia</i> .....	61
5. CONCLUSÕES.....	67
REFERÊNCIAS.....	69

## RESUMO

### **Controle biológico de *Gymnandrosoma aurantianum* Lima, 1927, o bicho-furão-dos-citros, com o parasitoide de ovos *Trichogramma atopovirilia* Oatman & Platner 1983**

No final da década de 1980 houve danos significativos à citricultura brasileira em consequência dos danos causados pelo bicho-furão-dos-citros, *Gymnandrosoma aurantianum* Lima, 1927 (Lepidoptera: Tortricidae), muito provavelmente em decorrência dos desequilíbrios causados pelas excessivas aplicações de produtos químicos para o controle das cigarrinhas transmissoras da Clorose Variegada dos Citros (CVC). No entanto, na década seguinte (1990), foi desenvolvido um método de amostragem de adultos da praga, por meio de um feromônio sintético patenteado como Ferocitrus Furão<sup>®</sup>, com o qual foi possível racionalizar e diminuir as aplicações de inseticidas. Dessa forma, a citricultura paulista evitou perdas de mais de US\$ 1,3 bilhão no período de 2001-2012. No entanto, após 2004, com o aparecimento do *greening* no Brasil, as aplicações de produtos químicos novamente se intensificaram, agora para o controle da *Diaphorina citri* Kuwayama, 1908 (Hemiptera: Psyllidae), transmissora da doença. Portanto houve uma nova explosão populacional do bicho-furão. Assim, o objetivo deste trabalho foi estudar uma opção de controle biológico do bicho-furão-dos-citros, por meio do parasitoide de ovos *Trichogramma*. Foi feita uma seleção de espécies de *Trichogramma* (*Trichogramma atopovirilia* Oatman & Platner, 1983, *Trichogramma pretiosum* Riley, 1879 e *Trichogramma galloi* Zucchi, 1988) quanto ao potencial de parasitismo. A espécie selecionada foi *T. atopovirilia*. Foram liberadas, em condições de campo, três quantidades do parasitoide (150.000, 600.000 e 2.400.000/ha) por meio de drones georreferenciados. Avaliou-se diariamente a oviposição de *G. aurantianum* e observou-se o pico de oviposição, em laboratório, para a determinação do momento de liberação dos parasitoides com base na coleta de adultos na armadilha de feromônio. Após tais determinações, liberaram-se uma, duas e três vezes a quantidade da qual houve maior parasitismo. Paralelamente, foram realizados testes de seletividade de produtos sobre a espécie *T. atopovirilia*, que eventualmente possam ser aplicados em citros. De acordo com os resultados obtidos, *T. atopovirilia* (linhagem ATP) apresentou maior potencial de controle do bicho-furão-dos-citros. A quantidade de 150 mil parasitoides da espécie *T. atopovirilia* por hectare, em 3 liberações, a intervalos semanais, foi a mais adequada. O drone utilizado na liberação permitiu uma dispersão homogênea dos parasitoides em citros. O momento ideal para a realização da primeira liberação foi entre o quinto e sétimo dias após a constatação do nível de controle na armadilha de feromônio. Os produtos químicos ciantraniliprole, sulfoxaflor, abamectina, a mistura ciantraniliprole + abamectina e o fungo entomopatogênico *Cordyceps fumosorosea* (Wize) Kepler, B. Shrestha & Spatafora, foram seletivos ao parasitoide e poderão ser utilizados mesmo com a liberação de *T. atopovirilia* desde que se respeite um intervalo de 3 a 7 dias entre aplicações de tais produtos, após a liberação do parasitoide.

Palavras-chave: Praga dos citros, Parasitoide de ovos, MIP, Controle biológico, Liberação de *Trichogramma*, Seletividade

## ABSTRACT

### **Biological control of *Gymnandrosoma aurantianum* Lima, 1927 with the egg parasitoid *Trichogramma atopovirilia* Oatman & Platner, 1983**

The citrus fruit borer, *Gymnandrosoma aurantianum* Lima, 1927 (Lepidoptera: Tortricidae) became a key pest for citrus growers in São Paulo state in the late 1980s, probably due to biological imbalances caused by excessive application of insecticides to control the vectors of Citrus Variegated Chlorosis (CVC). At the end of the 1990s, a pheromone was developed to rationalize the control of *G. aurantianum*, patented as Ferocitrus Furão® and used successfully since the end of 2001, preventing losses of more than US\$1.3 billion to São Paulo citrus growers during 2001–2012. However, after 2004, with the first records of citrus greening in Brazil and massive applications of chemical products to control *Diaphorina citri* Kuwayama, 1908 (Hemiptera: Psyllidae), there was a new population explosion of the citrus fruit borer. Thus, the objective of this study was to evaluate an option for biological control of the citrus fruit borer, using the egg parasitoid *Trichogramma*. For this purpose, a laboratory population of the pest reared on an artificial diet was established. The *Trichogramma* species *Trichogramma atopovirilia* Oatman & Platner, 1983; *Trichogramma pretiosum* Riley, 1879; and *Trichogramma galloi* Zucchi, 1988 were evaluated regarding their potential for parasitism. The effectiveness of three quantities of parasitoids (150,000, 600,000, and 2,400,000/ha) released from a drone was determined under field conditions. The oviposition of *G. aurantianum* was evaluated daily and the oviposition peak was observed to determine the optimum time to release the parasitoids, based on collection of adults in the pheromone trap. After these determinations, 150,000 parasitoids of the selected species *T. atopovirilia* were released once, twice, and three times, starting when the control level was reached in the field traps. At the same time, the selectivity of products that may eventually be applied to citrus crops was tested against *T. atopovirilia*. According to the results, it is recommended to release 150,000 *T. atopovirilia* parasitoids per hectare, 3 times, at weekly intervals. The optimum time to conduct the first release of *T. atopovirilia* is 5 to 7 days after determination of the control level in the pheromone trap used to monitor *G. aurantianum*. The chemical products ciatraniliprole, sulfoxaflo, abamectin, and a mixture of cyantraniliprole + abamectin, and the entomopathogenic fungus *Cordyceps fumosorosea* (Wize) Kepler, B. Shrestha & Spatafora can be used together with *T. atopovirilia*, as long as there is a 3 to 7-day interval between applications of these products and releases of the parasitoid.

**Keywords:** Citrus Pest, Egg parasitoid, IPM, Biological control, Release of *Trichogramma*, Selectivity

## 1. INTRODUÇÃO

*Gymnandrosoma aurantianum* Lima, 1927 (Lepidoptera: Tortricidae), o bicho-furão-dos-citros, tornou-se uma praga chave para a citricultura paulista no final da década de 1980, principalmente devido aos desequilíbrios biológicos causados pela aplicação excessiva de produtos químicos para controle dos vetores da Clorose Variegada dos Citros (CVC) (Parra et al. 2005).

Contudo, pesquisas lideradas pelo Departamento de Entomologia e Acarologia da ESALQ, com o apoio do Fundecitrus e a participação da UFV (Universidade Federal de Viçosa) e Universidade da Califórnia – UC Davis, chegaram a um pacote tecnológico, com a identificação de um feromônio sexual visando ao controle do bicho-furão. O produto, Ferocitrus Furão, foi utilizado com sucesso desde o final de 2001 e evitou perdas de mais de 1,3 bilhão de dólares no período de 2001-2012 (Bento et al. 2016) na região centro-sul do Brasil. No entanto, após 2004, com os primeiros registros do *greening* (Huanglongbing - HLB) no Brasil e o grande número de aplicações de produtos químicos para controle do vetor, o psilídeo *Diaphorina citri* Kuwayma, 1908 (Hemiptera: Psyllidae), houve uma nova explosão populacional do bicho-furão na citricultura paulista (Bento et al. 2019).

Atualmente, no Brasil, estima-se um prejuízo anual na ordem de 80 milhões de dólares, em decorrência dos danos causados pelo bicho-furão somados aos danos das moscas-das-frutas (Bento 2019). Perdem-se anualmente cerca de 30 milhões de caixas de laranja, número próximo às perdas causadas pelo *greening* (Fundecitrus 2023a).

Hoje o manejo do bicho-furão é realizado basicamente com a aplicação de inseticidas na forma de “calendário”, com aplicações semanais ou quinzenais. O monitoramento com feromônio sexual, ferramenta imprescindível para o controle dessa praga, deixou de ser utilizado pela maioria dos produtores de laranja. A indisponibilidade do feromônio sintético (Ferocitrus Furão®), a fragilidade da armadilha em condições de campo (pela chuva e calor) e a falta de transferência da tecnologia ao agricultor, levaram à descrença da tecnologia para o controle de *G. aurantianum* entre os citricultores.

Assim, o objetivo deste trabalho foi estudar mais uma alternativa de controle do bicho-furão-dos-citros, por meio do parasitoide de ovos, *Trichogramma* spp. (Hymenoptera: Trichogrammatidae). Para tal estudo, foi estabelecida uma população da praga criada em dieta artificial em condições de laboratório (Greene et al. 1976; Garcia & Parra 1999). Realizou-se a seleção da espécie *Trichogramma atopovirilia* Oatman & Platner, 1983 com base em seu parasitismo (Bowen & Stern 1996; Geremias 2008). Foi determinada a quantidade de parasitoides a serem liberados por hectare e o número de liberações por meio

de drone, uma inovação para a citricultura brasileira. Após tais determinações foram realizadas as liberações, já mencionadas, deste parasitoide via drone a partir do nível de controle estabelecido para o bicho-furão, por meio da armadilha de feromônio (feromônio sexual *Ferocitrus Furão*®), baseado em estudos preliminares realizados por Carvalho (2003) e Gómez-Torres (2005).

Paralelamente, foram realizados estudos de seletividade de produtos químicos que futuramente serão utilizados na citricultura brasileira, sobre o parasitoide de ovos, pois o agricultor continua a utilizar inseticidas para controle do psíldeo e outras pragas, embora disponha-se de outras alternativas não químicas. A liberação do parasitoide em conjunto com aplicações de inseticidas seletivos para diversas pragas dos citros, aliados ao monitoramento por meio de armadilhas de feromônio, poderá se tornar um novo pacote tecnológico para o controle de *G. aurantianum* no Brasil e, como consequência, diminuir os prejuízos causados por esta praga à citricultura brasileira.

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1. Panorama citrícola no Brasil e em outras partes do mundo

O Brasil é o maior produtor mundial de laranjas, sendo que três em cada cinco copos de suco de laranja consumidos no mundo, são provenientes da produção brasileira, que basicamente está concentrada no estado de São Paulo (72% da produção) e parte no sul de Minas Gerais. Das mais de 300 milhões de caixas de laranja produzidas nacionalmente por ano, cerca de 30% da produção são destinadas ao mercado *in natura* e o restante (70%) é destinado à indústria (Fundecitrus 2023a). Na segunda colocação, em termos de produtividade, estão os EUA, que vêm sofrendo com a queda da produção de laranja nos últimos anos em decorrência do *greening* (HLB) e das condições climáticas adversas que podem atingir a Flórida. A safra de 2020/2021 foi marcada como a de menor produção nos últimos 50 anos (1,2 bilhão de litros de suco de laranja). No estado da Flórida se concentra pouco mais de 80% da produção nacional americana e o restante dos pomares está dividido entre Califórnia e Texas. O destino da produção é similar o do Brasil (30% para o mercado *in natura* e 70% para a indústria) (Notícias Agrícolas 2021).

De acordo com o USDA (United States Department of Agriculture), a produção de laranjas na China (3ª colocada) vem aumentando anualmente; assim, na safra 2020/2021 foram atingidos 7,5 milhões de toneladas naquele país, devido ao aumento no plantio de árvores cítricas nos últimos anos (Citrus BR 2021). O país asiático tem um cenário um pouco diferente do ocidente (Brasil e EUA) quanto ao destino das frutas produzidas, pois 90% da produção são destinados ao mercado *in natura* e 10% destinados à indústria.

O México, quarto colocado em termos de produtividade, tem um cenário parecido com o da China, quanto ao destino da produção, 70% são destinados ao mercado *in natura* e 30% à indústria (HF Brasil 2021).

De forma geral, a produção citrícola no mundo tem crescido, embora ainda enfrente alguns problemas, pois devido ao grande número de pragas presentes nos pomares de laranjas, aplica-se muito inseticida (Parra et al. 2022). Ao longo da história diferentes problemas fitossanitários foram registrados na citricultura mundial, sendo que o *greening* é o maior deles e ainda não existem técnicas capazes de acabar com o problema, embora existam algumas medidas que quando utilizadas conjuntamente, têm grande chance de redução dos danos (Ayres et al. 2018).

Os americanos têm “competido” pela liderança da produção citrícola com o Brasil, usando diferentes técnicas de controle do *greening*. O Brasil, por sua vez, vem adotando medidas mais abrangentes, com resultados mais promissores.



No cenário atual da citricultura, a segunda praga de maior importância na cultura dos citros no Brasil é o bicho-furão-dos-citros, *Gymnandrosoma aurantianum* Lima, 1927, ao lado das moscas-das-frutas, embora em outros países, a referida praga não seja economicamente importante, sendo que no Brasil as perdas anuais chegam a 80 milhões de dólares, conforme comentado anteriormente.

## **2.2. Bioecologia e comportamento de *G. aurantianum***

Os adultos apresentam uma envergadura de 17 mm (Fonseca 1934), as asas são de coloração marrom escura e geralmente as asas das fêmeas são mais escuras em relação às asas dos machos, tendo uma mancha característica marrom clara (Prates & Pinto 1988). Além da coloração das asas, é possível distinguir o sexo da espécie de outras formas. Na fase larval os machos apresentam manchas testiculares no dorso. Nos adultos, diferenciam-se pelo tamanho, sendo as fêmeas maiores do que os machos e pela abertura no último segmento abdominal das fêmeas (Garcia 1998). Devido ao pequeno tamanho do referido microlepidóptero e pela sua coloração marrom escuro, durante o dia, são difíceis de serem visualizadas (mimetismo) (Garcia 1998). Nos horários mais quentes do dia os adultos buscam refúgio no terço inferior médio das plantas, geralmente sobre as folhas e ramos, buscando uma condição climática de umidade mais elevada e temperatura mais amena (Bento et al. 2001).

O hábito de cópula dos indivíduos é noturno, com início da movimentação seguida de acasalamento, na faixa do crepúsculo entre 18:00 e 20:00 horas e preferencialmente no terço superior da planta. Oitenta por cento (80%) dos acasalamentos de *G. aurantianum* ocorrem no terceiro ou quarto dias de vida do adulto. Após o acasalamento, as fêmeas descem do topo das árvores e buscam frutos localizados na parte média da planta para colocarem os ovos (Bento et al. 2001). As fêmeas geralmente colocam um ovo por fruto, podendo colocar até 200 ovos durante sua vida (Garcia & Parra 1999). Os ovos, por sua vez, são em forma de escama (achatados) de coloração amarelo claro. A oviposição ocorre entre os períodos crepusculares, no nascer e por do sol (Garcia 1998; Garcia & Parra 1999).

Ao eclodir, as larvas penetram nos frutos, formando galerias ao se alimentarem. A duração do período larval é de aproximadamente 25 dias, passando por 4 ou 5 ínstarés, dependendo da fonte de alimento (fruto ou dieta artificial) (Garcia et al. 1998). Ao penetrar, as lagartas inviabilizam os frutos tanto para o consumo quanto para o processamento na indústria (Parra et al. 2004a).

Passados os 25 dias no interior dos frutos, a lagarta tece um fio de seda e desloca-se, geralmente para o solo aonde irá pupar; a duração da fase de pupa é de 12 a 20 dias e ocorre a 1,5 cm da superfície (Bento 2008). Dessa forma, o período ovo-adulto da praga varia entre 32 e 60 dias e, dependendo da região de ocorrência, pode dar até 8 gerações por ano (Nakano & Soares 1995; Garcia et al. 1998).

Essa praga está presente nas principais regiões citrícolas do Brasil (estado de São Paulo e sul de Minas Gerais), tendo relatos de ocorrência em toda a América do Sul (Prates & Pinto 1988; 1991; Zucchi et al. 1993), atacando além dos citros, frutos de: goiaba, abacate, abacaxi, cacau, canola, cupuaçu, guaraná, kiwi, mamão, manga, maracujá, lichia, fruta-do-conde e romã (Zucchi et al. 1993) e mais recentemente atacando noz pecan no Sul do Brasil (Nava et al. 2020). Tais culturas servem, portanto, de refúgio para o bicho-furão-dos-citros, no período em que não existam frutas cítricas no campo.

### **2.3. Danos e importância econômica**

O bicho-furão-dos-citros perfura os frutos de laranja causando a inviabilização dos mesmos para o consumo e comercialização e no estágio avançado do ataque os frutos caem. Frutos atacados geralmente amadurecem mais rapidamente em relação aos não atacados.

Em altas infestações, a praga pode atacar frutos verdes e maduros, embora a preferência seja por frutos maduros. Em frutos verdes, ao redor do orifício de entrada da lagarta observa-se um amarelecimento e com o passar do tempo o halo amarelado torna-se marrom claro. A praga tem preferência por frutos na parte externa da planta que se encontram entre um e dois metros de altura em relação ao solo (Garcia 1998).

O ataque do bicho-furão pode ser identificado pela camada de *pellets* fecais, secos e duros, ao redor do orifício de entrada das lagartas, diferente do ataque da mosca-das-frutas (ao redor do orifício fica mole e ao apertar o fruto é expelido um líquido) (Gallo et al. 2002).

O prejuízo estimado ocasionado pelo ataque de *G. aurantianun* é de variável de 50 a 80 milhões de dólares por ano no Brasil. Estima-se uma perda de 0,5 a 1,5 caixas por planta e as maiores perdas ocorrem em regiões mais quentes próximas de matas (Bento 2019). Na safra de 2021/2022, estimou-se um prejuízo, bem maior conforme mencionado anteriormente. De acordo com estimativa para a safra 2021/2022, em média o bicho-furão e a mosca-das-frutas são responsáveis por 4,2% do total de frutos caídos, sendo o norte e sudeste do estado de São Paulo, as regiões mais afetadas (Fundecitrus 2023a).

## 2.4. Táticas de controle de *G. aurantianum* em pomares cítricos

### 2.4.1. Monitoramento

O monitoramento de pragas é uma tática que permite avaliar a presença e distribuição das pragas em uma determinada cultura. Pode-se fazer o monitoramento por meio de avaliações do dano e pela presença da praga (Preti et al. 2021). A falta de monitoramento de pragas faz com que o produtor gaste mais recursos com as aplicações calendarizadas, como é o exemplo do que ocorre com aplicações de inseticidas em diversas culturas, incluindo os citros. Isso quer dizer que mesmo sem a presença da praga, ou presença da praga abaixo do nível do dano econômico, as aplicações de produtos químicos são feitas.

Essa medida cria um problema maior, pois as aplicações constantes aceleram o processo de resistência de pragas às moléculas químicas (Juache-Villagrana et al. 2022) e ao mesmo tempo, reduzem significativamente a fauna benéfica de inimigos naturais que muitas vezes mantêm as pragas abaixo do nível de dano econômico (Perez-Alvarez et al. 2019).

Portanto, o monitoramento é imprescindível na tomada de decisão e a maior parte dos casos de sucesso no controle biológico de pragas em larga escala no Brasil só deram certo porque foi desenvolvida uma metodologia de monitoramento da praga alvo (Bento et al. 2016).

Em 2000 foi desenvolvido um feromônio sexual para *G. aurantianum* no Departamento de Entomologia de Acarologia da Esalq/USP, pelo professor Dr. José Maurício Simões Bento e colaboradores. A tecnologia, possibilitou a tomada de decisão para a aplicação de produtos químicos a partir do número de machos capturados na armadilha. Cerca de 10 anos após seu lançamento, evitaram-se perdas na ordem 1,32 bilhão de dólares (Bento et al. 2016).

A armadilha com feromônio sexual é colocada no terço superior das plantas de citros (local do acasalamento) e semanalmente se faz a avaliação do número de adultos capturados e dependendo da tática de controle, estipula-se um determinado período para a tomada de decisão.

Hoje, com a tecnologia digital, o desenvolvimento de *novos modelos* de monitoramento com menor uso de mão-de-obra e que sejam mais eficientes, podem prever mais rapidamente o nível de dano econômico, principalmente para a utilização de drones (Iost Filho et al. 2020). As tecnologias que mais evoluíram nos últimos anos foram o monitoramento por sensoriamento remoto com câmeras hiperespectrais acopladas em drones, por meio de análises de padrões de cores em imagens de folhagens e com armadilhas de

atração de adultos que automaticamente contabilizam os indivíduos capturados e enviam de forma remota as informações coletadas (Iost Filho et al. 2020).

Essas tecnologias possibilitarão maior eficiência na tomada de decisão para o controle de pragas. Entretanto, ainda faltam técnicas, bem como, se existentes, têm a sua utilização prejudicada pelo nível cultural do agricultor.

Para o caso do bicho-furão utilizam-se as armadilhas convencionais do tipo delta (Bento et al. 2019).

#### 2.4.2. Controle químico

O controle químico é a prática de controle predominante na agricultura brasileira e na citricultura não é diferente. É comum encontrarem-se pomares cítricos em que se aplicam inseticidas com ou sem a presença de pragas e o nível de controle muitas vezes é negligenciado.

A maioria dos produtos aplicados visando ao controle do bicho-furão-dos-citros são os piretroides, fosforados e espinosinas (Bento et al. 2019). São utilizados também alguns reguladores de crescimento (benzoilureias como diflubenzuron e teflubenzuron e a diacilhidrazina tebufenozide) com a vantagem de serem mais seletivos aos inimigos naturais. Tais produtos são utilizados para eliminar adultos e/ou lagartas em movimento no pomar e devem ser utilizados assim que se registrem a coleta de 8 machos na armadilha com feromônio sexual. Preferencialmente, as aplicações de agroquímicos são realizadas ao final do dia, momento em que os adultos estão mais expostos aos produtos e sob condições climáticas mais favoráveis (Bento et al. 2019).

Segundo o Fundecitrus, atualmente, os produtos mais utilizados para o controle de adultos do bicho-furão são: malathion, bifentrina, beta-ciflutrina e fosmete, e para o controle de lagartas, *Bacillus thuringiensis* Berliner, 1915 e diflubenzuron.

O mercado internacional consome grande parte do suco de laranja brasileiro e devido às exigências internacionais, principalmente aquelas impostas pela Europa, são restritas compras da *commodity* (suco de laranja) contaminada com determinados agroquímicos. Portanto, anualmente o Fundecitrus, principal fundação que ampara os produtores de cítricos no Brasil, lança uma lista de produtos que podem ou não serem utilizados na citricultura (Fundecitrus 2023b). Atualmente, vários produtos estão sendo excluídos da lista devido a tais exigências.

Uma das formas de se evitar tais problemas será a utilização de produtos seletivos (Rakes et al. 2021). Essa medida garante a preservação de indivíduos que ocorrem naturalmente nos pomares e permite a utilização conjunta com produtos biológicos.

São poucos os trabalhos de seletividade de produtos químicos aos parasitoides do gênero *Trichogramma* em citros, principalmente com produtos químicos utilizados para o controle do bicho-furão. Assim, Silva (2021) avaliou os efeitos letais e sub letais dos produtos químicos diflubenzuron, malationa, tebufenazida, bifentrina e beta ciflutrina em adultos e pupas de *T. atopovirilia*, sendo esses produtos químicos utilizados no manejo de *G. aurantianum*. Observou-se que, com excessão de diflubenzuron e tebufenazida, os demais produtos afetaram nocivamente algum estágio de desenvolvimento do parasitoide.

No referido estudo, observou-se que um mesmo produto pode ter classificações diferentes de acordo com o teste realizado. Dessa forma, não se deve considerar um produto como seletivo somente com um teste proposto, mas sim utilizar um conjunto de avaliações, seja em diferentes estágios do inseto ou entre os diferentes parâmetros biológicos.

A seletividade de produtos sobre inimigos naturais é determinada de acordo com as classificações toxicológicas da IOBC/WPRS (*Intenational Organization of Biological Control*) (Hassan 1997).

#### 2.4.3. Controle cultural

Consiste na catação de todos os frutos atacados, nas plantas e no solo, a fim de impedir um novo ciclo da praga. Embora a maioria dos frutos caídos não tenha a lagarta, pois a maioria das lagartas descem ao solo para pupar, é recomendado que esses frutos também sejam recolhidos e destruídos (Bento et al. 2019).

Quando detectado o ataque da praga, a colheita deve ser realizada mais rapidamente. Os frutos atacados devem ser triturados ou enterrados no meio das ruas do pomar, a pelo menos 30 centímetros, para que as lagartas não sobrevivam e voltem à superfície. Se os frutos forem jogados nas “saías” das árvores, na sombra, pode favorecer a multiplicação de patógenos, por exemplo *Penicillium digitatum* (Pers.) Sacc. (Bento et al. 2019).

Esse método de controle está caindo em desuso, pois com o passar do tempo a mão-de-obra está sendo reduzida nos pomares cítricos.

#### 2.4.4. Controle biológico

Há relatos da utilização de parasitoides de ovos do gênero *Trichogramma* no Peru e África do Sul, para o controle de pragas em pomares cítricos (Hassan 1997). Um outro gênero de Trichogrammatidae, o parasitoide de ovos *Trichogrammatoidea cryptophlebiae* Nagaraja é comercializado na África do Sul para controlar o torticídeo *Thaumatotibia* [(*Cryptophlebia*) *leucotreta* (Meyrick, 1913)] em citros. O referido parasitoide é comercializado e pode reduzir o dano nos frutos em até 60% (Newton & Odendaal 1990; Malan et al. 2018).

Testes realizados no Brasil em condições controladas em laboratório e em condições de campo indicam o alto potencial de *Trichogramma* para o controle de ovos do bicho-furão-dos-citros (Garcia 1998; Molina 2003; Gómez-Torres 2005; Molina et al. 2005).

Atualmente *T. pretiosum* é registrado para o controle do bicho-furão-dos-citros no Brasil, porém a dose e número de aplicações, ainda carece de confirmação científica.

A fase larval do bicho-furão, por se desenvolver no interior do fruto, é de difícil controle; no entanto, a aplicação de *B. thuringiensis* a fim de atingir a lagarta antes de penetrar no fruto, é uma alternativa de controle. A aplicação de *B. thuringiensis* deve ser realizada aos sete ou oito dias após se constatar o nível de controle (8 machos/armadilha) (Bento 2019).

O braconídeo *Hymenochaonia* sp., parasitoide larval do bicho-furão, pode ser um potencial agente de controle dessa praga; embora seja encontrado com frequência em pomares atacados pelo bicho-furão, pouco se sabe sobre esse inimigo natural (Garcia 1998), com um único trabalho sobre a sua biologia (Milano et al. 2008).

### 2.5. Uso de espécies de *Trichogramma* em programas de controle biológico

Insetos pertencentes à família Trichogrammatidae podem se desenvolver no interior de ovos de 10 ordens de insetos (Burks 1979), especialmente os representantes do gênero *Trichogramma*, um importante grupo de micro-himenópteros com potencial para o controle biológico, pela característica de manter a praga abaixo do nível de dano econômico antes que qualquer dano seja causado à cultura (Botelho et al. 1995). O desenvolvimento pré-pupal é caracterizado pelo escurecimento do ovo do hospedeiro, pela deposição de sais de urato, momento em que se torna visível o parasitismo (Cônsoi & Parra 1999).

*Trichogramma* spp. é um dos parasitoides mais estudados no mundo (Hassan 1994; Hassan 1997; Parra & Zucchi 1997; Basso & Grille 2009; Cônsoli et al. 2010; van Lenteren 2012; Vinson et al. 2015). Segundo o Museu Natural de História de Londres, são descritas pouco mais de 230 espécies do parasitoide. Dentre as espécies conhecidas, cerca de 28 delas foram liberadas na década de 1980, em 28 países (van Lenteren 2012), correspondendo a cerca de 30 milhões de hectares ao redor do mundo (Smith 1996).

Os estudos com *Trichogramma* spp. foram facilitados após a descoberta por Flanders de que era possível criá-lo no hospedeiro alternativo *Sitotroga cerealella* (Olivier, 1789) (Lepidoptera: Gelechiidae) (Flanders 1927).

Os primeiros estudos com *Trichogramma* spp. no Brasil ocorreram na década de 1940 para controlar a broca-pequena-do-tomateiro *Neoleucinodes elegantalis* (Guenée) (Lepidoptera: Pyralidae). Depois, em decorrência do desenvolvimento de moléculas químicas para o controle de pragas, o controle biológico, de maneira geral, deixou de ser utilizado e só entre 1975 e 1985 o referido parasitoide voltou a ser estudado para o controle de pragas em diversas culturas (Moraes et al. 1983; Hassan et al. 1986; Hassan et al. 1988; Hassan 1994). Em 1984 o Departamento de Entomologia e Acarologia da ESALQ/USP com apoio do Dr. Jean Voegelé do INRA – *Institut National de la Recherche Agronomique*, iniciou estudos inter e multidisciplinares com *Trichogramma*. Em 1988 o prof. Roberto Antônio Zucchi descreveu a espécie *Trichogramma galloi* Zucchi, 1988, coletada em *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794) (Lepidoptera: Crambidae). Onze anos mais tarde, foram iniciados estudos na tentativa de uma dieta artificial para criação *in vitro* do parasitoide, com o objetivo de não depender da criação de um hospedeiro alternativo (Cônsoli & Parra 1999).

Na primeira década dos anos 2000, *T. galloi* foi utilizado para o controle de *D. saccharalis* em grandes áreas (Parra & Coelho 2022). Até meados dos anos 2000, a utilização de *Trichogramma* spp. no Brasil era pequena comparando-se com outros países (Parra & Coelho 2021); naquela época o programa de maior sucesso era a utilização de *T. pretiosum* Riley, importado da Colômbia, para o controle de *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae), em 1990 em Petrolina, PE e Juazeiro, BA. Pouco tempo depois, liberações de *T. pretiosum* se intensificaram para o controle de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) e de *Plutella xylostella* (Linnaeus, 1758) (Lepidoptera: Plutellidae) (Parra & Zucchi 2004).

Um exemplo recente, de utilização de controle biológico com *Trichogramma* spp. no Brasil, ocorreu em 2013 com a utilização de *T. pretiosum* para o controle da *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) (Parra et al. 2015). O agricultor não dispunha

de opções de controle para a referida praga e acabou utilizando o parasitoide, obtendo grande sucesso em algumas regiões, ao lado de um vírus para controle da lagarta (Hugo et al. 2019).

Segundo Parra (2021), o sucesso da utilização de *Trichogramma* spp. em programas de controle biológico aplicado é dependente de ações inter e multidisciplinares com especialistas de diferentes áreas. De acordo com o autor, deve-se levar em conta a densidade de ovos da praga de interesse; utilizar a linhagem ou espécie de *Trichogramma* mais adequada para uma determinada praga; fazer o controle da qualidade do parasitoide produzido em laboratório; levar em consideração o número e a forma de liberação desses parasitoides; acompanhar a dinâmica da praga e a fenologia da planta; levar em conta a competição intra-guilde entre espécies de agentes de controle biológico; estudar o efeito de produtos químicos (seletividade) sobre *Trichogramma* spp. Somente após esses estudos, em laboratório, semicampo e campo, pode se chegar ao agricultor para utilização de um parasitoide.

A escolha de ingredientes ativos seletivos ao parasitoide é um fator determinante, podendo limitar sua utilização. Portanto, são necessários testes padronizados de seletividade respeitando as normas da IOBC para se ter sucesso nas liberações, caso haja aplicação de produtos químicos, numa cultura com várias pragas, por exemplo.

Mesmo que se envolva todas essas ações pode-se demorar anos até que uma determinada espécie de *Trichogramma* chegue ao agricultor como um pacote tecnológico (Parra 2021). O parasitoide *T. galloi*, por exemplo, foi utilizado em pouco mais de 3 milhões de hectares (Parra et al. 2015) para o controle de *D. saccharalis* em cana-de-açúcar no Brasil. Foi estudado durante 16 anos (1984-2000) até que se tornasse disponível ao agricultor. Tal programa foi desenvolvido no Departamento de Entomologia e Acarologia da ESALQ/USP, tendo início em 1984 e chegou ao agricultor no início da década de 2000 (Parra & Zucchi 2004; Parra et al. 2015).

Atualmente 2 espécies são registradas no Brasil, *T. pretiosum* e *T. galloi*, sendo que a primeira espécie é utilizada para o controle de diversos lepidópteros-praga, enquanto *T. galloi* é amplamente utilizado para o controle da *D. saccharalis* (Agrofit, 2023).

No Brasil, foram registradas em literatura cerca de 30 espécies de *Trichogramma* (Parra & Coelho, 2021).

## **2.6. Seleção de espécies de *Trichogramma***

Até a década de 1980 os programas de controle biológico com *Trichogramma* spp. eram realizados basicamente com a coleta de uma linhagem do parasitoide sobre ovos de uma



praga para o controle de outra espécie e segundo Hassan et al. (1994), era uma prática comum e sem muitos critérios, embora estime-se que nessa época tenham sido utilizadas aproximadamente 30 espécies do gênero (Hassan 1997; van Lenteren 2012) em pouco mais de 30 milhões de hectares em todo o mundo (Smith 1996). Na mesma década iniciaram-se os primeiros trabalhos com base na seleção de espécies/linhagens de *Trichogramma* visando ao controle biológico de pragas da couve (Pak 1984).

Segundo Pinto & Stouthamer (1994) a seleção de espécies do gênero *Trichogramma* não é um processo trivial, pois deve-se levar em consideração as interações inter e intraespecíficas (naquela época 140 espécies eram conhecidas). Independente da época, essas interações são, preferência hospedeira, comportamento de busca e parasitismo, e tolerância aos fatores abióticos (Hassan 1989; Hasssan 1994).

Geralmente as espécies de *Trichogramma* nativas e/ou provenientes de ovos da praga-alvo, são mais indicadas para o processo de seleção de espécies, por motivos óbvios, essas espécies estão mais adaptadas às variações climáticas, à preferência hospedeira e até mesmo à adaptação ao estágio fenológico de uma determinada planta hospedeira (Hassan 1989; Hassan et al. 1994).

O processo de seleção hospedeira parece estar relacionado ao termo *Mother knows best* (Dury & Wade 2020) e pode ser definido como a capacidade das fêmeas selecionarem hospedeiros adequados ao desenvolvimento da prole (Vinson 1997).

*G. aurantianum*, foi objeto de estudo para a definição da melhor espécie de *Trichogramma* para seu controle por Molina (2003) e por Gómez-Torres (2005). A primeira autora avaliou o período de ovo-adulto de 13 espécies e/ou linhagens em ovos da referida praga considerando dentre elas as espécies *T. atopovirilia* e *T. pretiosum* como as mais adequadas para o controle do bicho-furão. Dois anos mais tarde, Gómez-Torres (2005) realizou o mesmo estudo utilizando somente essas duas espécies de parasitoides. Como resultado, em ambos os estudos, *T. atopovirilia* apresentou maior capacidade de parasitismo, aproximadamente 25 ovos parasitados por fêmea e um parasitismo próximo aos 80% entre o quinto e sexto dias.

## **2.7. Tecnologia de liberação de *Trichogramma***

Existe uma série de fatores que devem ser levados em consideração no desenvolvimento de uma tecnologia de liberação de parasitoides, dentre elas, a arquitetura e estágio fenológico da planta, condições meteorológicas durante e após a liberação, fase de desenvolvimento na qual é feita a liberação, momento de liberação, quantidade liberada,

distribuição dos inimigos naturais, frequência e intervalo entre liberações (Pinto & Parra 2021).

A arquitetura e/ou estágio fenológico da planta, pode afetar diretamente na capacidade de busca e dispersão do agente de controle biológico; dessa forma os estádios iniciais de determinadas culturas propiciam ambientes mais adequados para a dispersão do parasitoide, pois por motivos óbvios, o parasitoide encontrará menos barreiras para se dispersar (Pratissoli et al. 2005; Mendoza 2007; Pinto & Parra 2021). Por outro lado, culturas perenes, geralmente de porte maior que culturas anuais, podem dificultar a dispersão de *Trichogramma* spp. e consequentemente prejudicar seu potencial de parasitismo em campo. Em decorrência disso, a liberação de um determinado inimigo natural deve ser bem abrangente e bem distribuída na lavoura (Pinto & Parra 2021).

O clima pode ser um fator determinante no momento e/ou após a liberação de *Trichogramma* spp., independente da forma liberada (pupa ou adulto, em cápsula ou de forma desprotegida) (Silveira Neto et al. 1976; Haddad et al. 1999). Em alguns casos, o clima pode ser mais importante do que a técnica de liberação propriamente dita (Pinto 1999). Dessa forma, o horário de liberação de *Trichogramma* spp. pode ser determinante para o sucesso de um programa manejo de pragas; geralmente opta-se por realizar as liberações nos horários de temperaturas mais amenas (Botelho & Macedo 2002; Pinto & Parra 2002; Rôdas et al. 2019).

Ao longo dos anos, espécies do gênero *Trichogramma* foram liberadas na fase adulta (Smith 1994; Molina 2003; Gómez-Torres 2005); porém, a liberação de pupas no interior de ovos de um hospedeiro alternativo vem sendo utilizada (Abd El-Hafez et al. 2014; Gauthier et al. 2019; Martel et al. 2021), principalmente no Brasil. Tal tipo de liberação cresce à cada ano, principalmente com o aumento da utilização de drones para a liberação desses parasitoides (Croplife 2021).

A determinação do momento da liberação de parasitoides de ovos é muito importante (Smith 1994), para algumas pragas que dispõem de tecnologias de amostragem bem definidas, com feromônio sexual sintético (Guarnieri et al. 2011; Bento et al. 2016; Tapa-Yotto et al. 2022), ou aquelas que, por falta da síntese de um feromônio da espécie, são utilizadas armadilhas com pupas fêmeas que ao emergirem atraem os machos selvagens ou nativos, que serão contabilizados determinando-se o nível de controle (De Conti 2012; Pinto et al. 2019), como é feito para *D. saccharalis*. A partir do momento da captura de machos adultos, e conhecendo-se a bioecologia da praga, determina-se o momento da liberação; em outras palavras, o momento da liberação do parasitoide precisa coincidir com a presença de ovos no campo (Smith 1994).

Para a definição da quantidade correta de parasitoides a ser liberada, deve-se conhecer a relação parasitoide/praga ideal para o sucesso do programa. Inicialmente, os testes são realizados em laboratório onde se define a proporção parasitoide/praga (resposta funcional). Muitas vezes, somente em condições de campo é possível determinar a relação ideal (Pinto & Parra 2021).

Por exemplo, o uso de *T. galloi* para o controle de *D. saccharalis* em cana-de-açúcar: levando-se em conta que a proporção ideal do parasitoide por ovo da praga é de 1,6-3,2:1, (Lopes 1988) e a infestação da praga em campo ultrapassa os 100.000 ovos por hectare (Pinto 1999), seriam necessários em torno de 160.000 a 320.000 parasitoides por hectare. Segundo (Broglia-Micheletti et al. 2007) a quantidade ideal de *T. galloi liberada* está entre 150.000 e 175.000 parasitoides por hectare. Porém, atualmente são liberados 50.000 parasitoides por hectare (Bertate 2017). Portanto, a determinação da quantidade liberada pode ser determinante no sucesso de um programa de controle biológico. Há relatos em que uma baixa proporção de parasitoides por ovo da praga não é efetivo; por outro lado, quantidades excessivas de parasitoides por ovo pode prejudicar a eficiência do parasitoide, possivelmente em decorrência dos encontros entre os indivíduos e do aumento do tempo de busca (Broglia-Micheletti et al. 2007; Visser et al. 1999; Carvalho 2013).

De acordo com a capacidade de dispersão do parasitoide, determina-se a sua distribuição, e quanto maior for a capacidade de dispersão menor será a necessidade de distribuição (Pinto & Parra, 2021). Com o aumento da utilização dos drones para a liberação de parasitoides no Brasil, a metodologia de pontos por hectare tende a sofrer alterações pois há alguns programas de controle biológico em que foi substituída por simplesmente “quantidade liberada por hectare” (Pinto & Parra, 2021). Obviamente que o conhecimento da capacidade de dispersão continua sendo importante, mas é utilizado, no caso das aplicações por meio de drones, a largura das faixas de aplicação e não mais os “pontos por hectare”.

A partir do conhecimento da bioecologia do inimigo natural e da praga alvo, é possível se determinar a frequência e intervalo entre as liberações desses artrópodes. Além disso há espécies de *Trichogramma*, por exemplo, que têm preferência por ovos mais novos da praga, portanto o intervalo entre as aplicações deve ser mais curto. Normalmente, no Brasil, são realizadas três liberações seguidas com intervalo de uma semana entre elas (Botelho et al. 1995; Botelho et al. 1999; Carvalho 2013; Pinto & Trujillo 2019). Entretanto, para alguns inimigos naturais o número pode variar entre 2 e 5 liberações, ou mais (Figueiredo et al. 2015; Martel et al. 2021)

A tecnologia de liberação deve estar alinhada com outras táticas de controle, pois a maior parte dos agricultores utilizam agroquímicos; portanto, é necessário que as liberações desses inimigos naturais sejam realizadas nos intervalos entre as aplicações desses produtos, para que se tenha sucesso no programa de manejo do artrópode praga. Dessa forma, a seletividade de agroquímicos para os agentes de controle biológico deve ser levada em consideração.



### 3. MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1. Seleção de espécies de *Trichogramma* para o controle de *Gymnandrosoma aurantianum* Lima, 1927

3.1.1. Coleta de frutos atacados por *G. aurantianum* para manutenção da praga em laboratório e criação de *Trichogramma* spp.

Foram coletados frutos de laranja atacados pelo bicho-furão-dos-citros em diferentes cidades do estado de São Paulo ao longo do ano de 2019. Foram coletados cerca de 15.000 frutos e parte desses frutos continham uma ou duas lagartas da referida praga, as quais foram extraídas e colocadas em tubos de vidro de fundo chato (2,5 cm × 8,5 cm) com dieta artificial de (Greene et al. 1976) (Tabela 1) até a emergência.

Tabela 1. Dieta artificial desenvolvida por Greene et al. (1976) utilizada para o desenvolvimento larval do *Gymnandrosoma aurantianum* em condições de laboratório.

Componentes da Dieta Artificial	Volume
Feijão branco	75,00 g
Germe de trigo	60,00 g
Proteína de soja	30,00 g
Caseína	30,00 g
Levedura de cerveja	30,00 g
Ácido ascórbico	3,60 g
Ácido sórbico	1,80 g
Metil parahidroxibenzoato (nipagin)	1,50 g
Tetraciclina	113,00 mg
Formaldeído	3,60 mL
Solução vitamínica*	9,00 mL
Ágar	23,00 g
Água	1200 mL

\*composição da solução vitamínica: niacinamida, pantotenato de cálcio, tiamina HCl, riboflavina, piridoxina HCl, ácido fólico, biotina e vitamina B<sub>12</sub>.

#### 3.1.2. Criação de *G. aurantianum* em laboratório

Logo após a emergência, os adultos foram transferidos para tubos de PVC de 15 × 15 cm (gaiolas), revestidas com folha de papel sulfite. No interior dos recipientes foram colocados 2 frascos plásticos de 2,0 × 3,5 cm com solução de mel a 10% para alimentação dos adultos e 3 frascos de vidro de 2,5 × 4,5 cm, contendo água destilada, para manutenção da umidade relativa ambiental elevada. Em cada frasco foi colocado um rolo dental nº 2 de algodão (Cremer®) para o fornecimento de alimento e umidade, por capilaridade (Garcia & Parra 1999). As reposições de alimento e água foram realizadas à cada dois dias.

A coleta de ovos iniciou-se no quarto dia após a instalação das gaiolas; os ovos coletados foram inicialmente limpos com algodão seco, para a remoção das escamas das asas dos adultos e, posteriormente, tratados com solução de sulfato de cobre (10%) para a prevenção de contaminação por micro-organismos (Figura 1).

Os insetos foram criados em laboratório sob condições ambientais controladas de  $25 \pm 2^\circ\text{C}$ , umidade relativa (UR) de  $70\% \pm 10\%$  e fotofase de 14 horas (Garcia & Parra 1999).

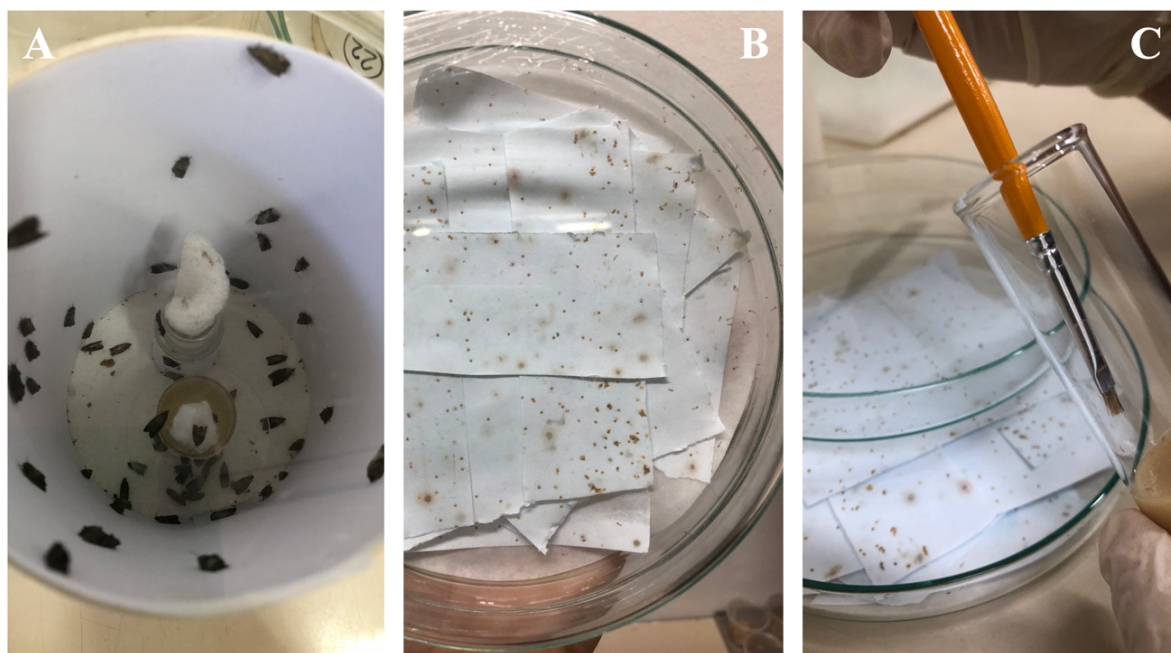


Figura 1. A) Gaiola de PVC contendo papel sulfite para oviposição do bicho-furão; B) Placas de Petri com folhas de papel sulfite com posturas de bicho-furão; e C) Transferência de lagartas de 1º ínstar do bicho-furão para tubo de vidro com dieta artificial.

### 3.1.3. Criação de *Trichogramma* spp. em laboratório

As espécies de *Trichogramma* utilizadas na presente pesquisa foram provenientes da coleção de espécies/*strains* do Laboratório de Biologia de Insetos do Departamento de Entomologia e Acarologia da Esalq/USP mantidas em ovos do hospedeiro alternativo *Ephestia kuehniella* (Zeller, 1879) (Lepidoptera: Pyralidae), sendo o hospedeiro mais indicado na literatura para criação das espécies estudadas (Parra 2015).

Os ovos oferecidos aos parasitoides foram obtidos da criação de *E. kuehniella* mantida no laboratório, em dieta composta por 97% de farinha de trigo integral e 3% de levedura de cerveja em pó (Parra 1997).

Os ovos de *E. kuehniella* foram colocados em uma cartela branca de papel (17 mm de largura  $\times$  77 mm de altura), fixados nas cartelas com fita dupla face 3M® e inviabilizados

por exposição à luz germicida (TUV 15W/G15 T8 PHILIPS®) por 45 minutos numa distância de 15 cm entre a lâmpada e a cartela (Stein e Parra 1987).

Posteriormente, as cartelas contendo os ovos inviabilizados foram expostas às fêmeas de *Trichogramma* spp. em tubos de vidro (1,5 x 7cm) contendo uma gota de mel puro e vedados com filme plástico PVC Magipack®.

#### 3.1.4. Seleção de espécies de *Trichogramma* spp.

Foram estudadas três espécies de *Trichogramma*: *Trichogramma atopovirilia* Oatman & Platner, 1983, linhagem ATP, coletada em São José dos Pinhais, PR, Brasil (25°32'06" S, 49°12'21" O, 906 m de altitude) (clima de temperatura com verões amenos, Köppen-Geiger: Cfb) em ovos de *Helicoverpa zea* (Boddie, 1850) (Lepidoptera: Noctuidae); *Trichogramma galloi* Zucchi, 1988, coletada em ovos de *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794) (Lepidoptera: Crambidae), em Santa Vitória, Minas Gerais, Brasil (18°50'20" S, 50°07'15" O, 498 m de altitude) (clima tropical com invernos secos, Köppen-Geiger: Aw) e *Trichogramma pretiosum* Riley, 1879, linhagem RV, coletada em ovos de *Chrysodeixis includens* (Walker, 1858) (Lepidoptera: Noctuidae) no município de Rio Verde, Goiás, Brasil (17°47'50" S, 50°54'0" O, 739 m de altitude) (clima tropical com estação seca Köppen-Geiger: Aw). As 3 espécies foram mantidas em ovos de *E. kuehniella* segundo metodologia de Parra (1997).

Trinta fêmeas com 24 horas de vida de cada espécie (*T. atopovirilia*, *T. pretiosum* e *T. galloi*) foram individualizadas em tubos de vidro de 2,5 de diâmetro × 8,5 cm de altura, contendo papel filtro umedecido e uma gotícula de mel puro para alimentação das respectivas fêmeas. Diariamente, foram oferecidos 25 ovos do bicho-furão, até a morte das fêmeas de cada espécie. Decidiu-se por essa quantidade uma vez que foi determinado por Gómez-Torres (2005) como a capacidade máxima diária de parasitismo.

Foram avaliados os seguintes parâmetros: parasitismos diário e total, viabilidade, número de parasitoides emergidos por ovo, longevidade das fêmeas e razão sexual, esta dada pela fórmula:  $rs = n^{\circ} \text{ de fêmeas} / (n^{\circ} \text{ de fêmeas} / n^{\circ} \text{ de machos})$ . A metodologia de avaliação dos referidos parâmetros foi a mesma utilizada por Bowen & Stern (1996) e Geremias (2008).

O experimento foi conduzido em câmaras climatizadas reguladas a  $25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ , umidade relativa (UR) de  $70\% \pm 10\%$  e fotofase de 14 horas.

Os dados de parasitismo, número de parasitoides emergidos por ovo e longevidade das fêmeas foram analisados pelo teste não paramétrico de Kruskal-Wallis seguido do teste post-hoc com correção de Bonferroni. A viabilidade e razão sexual foram analisadas pelo



Modelo Linear Generalizado (GLM) seguido do teste de Tukey a 5%. O software utilizado nas análises foi o R (R Development Core Team, 2022).

### **3.2. Determinação da quantidade de *T. atopovirilia* a ser liberada por hectare**

O experimento foi realizado em um pomar com plantas de laranja *Citrus sinensis* (L.) Osbeck (Rutaceae), da cultivar “Pêra Rio” em combinação com o porta enxerto “Sunki Tropical” de quatro anos de idade, na Fazenda Bela Vista, localizada no município de Santa Maria da Serra, SP (Figura 2).

Foi realizado um levantamento prévio no qual não se verificou a incidência de *G. aurantianum*. Em pomar não infestado pelo bicho-furão foi realizada uma infestação artificial da praga utilizando-se ovos aderidos a etiquetas plásticas (Figura 3).

A obtenção de ovos de *G. aurantianum* foi realizada a partir de gaiolas de PVC revestidas com plástico transparente como substrato de postura (Garcia et al. 1998). Os ovos foram coletados com 24 horas, pois segundo Gómez-Torres (2005), ovos, com essa idade, são preferidos para o parasitismo por *T. atopovirilia*.

Para a obtenção de pupas de *T. atopovirilia* a granel, ovos de *E. kuehniella* foram submetidos ao parasitismo, segundo metodologia de Stein & Parra (1987) modificada, na qual ovos do hospedeiro alternativo foram fixados com água destilada em cartolina plástica e submetidos ao parasitismo em sacos plásticos. Após 7 dias, os ovos parasitados foram retirados da cartolina com o auxílio de um chumaço de algodão e colocados em recipiente cilíndrico de papel (15 × 6 cm) em câmaras reguladas a  $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$ , umidade relativa (UR) de  $70 \pm 10\%$  e fotofase de 14 horas, até a liberação no campo.

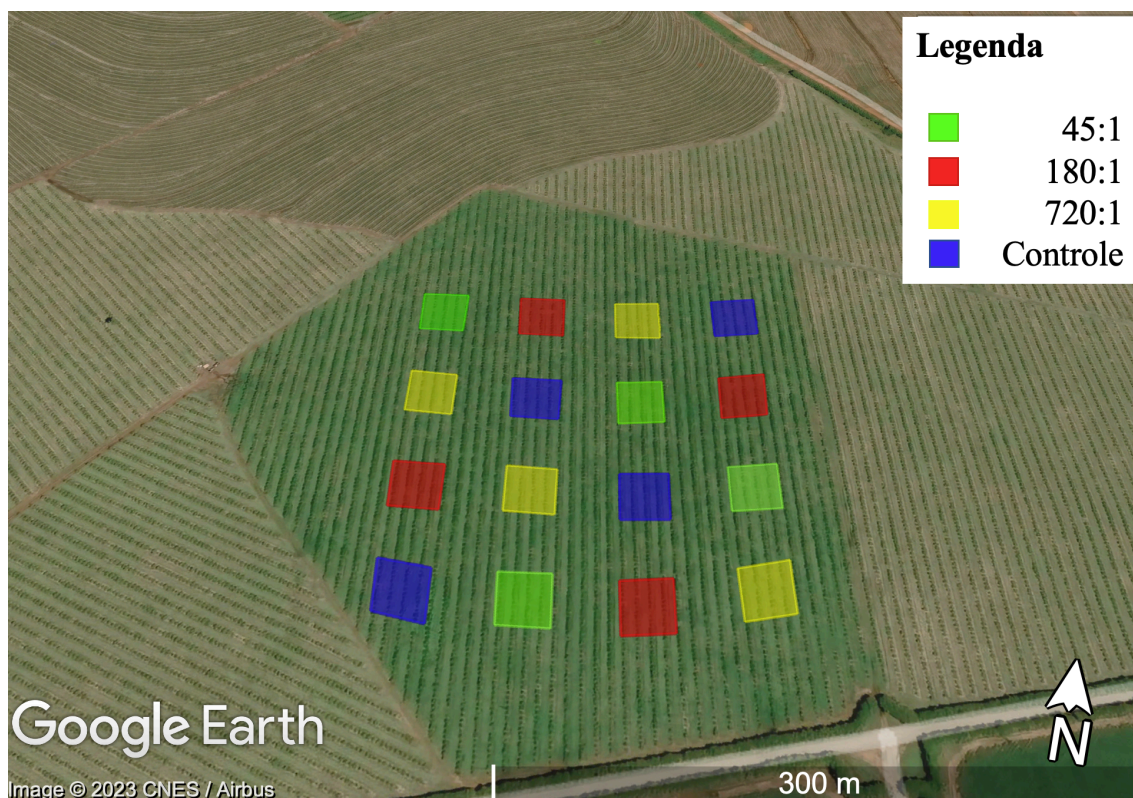


Figura 2. Área experimental localizada na Fazenda Bela Vista no município de Santa Maria da Serra, SP, onde foram testadas diferentes quantidades do parasitoide *Trichogramma atopovirilia* liberadas. Os tratamentos foram os seguintes: 45 parasitoides por ovo da praga (45:1); 180 parasitoides por ovo da praga (180:1); 720 parasitoides por ovo da praga (720:1) e Controle. Cada quadrado, independente da cor, corresponde a 1000m<sup>2</sup>.

Segundo Carvalho (2003) quando são coletados 8 machos na armadilha de feromônio, ou seja, atinge o nível de controle, corresponde a, aproximadamente, 5 frutos atacados por planta. Segundo estimativa da safra 22/23 do Fundecitrus (Fundecitrus 2023a), o número médio de plantas por hectare é de aproximadamente 600. Portanto, no presente estudo considerou-se que há em um hectare, cerca de 3000 ovos da praga, quando se atinge o nível de controle.

Desse modo, foram distribuídos 300 ovos do bicho-furão com 24 horas em 25 pontos por parcela de 1000m<sup>2</sup>, baseando-se no número de frutos atacados por planta por bicho-furão (Carvalho 2003); em cada ponto foi fixada uma etiqueta plástica (1 × 7 cm) contendo um pedaço de plástico transparente com 12 ovos do bicho-furão (Figura 3). A distribuição dos 25 pontos foi planejada de forma homogênea em cada parcela por meio do software de georreferenciamento MAPinr.



Figura 3. Etiqueta plástica com pedaço de plástico transparente (indicado por seta e círculo vermelhos) contendo 12 ovos de 24 horas de *Gymnandrosoma aurantianum*, fixada em planta de laranja localizada na Fazenda Bela Vista, localizada no município de Santa Maria da Serra, SP, para a avaliação do parasitismo de *Trichogramma atopovirilia* e determinação da quantidade de parasitoides liberada.

Foram testadas 3 proporções da espécie do parasitoide selecionada no item 3.1.4 (*T. atopovirilia*) por ovo da praga (*G. aurantianum*), sendo feita uma adaptação das quantidades estudadas por Molina et al. (2005) e Gómez-Torres (2005). As proporções testadas foram: T1= 45 parasitoides por ovo da praga; T2= 180 parasitoides por ovo da praga; T3= 720 parasitoides por ovo da praga e T4= Controle (não houve liberação).

Para se liberar a quantidade de parasitoides ideal em cada tratamento, multiplicaram-se as proporções estudadas ((45:1 (T1), 180:1 (T2) e 720:1 (T3)) pelo número de ovos utilizados em cada parcela, 300 ovos do bicho-furão; portanto, foram liberadas as quantidades de 13.500 (T1), 54.000 (T2) e 216.000 (T3) parasitoides por parcela de 1000m<sup>2</sup>. Para se determinar a quantidade de parasitoides por hectare, multiplicaram-se as quantidades liberadas nas parcelas de 1000m<sup>2</sup> por 10, para a correspondência de liberação para um hectare (10.000m<sup>2</sup>) (Figura 4).

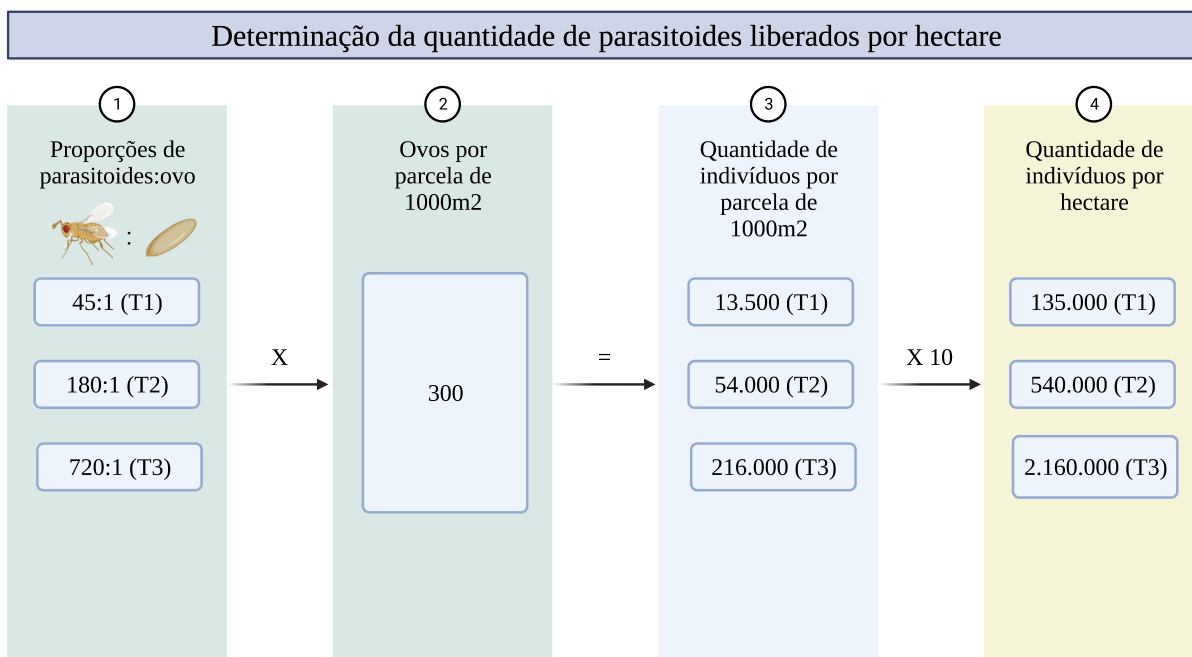


Figura 4. Quantidade de parastoides (*Trichogramma atopovirilia*) liberados por hectare de citros de acordo com as proporções estudadas, T1= 45:1, T2= 180:1 e T3=720:1, considerando-se o número de ovos do bicho-furão (n=300) utilizados em parcelas de 1000m<sup>2</sup>, dos quais foram multiplicados por 10 para a representação da quantidade por hectare (10.000m<sup>2</sup>).

Consideraram-se as quantidades de 150.000 (T1), 600.000 (T2) e 2.400.000 (T3) parasitoides por hectare, pois a viabilidade do parasitismo pode oscilar dependendo do material produzido. Então como forma de padronização nos resultados, foram considerados os referidos “valores inteiros”. As liberações do parasitoide foram realizadas em períodos sem frutos maduros. Cada tratamento constituiu-se de uma parcela de 1000m<sup>2</sup> com um espaçamento de 40 m entre elas, com quatro repetições por tratamento (Figura 2). As liberações foram realizadas no centro das parcelas, deste tamanho (33 × 33m), levando-se em conta os dados de dispersão de parasitismo determinados na literatura para *T. atopovirilia* (Gomez-Torres 2005), que é de 15 metros (Figura 5).

Foram realizadas avaliações prévias dos padrões de qualidade do parasitoide liberado, dos quais avaliaram-se a emergência, parasitismo, razão sexual e número de indivíduos por ovo.



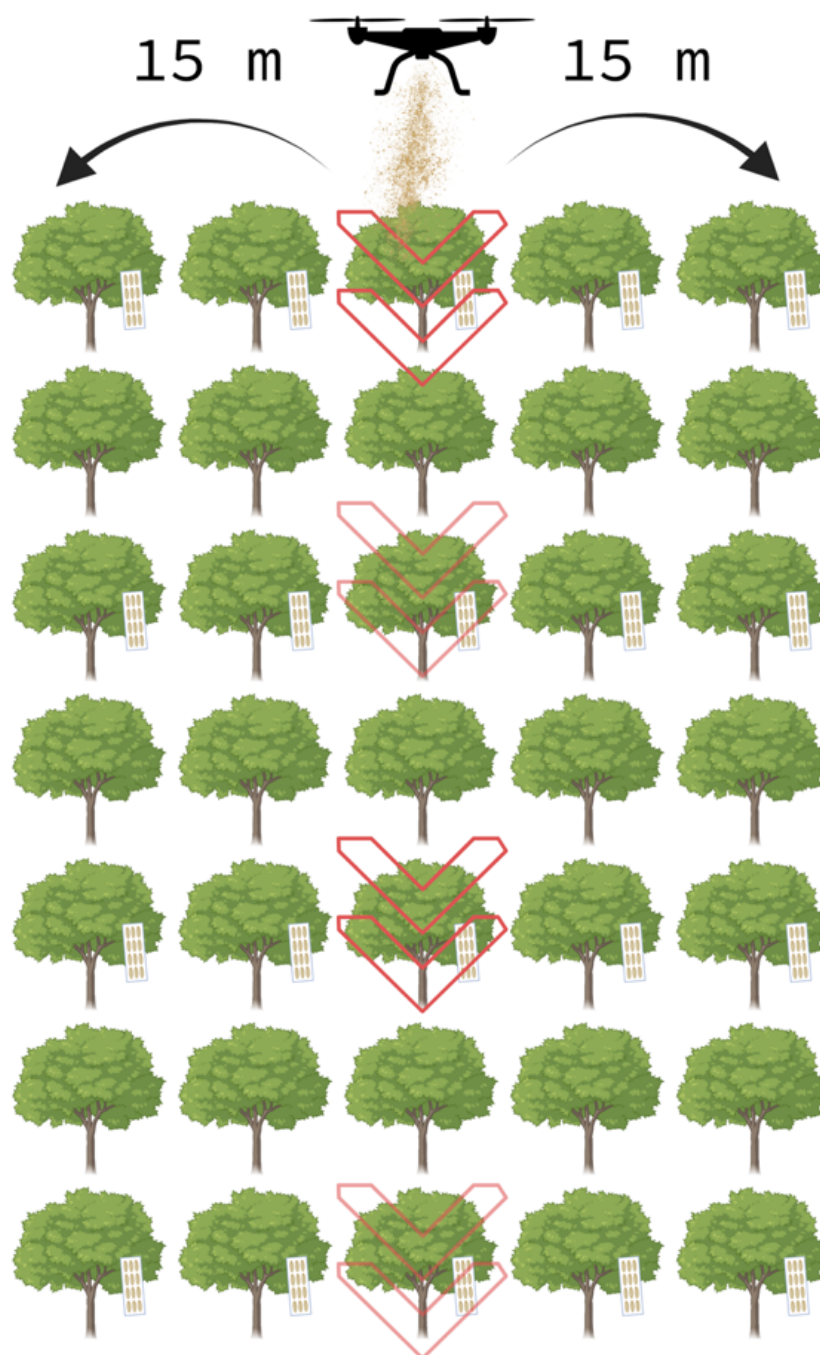


Figura 5. Delineamento experimental da liberação de *Trichogramma atopovirilia* para a determinação da quantidade de parasitoides liberada por hectare, em uma parcela de 1000m<sup>2</sup> com plantas de laranja sem frutos e com infestação artificial de ovos de *Gymnandrosoma aurantianum* distribuídos uniformemente. Os retângulos brancos correspondem às etiquetas plásticas contendo 12 ovos da praga. As setas vermelhas indicam a rota de liberação percorrida pelo drone na parcela; as setas em preto indicam a capacidade de dispersão ativa (Gómez-Torres 2005) do parasitoide a partir do ponto de liberação.

Foram liberadas pupas de *T. atopovirilia* prestes à emergência utilizando-se um *dispenser* de liberação desenvolvido pela empresa NCB. Para as liberações dos parasitoides com drone, foram geradas rotas de liberação sobre o mapa geográfico da área de interesse, utilizando-se o software LITHI.

Permitiu-se o parasitismo por 24h, e após este período as etiquetas plásticas contendo os ovos de *G. aurantianum* foram trazidas para o laboratório e colocadas em câmara climatizada regulada a  $25 \pm 2^\circ\text{C}$ , umidade relativa (UR) de  $70 \pm 10\%$  e fotofase de 14 horas. Após 7 dias, avaliou-se o número de ovos parasitados considerando-se a mudança de cor decorrente do desenvolvimento (escurecimento) e considerou-se que o número de ovos ausentes foi predado em cada cartela.

O experimento foi repetido quatro vezes nas seguintes datas: dezembro de 2020, março de 2021, agosto de 2021 e setembro de 2021. Desse modo liberou-se o parasitoide em diferentes condições ambientais: final de primavera e início de verão, outono e inverno.

Os dados obtidos foram analisados usando-se um Modelo Linear Generalizado (GLM) com distribuição Quase-Poisson, seguido do teste de comparação múltipla de Tukey R (R Development Core Team 2022).

Para avaliar se houve uma liberação homogênea de parasitoides pelo sistema de liberação utilizado, ou seja, drones georreferenciados, foi feita uma matriz de distribuição dos ovos parasitados em cada parcela experimental, utilizando-se o pacote matrix do programa R (R Development Core Team 2022).

### **3.3. Determinação do momento mais adequado para liberação e do número de liberações de *T. atopovirilia***

Foram individualizados 25 casais de *G. aurantianum* em gaiolas de criação (tubos de PVC) (vide item 3.1.2.) em laboratório sob condições ambientais controladas de  $25 \pm 2^\circ\text{C}$ , com umidade relativa (UR) de  $70 \pm 10\%$  e fotofase de 14 horas (Garcia & Parra, 1999). Avaliou-se o número de ovos colocados por fêmea diariamente, até a sua morte. Com base na avaliação da oviposição diária, determinou-se o pico de oviposição destas fêmeas, ou seja, em quais dias de vida as fêmeas colocavam mais ovos. Desta forma, este pico foi selecionado como o momento mais adequado para liberação de *T. atopovirilia* pela maior presença de ovos disponíveis no campo, correlacionando-os ao nível de controle observado nas armadilhas de feromônio.

Determinado o momento mais adequado da liberação, foi escolhida uma área na Fazenda Nossa Senhora do Carmo localizada no município de Pratânia, SP, com plantas de laranja (*C. sinensis*) da variedade Valência, com 8 anos de idade, onde havia um histórico do ataque de frutos por *G. aurantianum* e onde o produtor não tinha utilizado agroquímicos para o controle de pragas.

Foram avaliados 4 tratamentos, ou seja, 1, 2 e 3 liberações (Botelho et al. 1999) e um tratamento onde não houve liberação (controle). Cada tratamento contou com 4 parcelas de 1200m<sup>2</sup> com aproximadamente 80 plantas com frutos, com um espaçamento de, pelo menos, 50 m entre as parcelas. As 16 parcelas foram distribuídas num raio de 10 hectares, raio esse coberto pela ação de uma armadilha com feromônio sexual colocada no terço superior de uma planta (Bento et al. 2001) (Figura 6).

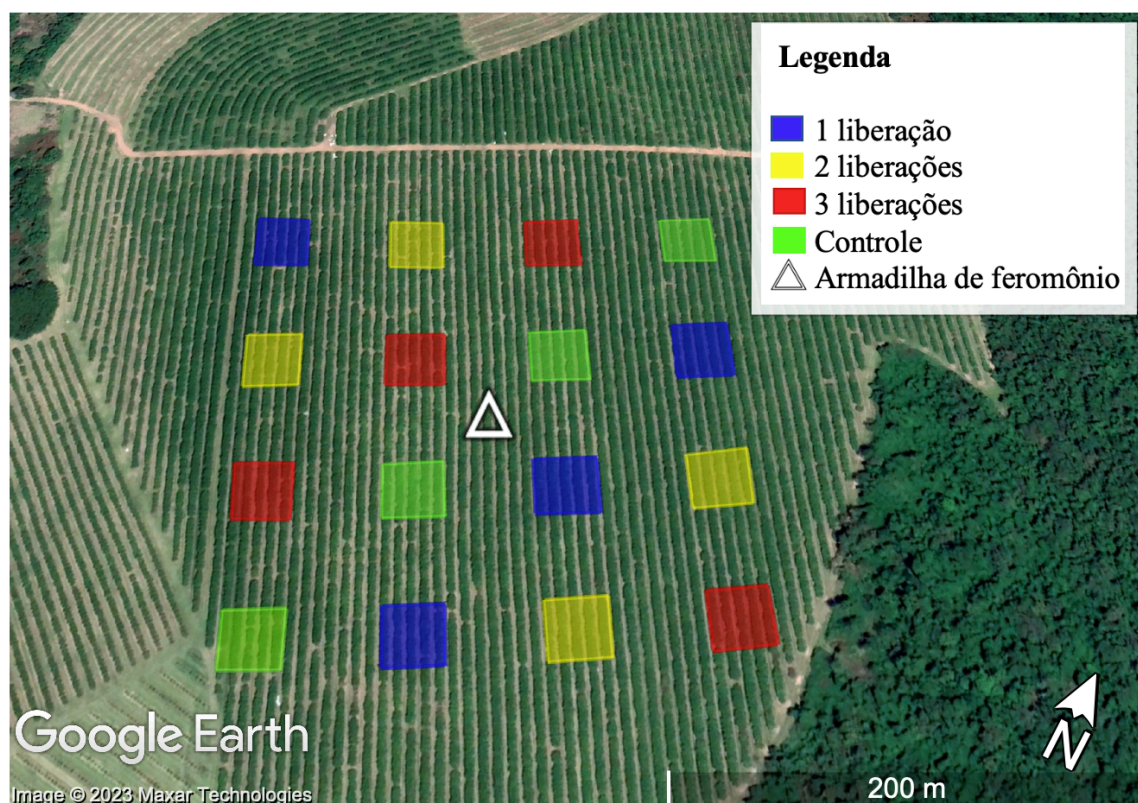


Figura 6. Área experimental localizada na Fazenda Nossa Senhora do Carmo no município de Pratânia, SP, onde foram testados diferentes números de liberações de *Trichogramma atopovirilia* para o controle do bicho-furão, *Gymnandrosoma aurantianum*, após a constatação no nível de controle determinado a partir da armadilha de feromônio para a coleta de machos da praga. A armadilha foi instalada no centro da área experimental, sendo representada por um triângulo branco no centro da imagem. Os tratamentos foram os seguintes: 1 liberação; 2 liberações; 3 liberações e o tratamento Controle. Cada quadrado, independente da cor, corresponde a 1200m<sup>2</sup>.

Foram liberadas pupas de *T. atopovirilia*, prestes à emergência, na proporção de 45 parasitoides por ovo da praga (determinada no item 3.2.). A metodologia de obtenção de pupas de *T. atopovirilia* a granel, e a forma de liberação foi a mesma utilizada no item 3.2. Foi determinado no item 3.3 que o pico de oviposição da praga ocorre inicialmente aos 5 dias, sendo esse tempo considerado para liberação dos parasitoides após o registro do nível de controle. As liberações foram realizadas com um intervalo de 7 dias (Botelho 1999; Martel 2021).

Para avaliar a eficiência do parasitoide, foram selecionadas as 4 plantas centrais de cada parcela, nas quais todos os frutos foram avaliados (Figura 7), anotando-se o número de frutos atacados semanalmente até a colheita.

Antes da primeira avaliação, todos os frutos atacados foram retirados das 4 plantas centrais de cada parcela, para que não houvesse interferência na avaliação.

Determinou-se a porcentagem média dos frutos atacados pelo bicho-furão ao longo das semanas.



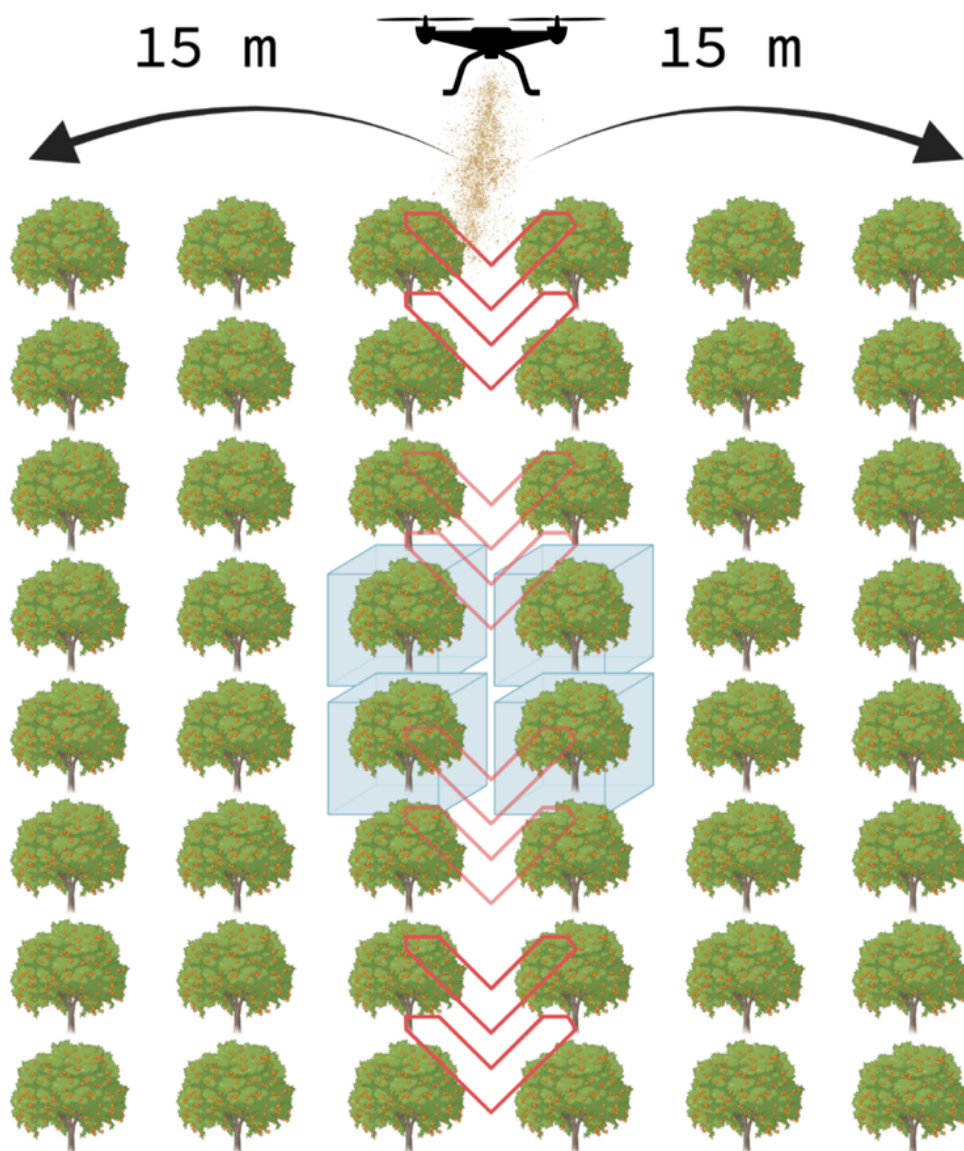


Figura 7. Delineamento experimental da liberação de *Trichogramma atopovirilia* em uma parcela de 1200m<sup>2</sup> com plantas de laranja com frutos maduros. As setas vermelhas indicam a rota de liberação percorrida pelo drone na parcela; os quadros azuis claros indicam as 4 plantas centrais das quais avaliaram-se todos os frutos semanalmente quanto ao dano de *Gymnandrosoma aurantianum*. As setas em preto indicam a capacidade de dispersão ativa do parasitoide (Gómez-Torres 2005) a partir do ponto de liberação.

A média da redução de frutos atacados por tratamento por semana foi analisada por meio do teste não paramétrico Kruskal-Wallis seguido do teste post-hoc com correção de Bonferroni. Os dados coletados da redução de frutos atacados ao longo das semanas foram analisados usando um Modelo Linear Generalizado (GLM) com distribuição Quase-Poisson, seguido do teste de comparação múltipla de Tukey. Todas as análises estatísticas foram realizadas usando R (R Development Core Team 2022).

### 3.4. Seletividade de produtos a *T. atopovirilia*

Na presente pesquisa, foram selecionados produtos químicos e um fungo entomopatogênico de acordo com a tendência do mercado brasileiro (Tabela 2). Assim, optou-se por produtos que poderão ser utilizados na citricultura em breve, seguindo a constante mudança da lista de protetores cítricos (Protecitrus), mantida pelo Fundecitrus. Água destilada foi utilizada como tratamento controle.

Tabela 2. Produtos químicos e um fungo entomopatogênico utilizados para avaliações de testes letal e subletais no parasitoide *Trichogramma atopovirilia* de acordo com recomendações da IOBC/WPRS. Doses de produtos comerciais padronizados para 2000L de calda<sup>1</sup>.

Ingrediente Ativo (i.a.)	Nome comercial, Formulação	Concentração (g i.a. L <sup>-1</sup> )	c.i.a. <sup>2</sup>	Grupo toxicológico
Ciantraniliprole + abamectina	Minecto Pro®, SC	60 + 18	0,40	Diamida + Ivermectina
Abamectina	Batent®, EC	18	0,60	Ivermectina
Espinetoram	Delegate®, WG	250	0,25	Espinosina
Sulfoxaflor	Verter®, SC	240	0,60	Sulfoxamina
Ciantraniliprole	Benevia®, OD	100	0,75	Diamida
Flupiradifurone	Sivanto®, SL	200	0,80	Butenolida
<i>Cordyceps fumosorosea</i> *	Challenger®, SC	85	0,10	Fungo entomopatogênico

<sup>1</sup> Volume de calda utilizado na citricultura atualmente (Citricultor 2021). <sup>2</sup> c.i.a. (%) = concentração do ingrediente ativo na solução. \**Cordyceps fumosorosea* (Wize) Kepler, B. Shresha & Spatafora (ESALQ-1296 strain)

#### 3.4.1. Avaliação dos efeitos letal e subletais em adultos de *T. atopovirilia*

Pedaços de papel contendo 25 ovos não parasitados de *G. aurantianum* criado em dieta artificial (3.1.1) com até 24 h de idade foram imersos por 5 segundos nas soluções dos diferentes produtos e tratamento controle (água destilada) (Tabela 2). Esses pedaços de papel foram então secos em condição ambiente e oferecidos para uma fêmea de *T. atopovirilia* previamente acasalada por 24 h em tubo de vidro (1,5 x 7 cm) contendo uma gota de mel puro e cobertos com filme plástico, para permitir o parasitismo (De Paiva et al. 2020). Após 24 h, foram oferecidos às fêmeas aproximadamente 200 ovos de *E. kuehniella* para parasitar, os quais foram trocados diariamente até a morte da fêmea. Este experimento contou com 30

fêmeas por tratamento, cada uma considerada uma repetição. As fêmeas foram mantidas em sala climatizada com temperatura:  $25 \pm 1^\circ\text{C}$ , UR:  $70 \pm 10\%$  e fotofase de 14h.

A mortalidade, capacidade de parasitismo e longevidade das fêmeas sobreviventes foram avaliadas (De Paiva et al. 2020). O parasitismo foi avaliado com base na coloração dos ovos de *E. kuehniella* pretos (parasitados) ou branco amarelados (não parasitados), observados em microscópio estereoscópico. A porcentagem de emergência (número de ovos com orifícios em relação ao número de ovos pretos) e razão sexual (com base nas antenas dos adultos) também foram avaliados (Bowen & Stern 1996).

Os efeitos na prole foram avaliados com base na capacidade de parasitismo da geração F1 por três dias (número de ovos de *E. kuehniella* parasitados por cada fêmea com 24 horas de idade, previamente acasalada, substituindo-se os ovos de *E. kuehniella* diariamente e registrando-se a emergência da prole F2). Os ensaios dos efeitos subletais na prole foram realizados com 10 repetições de cada tratamento, cada fêmea representando uma repetição.

Os inseticidas avaliados foram classificados em categorias toxicológicas, com base em seus efeitos na redução da capacidade de parasitismo do parasitoide, de acordo com as recomendações do IOBC/WPRS: classe 1 = inócuo ( $< 30\%$  de redução), classe 2 = levemente tóxico ( $30\%$  a  $80\%$  de redução), classe 3 = moderadamente tóxico ( $> 80\%$  a  $99\%$  de redução) e classe 4 = tóxico ( $> 99\%$  de redução de emergência) (Hassan 1997).

#### 3.4.2. Avaliação dos efeitos letal e subletais em pupas de *T. atovirilia*

Pedaços de papel contendo 25 ovos de *G. aurantianum* foram submetidos ao parasitismo por 24 h, sendo então, 7 dias após, imersos nas soluções dos diferentes produtos e no tratamento controle, por 5 segundos (De Paiva et al. 2020; Asrar et al. 2022). Após a secagem em condições ambientais naturais, os ovos foram colocados em tubos de vidro (1,5 x 7 cm) e cobertos com plástico filme para a emergência dos adultos. No ensaio foram usadas 30 repetições por tratamento. As pupas foram mantidas em sala climatizada com temperatura de  $25 \pm 1^\circ\text{C}$ , UR:  $70 \pm 10\%$  e fotofase de 14h. A taxa de emergência, longevidade e razão sexual dos adultos foram avaliadas. A toxicidade dos inseticidas, em termos de redução da emergência, foi classificada de acordo com as recomendações da IOBC/WPRS (Hassan 1997).

### 3.4.3. Efeitos residuais (persistência) de inseticidas em *T. atopovirilia*

Mudas de laranjas (*C. sinensis*) da variedade Valência, com dois anos de idade, foram pulverizadas com os produtos selecionados e com água destilada como tratamento controle (Tabela 2) com volume necessário para atingir o ponto de molhamento, correspondente a aproximadamente 250 mL por planta, utilizando-se pulverizador manual Jacto PJH (Jacto do Brasil S.A., Pompéia, SP, Brasil (Matioli et al. 2019) equipado com bico cônico FL-5VS (Teejet Technologies Company, São Paulo, SP, Brasil). As plantas foram mantidas em casa de vegetação sob temperatura ambiente natural e sombreamento parcial. Os vasos contendo as plantas foram irrigados, apenas no solo, a cada dois dias. Para fornecer folhas suficientes, cada tratamento contou com três plantas. O tratamento controle foi pulverizado com água.

Aos 3, 7, 14, 21 e 30 dias após a pulverização dos inseticidas, as folhas maduras de cada tratamento foram coletadas e transportadas para o laboratório (Ramírez-Cerón et al. 2022). Cada tratamento contou com 20 repetições, cada uma consistindo em uma fêmea de *T. atopovirilia* e uma folha tratada com o respectivo inseticida, colocadas em tubo de vidro (1,5 x 7 cm) com uma gota de mel puro e cobertas com filme plástico. As fêmeas foram mantidas em sala climatizada com temperatura de  $25 \pm 1^\circ\text{C}$ , UR  $70 \pm 10\%$  e fotofase de 14h. A mortalidade foi avaliada 24 h após a exposição dos parasitoides às folhas tratadas.

Os produtos que reduziram a sobrevivência das fêmeas em menos de 30% comparado com o tratamento controle foram classificados de acordo com a escala de persistência IOBC/WPRS, como: 1 – vida curta ( $< 5$  dias), 2 – ligeiramente persistente (5–15 dias), 3 – moderadamente persistente (16–30 dias) e 4 – persistente ( $> 30$  dias) (Hassan 1997).

Para as fêmeas sobreviventes, ovos de *E. kuehniella* foram oferecidos e substituídos diariamente por três dias para avaliação do parasitismo.

### 3.4.4. Análise estatística

Os dados foram testados para normalidade de Shapiro-Wilk e homocedasticidade de variância de Bartlett. Como os resíduos não seguiram distribuição normal, os dados foram submetidos a testes não paramétricos. Os dados de longevidade e parasitismo foram submetidos ao teste de Kruskal-Wallis e comparados pelo teste de Dunn com correção de Bonferroni ( $P < 0.05$ ). Os dados de emergência e razão sexual foram comparados usando um Modelo Linear Generalizado, binomial ou quase-binomial, dependendo do melhor ajuste para cada conjunto de dados ( $P < 0.05$ ). As análises foram realizadas com a linguagem de programação R versão 4.0 (R Development Core Team 2022).



#### 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

##### 4.1. Seleção de espécies de *Trichogramma* para o controle de *Gymnandrosoma aurantianum* Lima, 1927

No presente estudo, foram observadas diferenças estatísticas na maioria dos parâmetros estudados, e apenas a longevidade das fêmeas não diferiu estatisticamente entre as espécies de *Trichogramma* avaliadas (Tabela 3).

A capacidade de parasitismo da espécie *Trichogramma atopovirilia* Oatman & Platner, 1983, sobre ovos de *G. aurantianum* foi superior às outras espécies avaliadas. Em média, cada fêmea parasitou 32 ovos, diferindo estatisticamente de *Trichogramma pretiosum* Riley, 1879, que apresentou um parasitismo médio de 24 ovos, e de *Trichogramma galloi* Zucchi 1988, que apresentou um parasitismo de 20 ovos por fêmea, aproximadamente, ao longo da vida (Tabela 3). O número de ovos parasitados por fêmea variou de 10 a 70, de 2 a 64 e de 2 a 58 para *T. atopovirilia*, *T. pretiosum* e *T. galloi*, respectivamente.

Em estudo realizado por Molina (2003), houve uma triagem inicial de 13 espécies/*strains* com o objetivo de selecionar uma espécie de *Trichogramma* mais adequada para o controle de *G. aurantianum*, com base no parasitismo, duração do período ovo-adulto e emergência do parasitoide. A espécie *T. atopovirilia* parasitou, em média, 23,3 ovos do bicho-furão e *T. pretiosum* 16,8 ovos por fêmea, nas primeiras 24 horas, sendo as duas espécies consideradas como as de maior potencial de controle do bicho-furão dentre as 13 avaliadas.

Gómez-Torres (2005), estudou as duas espécies selecionadas por Molina (2003), *T. atopovirilia* e *T. pretiosum*, e observou maior capacidade de parasitismo de *T. atopovirilia* em relação a *T. pretiosum*, com parasitismo médio de 24,8 e 21,0 ovos por fêmea, respectivamente, nas primeiras 24 horas.

Tabela 3. Parâmetros biológicos e de parasitismo médio de 3 espécies de *Trichogramma* sobre ovos de *Gymnandrosoma aurantianum* até a morte das fêmeas do parasitoide. Temperatura:  $25 \pm 1^\circ\text{C}$ ; UR= $70 \pm 10\%$  e fotofase de 14 horas

Espécies	Parasitismo médio <sup>1</sup>	Emergência (%) <sup>2</sup>	Nº médio de parasitoides emergidos por ovo <sup>1</sup>	Longevidade média das fêmeas (dias) <sup>1</sup>	Razão sexual <sup>3</sup>
<i>T. atopovirilia</i>	$31,86 \pm 2,90$ a	$56,67 \pm 0,07$ a	$1,49 \pm 0,05$ a	$7,63 \pm 2,17$ a	$0,71 \pm 0,03$ b
<i>T. pretiosum</i>	$23,64 \pm 3,13$ b	$50,97 \pm 0,11$ b	$1,25 \pm 0,06$ b	$6,93 \pm 2,54$ a	$0,72 \pm 0,04$ b
<i>T. galloi</i>	$19,86 \pm 2,90$ b	$45,66 \pm 0,11$ b	$1,22 \pm 0,05$ b	$7,33 \pm 3,57$ a	$0,86 \pm 0,03$ a

<sup>1</sup>Médias seguidas por letras minúsculas iguais não diferem entre si pelo teste não paramétrico Kruskal-Wallis seguido do teste post-hoc correção de Bonferroni ( $P < 0,05$ ).

<sup>2</sup>Médias seguidas por letras minúsculas iguais não diferem entre si através do Modelo Linear Generalizado (GLM) com distribuição Quase-Poisson, seguido do teste de Tukey ( $P < 0,05$ ).

<sup>3</sup>Médias seguidas por letras minúsculas iguais não diferem entre si através do Modelo Linear Generalizado (GLM) com distribuição Quase-Binomial, seguido do teste de Tukey ( $P < 0,05$ ).

Entretanto, Molina (2003) observou uma variação muito grande entre as espécies/*strains* estudados e indicou a coleta de parasitoides em condições de campo provenientes de ovos do bicho-furão, pois a eficiência no parasitismo pode estar relacionada com origem hospedeira, fato esse observado também por outros autores (Geremias 2008; Bertin 2016).

No presente trabalho houve tentativas de coleta de parasitoides em campo, porém em nenhuma das tentativas coletaram-se ovos parasitados. Talvez em decorrência do alto volume de aplicações de produtos químicos nos pomares onde foram colocados ovos da praga (artificialmente). Portanto, os estudos foram realizados com as referidas espécies citadas anteriormente, sendo a espécie *T. atopovirilia* coletada no Paraná em São José dos Pinhais (item 3.1.4).

Existe uma série de fatores que podem estar relacionados com a adaptação de uma determinada população com seu hospedeiro, como deriva genética, endogamia e seleção natural (Hopper et al. 1993; Tayeh et al. 2012). Além desses, o outro fator é o condicionamento pré-imaginal, que pode ser definido também como o princípio “Hopkins” de seleção hospedeira, no qual geralmente uma espécie é mais adaptada aos ovos da espécie hospedeira na qual se desenvolveu (van Emden et al. 1996).

Na presente pesquisa observou-se que ambas as espécies, *T. atopovirilia* e *T. pretiosum*, parasitaram ao longo da vida, menos ovos de *G. aurantianum* em relação aos

trabalhos realizados por Molina (2003) e Gómez-Torres (2005). Essas variações entre linhagens de *Trichogramma* são comuns, conforme Bleicher & Parra (1989).

Por outro lado, Cossentine et al. (1996), observaram um parasitismo médio abaixo dos 30 ovos de *Cydia pomonella* (Linnaeus, 1758), por fêmea de *Trichogramma platneri* Nagarkatti, 1975, ao longo de sua vida. O microlepidóptero *C. pomonella* pertence à mesma família de *G. aurantianum* e as características morfológicas de seus ovos são bastante semelhantes.

No Brasil, Geremias (2008) observou um parasitismo médio de *T. galloi* sobre ovos do seu hospedeiro natural, *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794), na faixa de 19 a 31 ovos, dependendo da linhagem, ao longo da vida das fêmeas.

No presente estudo, os parasitoides foram criados por muitas gerações em laboratório em ovos do hospedeiro alternativo *Ephestia kuehniella* (Zeller, 1879), o que pode ter diminuído, ao longo do tempo, seu potencial de parasitismo. Tal condição foi observada por Bertin (2016), na qual o *fitness* de *T. galloi* criado sobre ovos de *D. saccharalis*, seu hospedeiro natural, foi maior ao longo das gerações, em relação à população do parasitoide criada em hospedeiro alternativo *E. kuehniella*. Bertin (2016) observou que os parâmetros como a longevidade, número de parasitoides por ovo e emergência, aumentaram ao longo das gerações para a população criada no hospedeiro natural. Além disso, ao longo das gerações, as populações criadas em ovos do hospedeiro alternativo, *E. kuehniella*, podem ter perdido, seu potencial biológico, como fecundidade (parasitismo), emergência e longevidade.

A despeito da perda do *fitness* de uma população de *Trichogramma* criada por muitas gerações em laboratório, é importante que se faça um controle de qualidade dos parasitoides produzidos e, conseqüentemente, introduções de novas populações a fim de aumentar o *fitness* do material (Bigler 1994); isto é muito importante pois atende à alta demanda de comercialização dos parasitoides, utilizados em milhões de hectares ao redor do mundo (Smith 1996; van Lenteren 2011).

Na presente pesquisa, observou-se que a emergência das 3 espécies estudadas corrobora com os resultados obtidos por Molina (2003) e Gómez-Torres (2005), portanto não sendo o fator viabilidade, influenciado pelo longo período de manutenção das populações criadas em laboratório.

A viabilidade média de ovos de *G. aurantianum* das espécies estudadas oscilou de 46% e 57%, para *T. galloi* e *T. atopovirilia*, respectivamente. A espécie *T. pretiosum* apresentou 50% de viabilidade. A emergência de *T. atopovirilia* diferiu estatisticamente de *T. pretiosum* e *T. galloi* (Tabela 3). Valores semelhantes foram observados por Molina (2003),



com 54,3% para *T. atopovirilia* e 55,9% para *T. pretiosum* e por Gómez-Torres (2005), que obteve uma viabilidade média de 59,9% de *T. atopovirilia* em ovos do bicho-furão.

Foi observada diferença estatística no número médio de parasitoides emergidos por ovo de *G. aurantianum*. As espécies *T. galloi* e *T. pretiosum* apresentaram uma média de 1,22 e 1,24 indivíduos por ovo, respectivamente, sem diferença estatística entre elas. Por outro lado, a espécie *T. atopovirilia* apresentou uma média de 1,49 indivíduos por ovo, diferindo significativamente das outras espécies (Tabela 3).

As fêmeas foram alimentadas com mel puro ao longo de suas vidas, porém quando os parasitoides são submetidos ao parasitismo sem alimento disponível ou com fornecimento parcial de alimento, o número de adultos por ovo tende a diminuir (Gómez-Torres 2005).

A longevidade média das fêmeas das três espécies de *Trichogramma* estudadas oscilou de 7 a 8 dias, não diferindo estatisticamente entre si (Tabela 3). No entanto, houve fêmeas de *T. atopovirilia* e *T. galloi* que sobreviveram por mais de duas semanas (Figura 8).

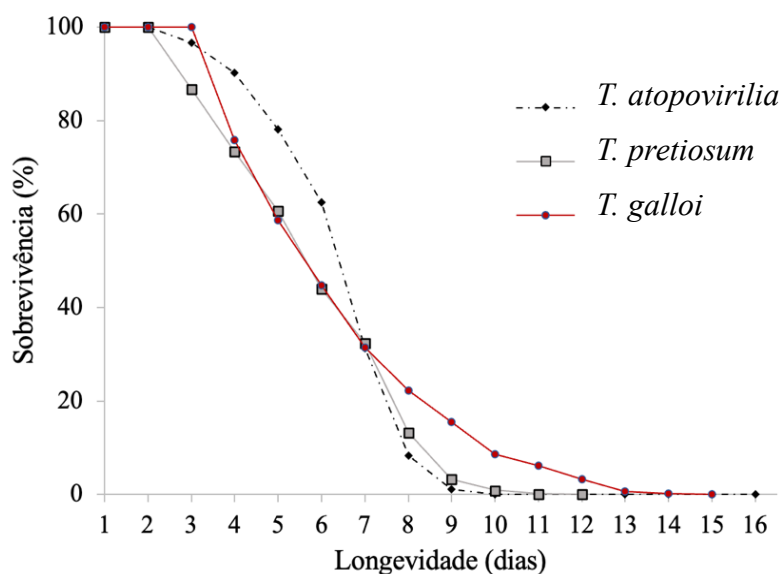


Figura 8. Longevidade de fêmeas de *Trichogramma atopovirilia*, *T. pretiosum* e *T. galloi*, parasitando ovos de *Gymnandrosoma aurantianum*. Temperatura:  $25 \pm 1^\circ\text{C}$ ; UR:  $70 \pm 10\%$  e fotofase de 14 horas.

Dentre as espécies estudadas, as fêmeas de *T. atopovirilia* viveram em média, 8 dias, valor menor do que os 9,9 dias obtidos por Molina (2003) e 9,8 dias obtidos por Gómez-Torres (2005). É importante frisar que a metodologia utilizada no presente estudo foi a mesma utilizada pelos referidos autores, pois a longevidade está diretamente relacionada com disponibilidade de alimento e com fatores bióticos (temperatura, umidade relativa e fotoperíodo) (Smith et al. 1986; Parra et al. 1991).

A longevidade dos parasitoides é uma característica importante e deve ser levada em consideração em programas de controle biológico (van Lenteren 2011), embora a maior taxa de parasitismo aconteça nos primeiros dias de vida, como observado na presente pesquisa.

Considerando-se a ação de *T. atopovirilia* sobre os ovos de bicho-furão, 80% do parasitismo ocorreu nos três primeiros dias, enquanto para as demais espécies essa a mesma porcentagem de parasitismo foi observada entre o quarto e quinto dias (Figura 9).

Molina (2003) e Gómez-Torres (2005) observaram 80% dos ovos parasitados por *T. atopovirilia* e *T. pretiosum* entre o quinto e sexto dias.

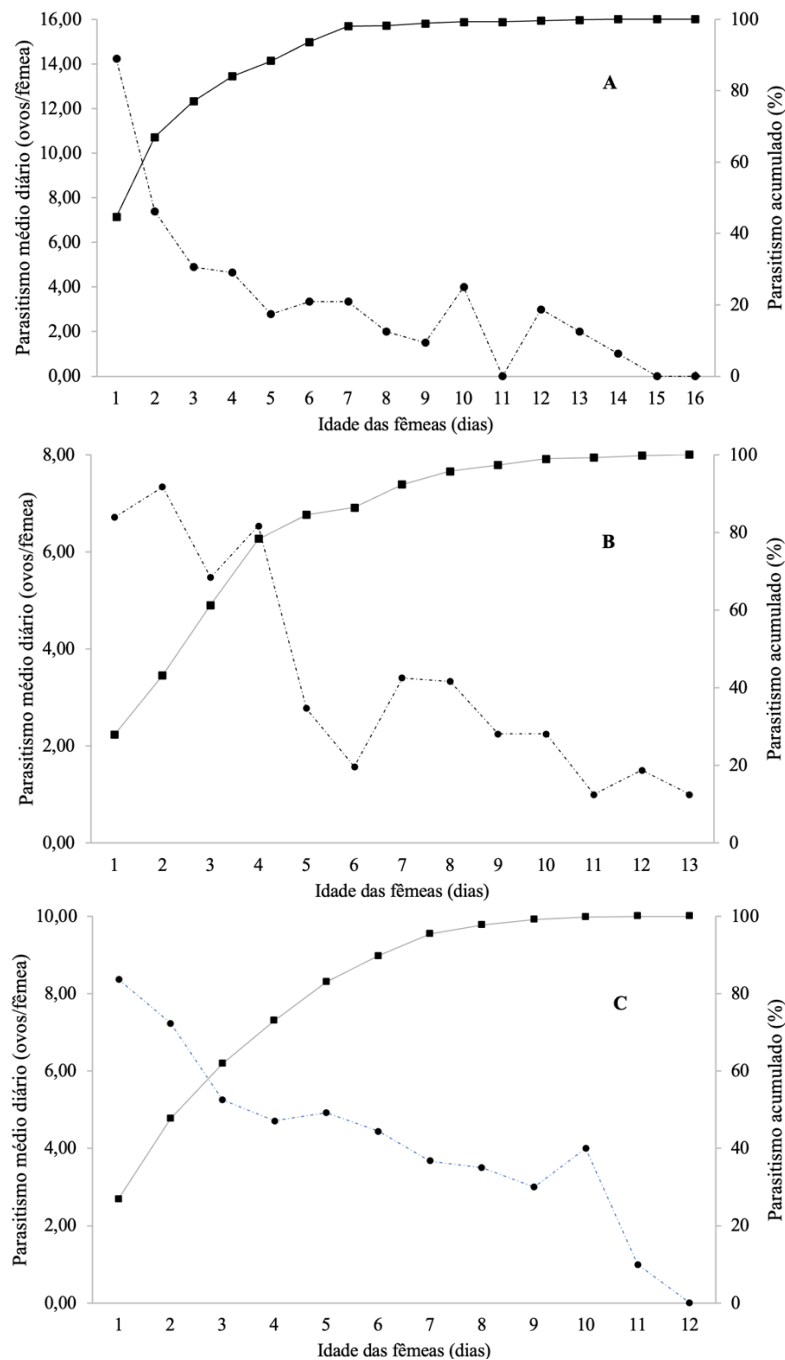


Figura 9. Parasitismo médio diário e acumulado de três espécies de *Trichogramma* sobre ovos de *Gymnandrosoma aurantianum* ao longo da vida das fêmeas. A= *T. atopovirilia*, B= *T. pretiosum*, C= *T. galloi*. Temperatura:  $25 \pm 1^\circ\text{C}$ ; UR:  $70 \pm 10\%$  e fotofase de 14h.

Portanto, de acordo com os resultados obtidos dos diferentes parâmetros biológicos avaliados, selecionou-se a espécie *T. atopovirilia* como a de maior potencial para o controle de *G. aurantianum*, corroborando com resultados obtidos anteriormente por Gómez-Torres (2005).

#### 4.2. Determinação da quantidade do parasitoide *T. atopovirilia* a ser liberada por hectare

Nas proporções de 45 e 180 parasitoides por ovo, o que correspondentes a 150 mil e 600 mil parasitoides/ha, observou-se maior parasitismo em campo em 24 horas, sobre ovos de *G. aurantianum* infestados artificialmente, não diferindo estatisticamente entre os 2 tratamentos. Por outro lado, a partir de 720 parasitoides por ovo da praga registrou-se menor parasitismo (Tabela 4).

Dessa forma, à medida em que se aumentou a quantidade de parasitoides liberados, houve uma diminuição no parasitismo (Tabelas 4 e 5). Observou-se uma média de aproximadamente um ovo parasitado por ponto nos tratamentos 45 e 180 parasitoides/ovo (Tabela 4).

Tabela 4. Média de ovos de *Gymnandrosoma aurantianum* parasitados por *Trichogramma atopovirilia* por ponto da parcela, liberado por drone em condição de campo, no município de Santa Maria da Serra, SP, de quatro liberações em épocas diferentes do ano.

Tratamentos	Média de ovos parasitados/ponto	
45 parasitoides por ovo	0,908 ± 0,0863	a
180 parasitoides por ovo	0,734 ± 0,0711	a
720 parasitoides por ovo	0,338 ± 0,0557	b
Controle (sem liberação)	0,0775 ± 0,0256	c

Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si estatisticamente pelo teste GLM com distribuição Quasi-Poisson, seguido pelo teste Tukey ( $p < 0,05$ ).

Não houve diferença estatística na média de ovos parasitados quando se liberou 45 parasitoides por ovo entre as quatro estações do ano. A proporção de 180 parasitoides por ovo foi mais eficiente no inverno em relação às demais estações. A média de ovos parasitados foi igual nas quatro estações quando se liberou a proporção de 720 parasitoides/ovo. No tratamento controle, sem liberação, também não houve diferença estatística entre as estações (Tabela 5). O maior número de ovos parasitados ocorreu no inverno (Tabela 5). É conveniente salientar que o parasitoide *T. atopovirilia* foi coletado em uma região fria do Brasil (vide item 3.1.4), e o potencial de parasitismo de *Trichogramma* spp. pode estar relacionado às condições climáticas características do local de onde foi coletado (Bleicher & Parra, 1989).

Tabela 5. Média de ovos de *Gymnandrosoma aurantianum* parasitados por *Trichogramma atopovirilia* por ponto, liberado por drone em condição de campo, no município de Santa Maria da Serra, SP, após liberações em épocas diferentes do ano.

	Média de ovos parasitados por ponto			
	(45:1)	(180:1)	(720:1)	Controle
Primavera	0,96 ± 0,166 Aa	0,68 ± 0,132 ABa	0,18 ± 0,0730 Ac	0,06 ± 0,0600 Ac
Verão	0,99 ± 0,184 Aa	0,63 ± 0,135 ABa	0,46 ± 0,116 Aa	0,07 ± 0,0326 Ac
Outono	0,59 ± 0,122 Aa	0,41 ± 0,108 Bab	0,33 ± 0,0965 Aab	0,05 ± 0,0330 Ac
Inverno	1,09 ± 0,206 Aa	1,21 ± 0,174 Aa	0,48 ± 0,164 Ab	0,13 ± 0,0691 Ac

Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si estatisticamente pelo teste GLM com distribuição Quasi-Poisson, seguido do teste de Tukey ( $p < 0,05$ ). Letras maiúsculas representam a comparação entre estações do ano e letras minúsculas entre os tratamentos.

No presente estudo a utilização de drones permitiu uma liberação homogênea na área e pode-se observar a distribuição do parasitismo dos ovos de bicho-furão infestados artificialmente através de uma matriz de distribuição dos ovos parasitados (Figura 10). A maior quantidade de ovos parasitados é sinalizada pela cor vermelha e a menor quantidade de ovos parasitados está sinalizado pela cor branca, no interior de cada retângulo correspondendo às respectivas parcelas dos tratamentos.

A partir deste valor, pode-se constatar que houve maior eficiência do parasitoide no inverno, com uma média superior de parasitismo, exatamente coincidindo com a proveniência do parasitoide, tendo sido coletado em uma região fria.

Desta forma, a maior eficiência com 45 e 180 parasitoides por ovo em relação a 720 parasitoides por ovos pode estar relacionado a um superparasitismo neste último caso.

De um modo geral, houve homogeneidade na distribuição de parasitoides feita por drones georreferenciados. Entretanto, observa-se pela Figura 10 que houve um maior parasitismo no inverno (maior número de pontos vermelhos) (Figura 10 D).

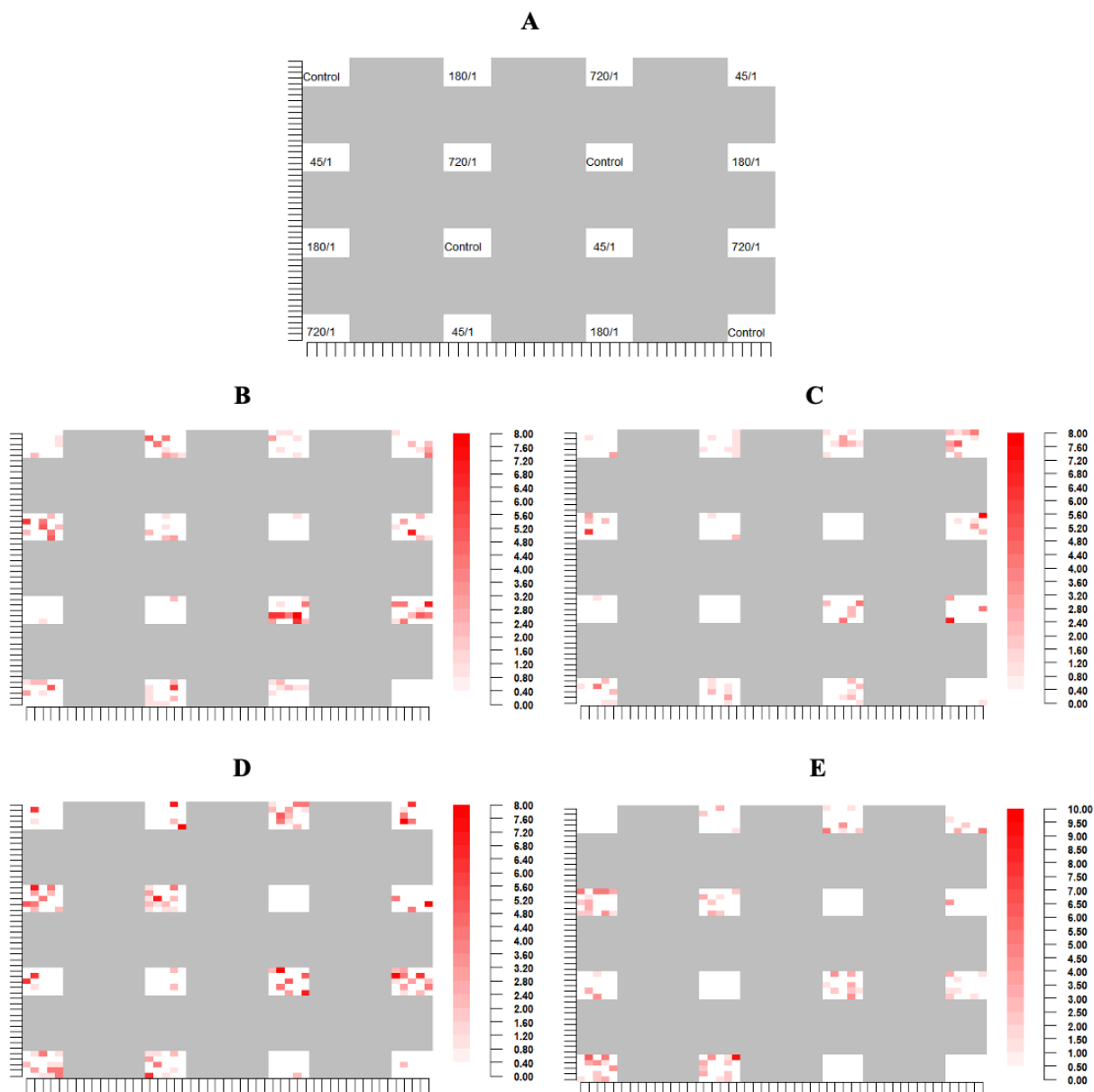


Figura 10. Matriz de distribuição dos ovos de *Gymnandrosoma aurantianum* parasitados por *Trichogramma atopovirilia* em cada parcela em pomar de laranja (célula retangular) na área estudada (utilizando-se uma escala de 5 x 5 metros para cada célula/parcela) realizada pelo pacote matrix do programa R (R Development Core Team, 2022). A intensidade da cor vermelha indica maior ou menor número de ovos parasitados. As áreas em branco indicam que não foram observados ovos parasitados. As áreas em cinza representam a região de *buffer* (espaçamento entre as parcelas). A= Croqui da disposição dos tratamentos na área; B=Liberação do parasitoide realizada no dia 12/2020 (Verão); C=Liberação do parasitoide realizada no dia 03/2021 (Outono); D=Liberação do parasitoide realizada no dia 08/2021 (Inverno); E=Liberação do parasitoide realizada no dia 09/2021 (Primavera).

A ausência de ovos nas cartelas coletadas no campo foi considerada como uma provável predação, especialmente por formigas e larvas de neurópteros presentes nas etiquetas que continham ovos do bicho-furão (Figura 11). Considerando-se a média de ovos predados por ponto não houve diferença entre os tratamentos, nas quatro liberações (Tabela 6). Entretanto quando se considerou separadamente, observou-se que a maior predação ocorreu no verão e outono (Tabela 7).

Tabela 6. Média de ovos de *Gymnandrosoma aurantianum* possivelmente predados no município de Santa Maria da Serra, SP, em quatro épocas diferentes do ano.

Tratamentos	Média de ovos predados/ponto	
45 parasitoides por ovo	$7,32 \pm 0,163$	a
180 parasitoides por ovo	$7,08 \pm 0,155$	a
720 parasitoides por ovo	$6,77 \pm 0,154$	a
Controle (sem liberação)	$7,23 \pm 0,172$	a

Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si estatisticamente pelo teste GLM com distribuição Quasi-Poisson, seguido do teste de Tukey ( $p < 0,05$ ). Letras maiúsculas representam a comparação entre estações do ano e letras minúsculas entre os tratamentos.

Tabela 7. Média de ovos de *Gymnandrosoma aurantianum* possivelmente predados em pomar de laranja no município de Santa Maria da Serra, SP, em épocas diferentes do ano.

	Média de ovos possivelmente predados por ponto			
	(45:1)	(180:1)	(720:1)	Controle
Primavera	$6,94 \pm 0,364$ Bb	$7,59 \pm 0,327$ Ba	$6,61 \pm 0,327$ Bb	$7,04 \pm 0,350$ Bb
Verão	$7,13 \pm 0,364$ Bb	$7,63 \pm 0,268$ Ba	$8,18 \pm 0,270$ ABa	$9,15 \pm 0,283$ Aa
Outono	$8,18 \pm 0,349$ Ab	$6,78 \pm 0,362$ Bab	$6,43 \pm 0,329$ Bb	$6,55 \pm 0,396$ Bb
Inverno	$7,03 \pm 0,274$ Bb	$6,24 \pm 0,259$ Bb	$6,20 \pm 0,450$ Bb	$6,17 \pm 0,254$ Bb

Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si estatisticamente pelo teste GLM com distribuição Quasi-Poisson, seguido do teste de Tukey ( $p < 0,05$ ). Letras maiúsculas representam a comparação entre estações do ano e letras minúsculas entre os tratamentos.



Figura 11. Larvas de neuróptero predando ovos de *Gymnandrosoma aurantianum* em pomar de laranja para determinação da quantidade de *Trichogramma atopovirilia* liberada por hectare.

Geralmente as quantidades de *Trichogramma* spp. liberadas visando ao controle de pragas em frutíferas é maior, podendo chegar a milhões de parasitoides por ha (Oatman & Platner 1985; Newton & Odendaal 1990), quando comparadas com culturas anuais, como cana-de-açúcar, soja e milho (Ivan et al. 2017; Martel et al. 2021; Pinto & Parra 2021). Em cana-de-açúcar, por exemplo a proporção de *T. galloi* por ovo de *D. saccharalis* é de 1,6 a 3,2:1 (Lopes 1988).

Segundo Molina (2003), a quantidade de *T. pretiosum* liberada por ovo de *G. aurantianum* em que houve maior parasitismo foi a de 36 indivíduos, número esse próximo ao obtido na presente pesquisa. Nava et al. (2007) recomendam a utilização de 30 parasitoides da mesma espécie (*T. atopovirilia*) por ovo da broca-do-abacate, *Stenoma catenifer* Walsingham (Lepidoptera: Depressariidae). Por outro lado, Gómez-Torres (2005) observou que as melhores quantidades de *T. atopovirilia* liberadas são 72 e 288 para os períodos de baixa e alta infestação do bicho-furão, respectivamente.

Liberações em quantidades menores do que a necessária para o controle de uma determinada praga pode resultar na não eficiência de controle de um determinado inimigo natural, o que poderia prejudicar a imagem de um programa de controle biológico (Monteiro et al. 2008; Ivan 2012; Cantori et al. 2015).

Segundo Pinto & Parra (2021), um número excessivo de parasitoides liberados também poderia diminuir a eficiência do parasitoide, devido a dois principais fatores: confusão no reconhecimento do hospedeiro e competição por alimento (superparasitismo).



#### 4.3. Determinação do momento mais adequado para liberação e do número de liberações de *T. atopovirilia*

De acordo com Garcia (1998), o período de pré-oviposição de *G. aurantianum* ocorre entre o segundo e terceiro dias após a sua emergência; o mesmo período foi observado na presente pesquisa. No entanto, foi observado um pico de oviposição da praga entre quinto e o sétimo dias (Figura 12). Dessa forma, a liberação do parasitoide foi realizada no quinto dia após a constatação do nível de controle, o qual é determinado pela captura de machos na armadilha de feromônio sexual, pois é nesse momento no que há maior quantidade de ovos da praga disponível para o parasitismo. Como comentado anteriormente tal nível de controle é de 8 machos por armadilha.

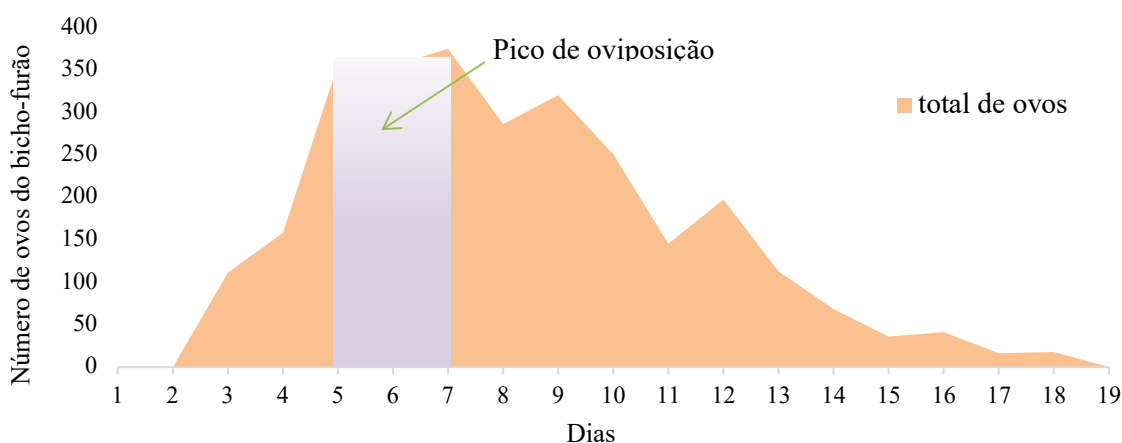


Figura 12. Número total de ovos colocados por 25 fêmeas de *Gymnandrosoma aurantianum* em laboratório.

Portanto, de acordo com os resultados obtidos, é indicado que se inicie a liberação do parasitoide de cinco a sete dias após o nível de controle. Período semelhante é utilizado para o controle de *D. saccharalis* com *T. galloi*, no qual realiza-se a primeira liberação do parasitoide uma semana após a constatação no nível de controle a partir de armadilha de feromônio (Pinto & Parra 2021).

Segundo Botelho (1985), o fator chave de crescimento populacional da broca-da-cana, *D. saccharalis*, é o estágio de ovo, portanto a presença de ovos da praga é o indicativo do momento da liberação do parasitoide em campo.

De acordo com os resultados obtidos não houve diferença estatística no número de frutos atacados entre os tratamentos ( $P=0,267$ ;  $\chi^2=3,95$ ) (Tabela 8).

Tabela 8. Média e redução de frutos atacados por *Gymnandrosoma aurantianum*, ao longo das semanas após a liberações de *Trichogramma atopovirilia*, no município de Santa Maria da Serra, SP.

Tratamentos	Média de frutos atacados por semana	Redução dos frutos atacados (%)
Controle (sem liberação)	1,63 ± 0,67 a	--
1 liberação	0,90 ± 0,25 a	44,78
2 liberações	0,63 ± 0,36 a	61,34
3 liberações	0,45 ± 0,28 a	72,39

<sup>1</sup>Médias seguidas por letras minúsculas iguais não diferem entre si pelo teste não paramétrico Kruskal-Wallis seguido do teste post-hoc com correção de Bonferroni ( $P < 0,05$ )).

Porém, observou-se que à medida em que se aumentou o número de liberações, houve redução mais rápida do número de frutos atacados (Figura 13). Botelho et al. (1999) observaram a mesma tendência de controle, ou seja, à medida em que se aumenta o número de liberações de *T. galloi* aumenta-se o controle da broca-da-cana.

Em todos os tratamentos, incluindo onde não se aplicou *T. atopovirilia*, o de número frutos atacados pelo bicho-furão foi reduzido ao longo das 13 semanas de avaliação. O número de frutos atacados foi igual a zero a partir da quinta semana após duas e três liberações do parasitoide enquanto uma liberação reduziu a zero, o número de frutos atacados, na 11ª semana (Figura 13). Portanto, observou-se que mesmo sem a liberação do parasitoide no tratamento controle, o número de frutos atacados ao longo do tempo foi reduzido e a partir da 9ª semana, não foram observados frutos atacados, mantendo-se esta situação até a colheita dos frutos.

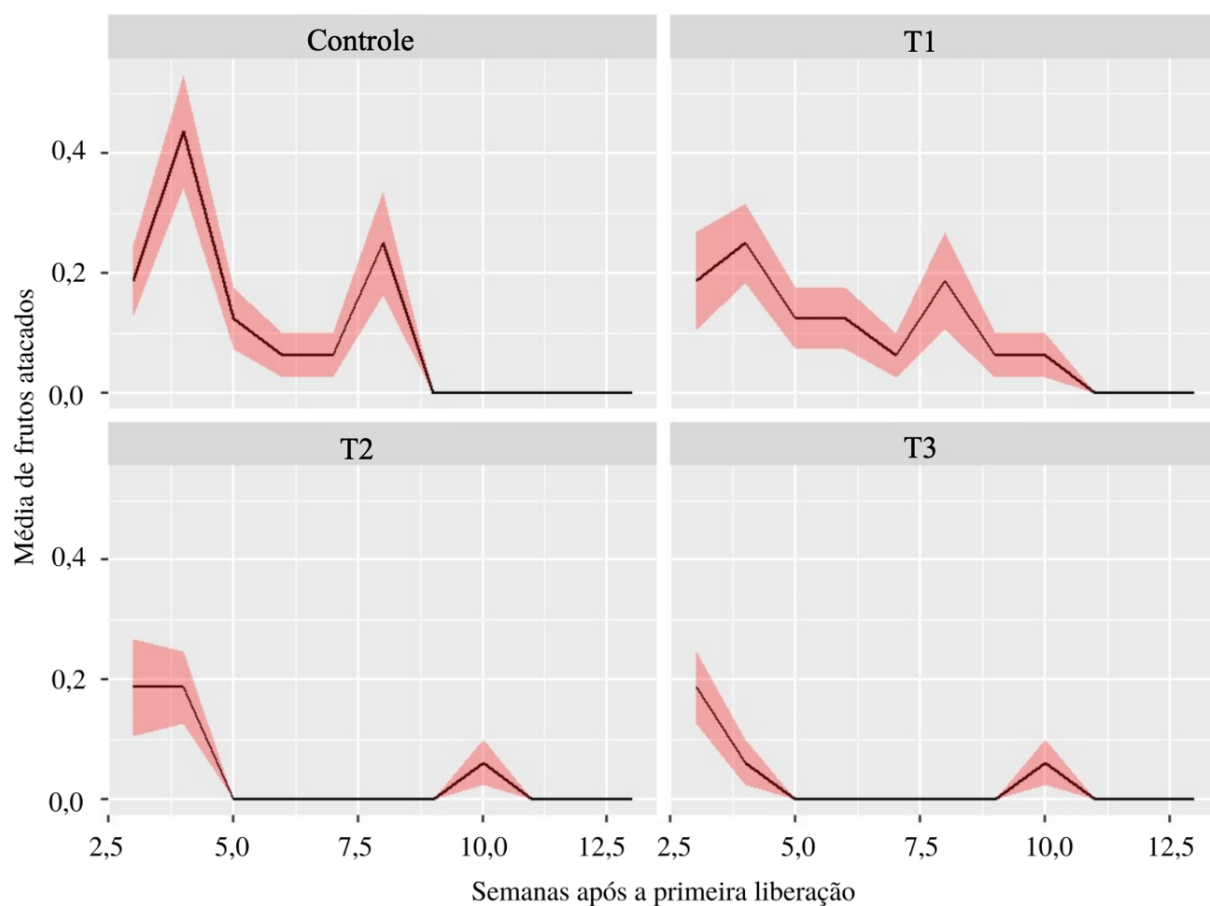


Figura 13. Evolução dos frutos atacados por *Gymnandrosoma aurantianum* ao longo das semanas após 1 (T1), 2 (T2) e 3 liberações (T3) de *Trichogramma atopovirilia* e sem liberação do parasitoide (controle).

Uma hipótese sobre a redução do número de frutos atacados também no tratamento controle (sem liberação) ao longo das semanas, é que devido a interrupção das aplicações de produtos químicos na área durante o período do experimento, houve um grande aumento do número de predadores na área, principalmente aqueles pertencentes à Ordem Neuroptera (vide item 4.2).

De acordo com Bouvet et al. (2019), o agro ecossistema citrícola, por característica perene, abriga um rico complexo de predadores generalistas, que segundo os autores são importantes agentes de mortalidade biótica de pragas-chave.

Em decorrência das aplicações de produtos químicos constantes nos pomares, muitas pragas tendem a aumentar suas populações (Parra et al. 2004b; Raga et al. 2004; Bobot et al. 2011; Diniz et al. 2020) e uma das causas desse aumento é a mortalidade de agentes de mortalidade biótica que são parasitoides e predadores naturais dessas pragas.

Outra hipótese sobre a queda do número de frutos atacados no tratamento controle, é de que os parasitoides possam ter migrado pela área ao longo do tempo, desde que o

*Trichogramma* spp. pode dispersar por longas distâncias voando ou sendo levado pelo vento (Zachrisson & Parra 1988; Fournier & Boivin 2000; Pratissoli et al. 2005), ou por forésia, deslocando-se preso em seu hospedeiro (Fatouros & Huigens 2012).

Portanto, uma liberação reduziu em 44,78%, duas liberações reduziram em 61,34% e três liberações do parasitoide reduziram em 72,39% o número de frutos atacados ao longo das semanas (Tabela 8). Tal redução ocorreu até a colheita dos frutos, sendo a duração da primeira liberação até a colheita de 90 dias.

É importante salientar que a espécie de *T. atopovirilia* é proveniente de uma área com temperaturas mais baixas, portanto esse valor de 72,4% obtido pode ser aumentado se se liberar insetos provenientes de regiões mais quentes, desde que *Trichogramma* coletado em regiões mais quentes se adaptam melhor em regiões com temperaturas mais elevadas o mesmo ocorrendo com insetos coletados em regiões mais frias, que parasitam mais em regiões com temperaturas mais baixas (Bleicher & Parra 1989).

O número indicado para liberação, ou seja, 150 mil não corresponde exatamente ao valor determinado experimentalmente (135 mil); essa diferença se deve ao fato de que nem sempre as populações criadas em laboratório apresentam 100% de viabilidade e, portanto, considerou-se uma variação de viabilidades numa criação do parasitoide de 80 a 100%.

Portanto indica-se que sejam realizadas três liberações de 150 mil parasitoides com intervalos de uma semana entre elas.

#### **4.4. Seletividade de produtos a *T. atopovirilia***

##### **4.4.1. Avaliação dos efeitos letal e subletais em adultos de *T. atopovirilia***

Os resultados indicaram diferenças significativas nas taxas de mortalidade de *T. atopovirilia* expostas a ovos tratados com inseticidas (Tabela 9). A mortalidade de adultos foi maior quando ovos tratados com espinetoram foram oferecidos, enquanto os outros produtos mataram menos de 10% dos adultos de *T. atopovirilia*. Takahashi (2016) encontrou resultados semelhantes quando ovos dos noctuídeos *Anticarsia gemmatilis* Hübner, 1818 e *Chrysodeixis includens* (Walker, 1858) tratados com espinetoram foram oferecidos a *T. atopovirilia*, com 100% de mortalidade em 24 horas em ambos os hospedeiros, semelhante aos resultados de Khan (2020) para *Trichogramma chilonis* Ishii, 1941 (Hymenoptera: Trichogrammatidae).

As fêmeas de *T. atopovirilia* apresentaram reduções significativas na porcentagem de ovos de *G. aurantianum* parasitados em 24 horas (Tabela 9). O parasitismo em 24 horas dos ovos de *G. aurantianum* tratados variou de 3,71 ovos (abamectina) a 9,36 ovos (ciantraniliprole) (Tabela 9). A redução do parasitismo foi maior em espinetoram (77,31%),

abamectina (53,81%) e ciantraniliprole + abamectina (45,53%), seguidos de flupiradifurone (27,62%). Os produtos que menos afetaram o parasitismo foram *C. fumosorosea* (3,57%), sulfoxaflor (0%) e ciantraniliprole (0%) (Tabela 9). Pratissoli et al. (2011) observaram que o parasitismo por *T. atopovirilia* foi duas vezes maior em ovos de *Diaphania hyalinata* (L., 1767) (Lepidoptera: Pyralidae) e a emergência é três vezes maior quando tratados com abamectina do que os ovos tratados de *G. aurantianum* aqui encontrada. Isso pode ser explicado pela diferença nas superfícies dos ovos entre as espécies hospedeiras. O presente estudo é o primeiro a oferecer ovos de *G. aurantianum* tratados com inseticida para *T. atopovirilia*.

No presente trabalho observou-se que o parasitismo por *T. atopovirilia* atinge o pico nos primeiros cinco dias (item 4.1), portanto, se um parasitoide morrer antes de atingir esse pico, não terá um desempenho eficiente.

A fertilização do ovo é controlada pelo sistema nervoso central (Khan 2020). O ciantraniliprole e a abamectina bloqueiam as transmissões nervosas, o que poderia, portanto, interferir no controle da fertilização dos ovos. Isso explicaria a diminuição de fêmeas emergidas. Essa hipótese também foi sugerida por Delpuech & Meyet (2003).

Os inseticidas ciantraniliprole + abamectina, abamectina e espinetoram foram levemente tóxicos para parasitismo total, com exceção do espinetoram.

Os demais parâmetros, parasitismo total e longevidade das fêmeas foram semelhantes para todos os inseticidas testados, com exceção do espinetoram. Este inseticida foi o que mais reduziu o parasitismo total e a longevidade das fêmeas. Ciantraniliprole, flupiradifurone, sulfoxaflor e *C. fumosorosea* foram os produtos que menos afetaram o parasitismo e longevidade (Tabela 9).

A longevidade (Tabela 9) e a emergência da prole (Tabela 10) foram as mais afetadas pelos inseticidas abamectina + ciantraniliprole, abamectina e espinetoram. A emergência dos indivíduos dos ovos de *G. aurantianum* tratados foi a mais afetada pelo espinetoram (12%), diferindo estatisticamente dos demais tratamentos (Tabela 10). Apesar dos efeitos sobre o parasitismo de fêmeas F0 causados pelos produtos em F1 o parasitismo das fêmeas não foi afetado pelos inseticidas (Tabela 10).

A razão sexual foi mais afetada por ciantraniliprole e ciantraniliprole + abamectina, com valores de 0,21 e 0,28 respectivamente (Tabela 10). Esses números estão muito abaixo das proporções esperadas para verificação de qualidade em uma população de parasitoides (Soares et al. 2012).

De acordo com os resultados do presente estudo e os resultados obtidos por Takahashi (2016) e Khan (2020), espinetoram é letal para adultos de várias espécies de *Trichogramma*, independentemente das características do córion dos ovos hospedeiros. Espinetoram pode causar mortalidade de duas maneiras: primeiro, pelo contato do tarso com a superfície do ovo, e, segundo, pelo contato com o ovipositor à medida que ele penetra durante o processo de parasitismo. Esse inseticida pode penetrar nas aerópilas dos ovos e, independentemente da morfologia da espécie hospedeira, o alvo (parasitoide) será contaminado (Nation 2022).

Por outro lado, algumas espinosinas são inofensivas aos predadores, mas frequentemente afetam os himenópteros parasitoides. O poder seletivo das espinosinas é bastante controverso; o uso de inseticidas derivados desse ingrediente ativo é algumas vezes indicado em programas de MIP devido à sua seletividade demonstrada para organismos não-alvo em condições de campo, mas em outros casos, é prejudicial aos agentes biológicos (Williams & Price 2004).

Embora no presente estudo, espinetoram tenha reduzido a emergência em condições de laboratório em quase 90% (Tabela 10), mais trabalhos são necessários para elucidar sua toxicidade para *T. atopovirilia* no campo.

Ciantraniliprole pode matar mais de 80% dos adultos de *T. chilonis* expostos aos ovos tratados nas primeiras 24 horas (Nidagundi & Mallapur 2021). No presente estudo, este produto causou 3,33% de mortalidade nas primeiras 24 horas (Tabela 9).

Tabela 9. Efeito letal e subletais de produtos químicos e de um fungo entomopatogênico quando adultos de *Trichogramma atopovirilia* foram colocados em contato com ovos de *Gymnandrosoma aurantianum* submersos em solução inseticida. Temperatura:  $25 \pm 1^\circ\text{C}$ , UR:  $70 \pm 10\%$  e fotofase 14h.

Tratamento	Mortalidade dos adultos (%) <sup>1</sup>	Parasitismo em 24h (Ovos de <i>G. aurantianum</i> tratados) <sup>1</sup>	Redução do parasitismo (%)	Classificação da IOBC/WPRS <sup>2</sup>	Parasitismo total <sup>1</sup>	Longevidade (dias) <sup>1</sup>
Controle	3,33 $\pm$ 3,33 a	8,66 $\pm$ 1,15 a	--	--	56,00 $\pm$ 8,33 a	8,03 $\pm$ 0,93 a
Ciantraniliprole + Abamectina	10,00 $\pm$ 5,57 a	7,60 $\pm$ 0,85 a	45,53	2	30,50 $\pm$ 4,60 abc	6,36 $\pm$ 0,92 bc
Abamectina	10,00 $\pm$ 5,57 a	3,71 $\pm$ 0,66 b	53,81	2	25,86 $\pm$ 5,15 bc	4,26 $\pm$ 0,57 c
Epineteran	46,67 $\pm$ 9,24 b	3,79 $\pm$ 0,49 b	77,31	2	12,70 $\pm$ 6,39 c	2,93 $\pm$ 0,72 d
Sulfoxaflor	10,00 $\pm$ 4,63 a	5,26 $\pm$ 1,02 ab	0	1	60,16 $\pm$ 7,86 a	8,47 $\pm$ 1,09 a
Ciantraniliprole	3,33 $\pm$ 3,33 a	9,36 $\pm$ 1,27 a	0	1	62,60 $\pm$ 7,11 a	9,20 $\pm$ 1,00 a
Flupiradifurone	0,00 $\pm$ 0,00 a	6,33 $\pm$ 1,00 ab	27,62	1	40,53 $\pm$ 4,70 ab	7,20 $\pm$ 0,71 ab
<i>Cordyceps fumosorosea</i>	10,00 $\pm$ 5,57 a	6,50 $\pm$ 0,79 ab	3,57	1	54,00 $\pm$ 8,28 ab	8,50 $\pm$ 0,75 a
df	7	7	7	--	7	7
$\chi^2$	36,56	26,99	--	--	49,91	54,62
P	<0,001	<0,001	--	--	<0,001	<0,001

<sup>1</sup> Os dados seguidos pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si (teste de Kruskal-Wallis, seguido de Dunn com teste post-hoc de correção de Bonferroni ( $P < 0,05$ )).

<sup>2</sup> IOBC/WPRS: classe 1 = inócuo (< 30% de redução), classe 2 = levemente tóxico (30% a 80% de redução), classe 3 = moderadamente tóxico (> 80% a 99% de redução) e classe 4 = tóxico (> 99% de redução de emergência)

Tabela 10. Efeitos subletais na prole (F1) de *Trichogramma atopovirilia* de fêmeas expostas a ovos de *Gymnandrosoma aurantianum* submersos em soluções de produtos químicos e a um fungo entomopatogênico. Temperatura:  $25 \pm 1^\circ\text{C}$ , UR:  $70 \pm 10\%$  e fotofase 14h.

Tratamento	Emergência (%) <sup>2</sup>	Razão sexual <sup>2</sup>	Longevidade (dias) <sup>1</sup>	Parasitismo (72 h) <sup>1</sup>	Emergência F2 (%) <sup>2,3</sup>
Controle	42,42 $\pm$ 7,00 ab	0,70 $\pm$ 0,04 a	5,41 $\pm$ 0,28 a	35,81 $\pm$ 5,49 ns	95,22 $\pm$ 0,03 a
Ciantraniliprole + Abamectina	46,16 $\pm$ 6,37 a	0,28 $\pm$ 0,03 b	3,20 $\pm$ 0,48 b	21,00 $\pm$ 8,15	86,37 $\pm$ 0,09 ab
Abamectina	33,10 $\pm$ 10,59 b	0,57 $\pm$ 0,13 a	3,44 $\pm$ 0,24 b	38,55 $\pm$ 6,07	94,09 $\pm$ 0,02 ab
Espinetoran	12,03 $\pm$ 4,86 c	0,73 $\pm$ 0,14 a	3,84 $\pm$ 0,42 ab	27,50 $\pm$ 7,44	82,12 $\pm$ 0,16 b
Sulfoxaflor	43,76 $\pm$ 7,65 ab	0,63 $\pm$ 0,05 a	2,50 $\pm$ 0,22 b	27,33 $\pm$ 7,44	85,46 $\pm$ 0,03 b
Ciantraniliprole	28,82 $\pm$ 5,79 bc	0,21 $\pm$ 0,05 b	3,28 $\pm$ 0,47 b	36,85 $\pm$ 6,89	95,47 $\pm$ 0,01 a
Flupiradifurone	45,17 $\pm$ 7,65 ab	0,68 $\pm$ 0,06 a	3,60 $\pm$ 0,24 ab	46,80 $\pm$ 8,15	91,56 $\pm$ 0,02 ab
<i>Cordyceps fumosorosea</i>	46,16 $\pm$ 6,37 a	0,63 $\pm$ 0,10 a	4,25 $\pm$ 0,52 ab	36,33 $\pm$ 5,51	94,58 $\pm$ 0,01 a
df	7	7	7	7	7
$\chi^2$ ou F	27,17	99,89	24,85	9,57	25,83
P	0,0003	<0,001	<0,001	0,2146	<0,001

<sup>1</sup> Os dados seguidos pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si (teste de Kruskal-Wallis, seguido de Dunn com teste post-hoc de correção de Bonferroni ( $P < 0,05$ )).

<sup>2</sup> Os dados seguidos pela mesma letra não diferem estatisticamente (GLM com distribuição quasi-binomial, seguido pelo post-hoc de Tukey ( $P < 0,05$ )).

<sup>3</sup> A geração F2 emergiu de ovos parasitados de *Ephestia kuehniella*.



#### 4.4.2. Avaliação dos efeitos letal e subletais em pupas de *T. atopovirilia*

Entre os inseticidas testados, apenas o espinetoram reduziu drasticamente (92,92%) a emergência de *T. atopovirilia*, quando aplicado em pupas do parasitoide de 7 dias em ovos de *G. aurantianum*. Os demais inseticidas reduziram a emergência em menos de 5% e foram considerados inócuos pela classificação da IOBC/WPRS (Tabela 11).

A emergência da F1 dos ovos de *G. aurantianum* tratados foi a mais afetada pelo espinetoram (12%), diferindo estatisticamente dos demais tratamentos (Tabela 9). A emergência do parasitoide a partir de ovos de *A. gemmatilis* tratados com espinetoram foi de 13,5% (Khan 2020). Esses resultados mostram novamente que, independentemente do hospedeiro, o espinetoram causa consideráveis efeitos letais e sub-letais sobre *T. atopovirilia*.

O parasitismo dos insetos F1 foi maior do que os da F2 e a emergência de F2 foi superior a 80% em todos os tratamentos (Tabela 9). Isso pode ser explicado pelo condicionamento pré-imaginal também encontrado por Tabebordbar et al. (2020).

Takahashi (2016) não encontrou emergência de *T. atopovirilia* em ovos de *A. gemmatilis* e *C. includens* tratados com espinetoram sete dias após o parasitismo.

Tabela 11. Efeito de produtos químicos e de um fungo entomopatogênico na emergência de *Trichogramma atopovirilia*, por imersão de ovos de *Gymnandrosoma aurantianum* contendo pupas do parasitoide (7 dias após o parasitismo) (média  $\pm$  erro padrão). Temperatura:  $25 \pm 1^\circ\text{C}$ , UR:  $70 \pm 10\%$  e fotofase 14h.

Tratamento	Emergência (%) <sup>1</sup>	Redução de parasitismo (%) <sup>2</sup>	Classificação da IOBC/WPRS <sup>3</sup>	
Controle	76,50 $\pm$ 2,67 ab	--	--	
Ciantraniliprole + Abamectina	74,81 $\pm$ 2,78 b	2,75	1	
Abamectina	77,82 $\pm$ 2,62 ab	0,00	1	
Espinetoran	5,42 $\pm$ 1,36 c	92,92	3	
Sulfoxaflor	80,22 $\pm$ 3,15 ab	0,00	1	
Ciantraniliprole	74,37 $\pm$ 4,10 b	3,21	1	
Flupiradifurone	84,28 $\pm$ 1,95 a	0,00	1	
<i>Cordyceps fumosorosea</i>	74,57 $\pm$ 2,14 ab	2,20	1	
df	7	7	-	
$\chi^2$	79.75	-	-	
P	<0.001	-	-	

dos pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si (teste de Kruskal-Wallis, seguido de Dunn com teste post-hoc de correção de Bonferroni ( $P < 0,05$ )).

<sup>2</sup> A redução de emergência é calculada pela fórmula  $R = ((P/p) \times 100)$ , onde R é a porcentagem de redução de emergência, P é o valor médio de emergência e p é a emergência média no tratamento controle (Rocha e Carvalho, 2004).

<sup>3</sup> Classificação da IOBC/WPRS: Classe 1 = inócuo (redução  $< 30\%$ ), classe 2 = levemente tóxico (redução de 30-80%, classe 3 = moderadamente tóxico ( $> 80-99\%$  de redução) e classe 4 = tóxico ( $> 99\%$  de redução de emergência) (Hassan 1997).

#### 4.4.3. Efeitos residuais (persistência) de inseticidas em *T. atopovirilia*

Abamectina, ciantraniliprole, ciantraniliprole + abamectina e *C. fumosorosea* foram classificados como de vida curta, ou seja, *T. atopovirilia* pode ser liberado até 5 dias após a aplicação desses produtos. Sulfoxaflor e flupiradifurone foram classificados como levemente persistentes por afetarem o parasitoide até 15 dias após a aplicação. O espinetoram foi classificado como moderadamente persistente, pois matou mais de 30% dos parasitoides duas semanas após a aplicação (Figura 14).

O número de ovos parasitados por fêmea em contato com folhas de citros três dias após a aplicação variou de 9,16 (abamectina) a 33,56 (flupiradifurone) e a emergência foi de até 88%. Nos dias 3, 7 e 10, não houve repetições suficientes para analisar, por causa da alta mortalidade causada por espinetoram (Tabela 12).

Com base nos padrões do IOBC, flupiradifurone é frequentemente classificado como inofensivo a *Trichogramma* spp. após exposição de 24 horas (Tabebordbar et al. 2020). Iost Filho (2017) e Costa et al. (2022) observaram que flupiradifurone não afetou a emergência e o parasitismo de *T. pretiosum*. Em contrapartida, no presente estudo,

flupiradifurone foi classificado como levemente persistente, causando 50% de mortalidade 10 dias após a pulverização das folhas dos citros (Figura 14).

Encontrou-se uma incongruência, pois flupiradifurone causou mortalidade zero quando aplicados na superfície dos ovos de *G. aurantianum* em 24 h, mas causou cerca de 60% de mortalidade 3 dias após a pulverização das folhas de citros (Figura 14). Isso também ocorreu com outros produtos, onde a mortalidade foi maior no início da exposição às folhas cítricas do que aos ovos de *G. aurantianum* (Figura 14).

Esses resultados mostram a importância do teste de persistência, por ser mais próximo da realidade de campo poderá evitar a recomendação de um produto que seria mais letal ao adotar o método de oferta de ovos tratados em tubos de ensaio.

No presente trabalho, outros produtos foram classificados como inócuos porque a redução da emergência foi inferior a 30% (Tabela 12). Um inseticida pode causar mortalidade de duas maneiras; por contato (penetração nos ovos pelas aerópilas, atingindo o parasitoide) ou por ingestão na superfície do ovo (para emergir, o parasitoide consome o córiun) (Nation 2022).

A persistência de produtos aplicados em superfícies pode auxiliar na prática de manejo associando um determinado princípio ativo e um parasitoide em um determinado período (Matioli et al. 2019; Rakes et al. 2021; Ramírez-Cerón et al. 2022). Dependendo do período, a liberação do parasitoide pode ser intercalada com a aplicação do ingrediente ativo de interesse. Para isso, é necessário entender a bioecologia do agente biológico (Gómez-Torres 2005; Molina et al. 2005) e da praga (Garcia 1998), considerar o período de maior eficiência, pico de parasitismo e presença de ovos da praga, por exemplo, respeitando o período de ação do produto.

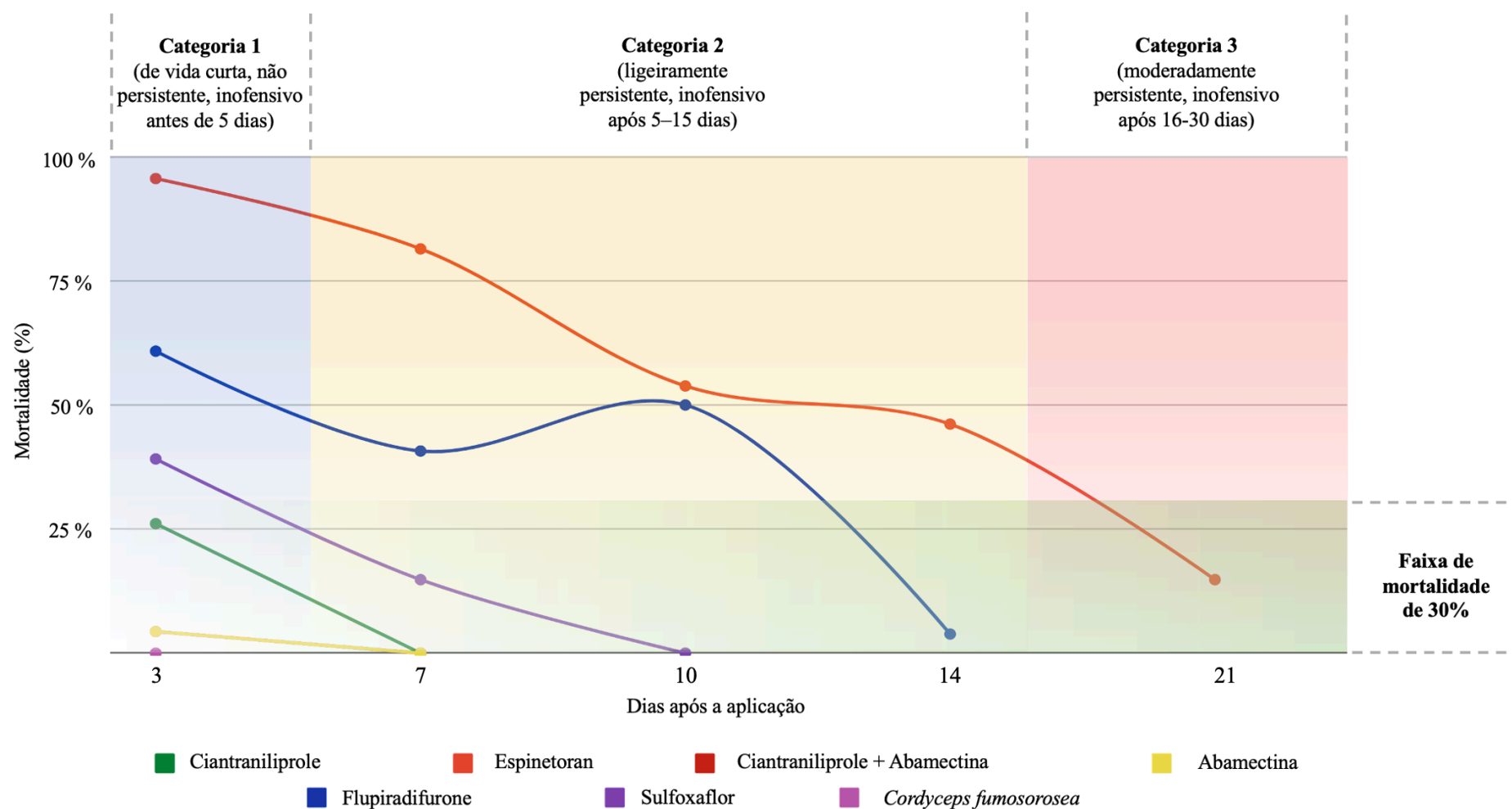


Figura 14. Toxicidade e persistência de produtos químicos e um fungo entomopatogênico em adultos de *Trichogramma atopovirilia*, com base na classificação IOBC/WPRS. \*A mistura ciantraniliprole + abamectina causou a mesma mortalidade que abamectina, desta forma sua linha não é visível na figura.

Tabela 12. Efeitos subletais (três dias de parasitismo e emergência) de produtos químicos e um fungo entomopatogênico sobre *Trichogramma atopovirilia* quando em contato com folhas de laranja tratadas com inseticidas aos 3, 7, 10, 14 e 21 dias após a aplicação. Temperatura:  $25 \pm 1^\circ\text{C}$ , UR:  $70 \pm 10\%$  e fotofase 14h. P = três dias de parasitismo; E (%) = Emergência.

Tratamento	3º Dia		7º Dia		10º Dia		14º Dia		21º Dia	
	P <sup>1</sup>	E (%) <sup>2</sup>	P <sup>1</sup>	E (%) <sup>2</sup>	P <sup>1</sup>	E (%) <sup>2</sup>	P <sup>1</sup>	E (%) <sup>2</sup>	P <sup>1</sup>	E (%) <sup>2</sup>
Controle	22,36 $\pm$ 4,11 ab	97,20 $\pm$ 1,14 a	58,84 $\pm$ 3,44 a	98,65 $\pm$ 0,42 a	14,45 $\pm$ 3,88 b	99,93 $\pm$ 0,06 a	18,23 $\pm$ 3,25 ab	100,00 $\pm$ 0,00 a	12,36 $\pm$ 1,85	100,00 $\pm$ 0,00 a
Ciantraniliprole + Abamectina	24,55 $\pm$ 4,07 a	93,28 $\pm$ 2,91 a	-	-	-	-	-	-	-	-
Abamectina	9,16 $\pm$ 3,74 b	91,92 $\pm$ 5,52 a	-	-	-	-	-	-	-	-
Espinetoran	*	*	*	*	*	*	23,00 $\pm$ 5,04 a	95,45 $\pm$ 3,24 a	7,81 $\pm$ 2,19 ns	84,68 $\pm$ 4,57 b
Sulfoxaflor	14,67 $\pm$ 6,68 ab	88,88 $\pm$ 11,11 b	48,17 $\pm$ 4,85 ab	93,42 $\pm$ 4,25 b	-	-	-	-	-	-
Ciantraniliprole	26,71 $\pm$ 5,68 a	94,86 $\pm$ 5,68 a	-	-	-	-	-	-	-	-
Flupiradifurone	33,56 $\pm$ 7,72 a	98,36 $\pm$ 0,86 a	35,56 $\pm$ 5,61 b	96,32 $\pm$ 0,75 b	35,56 $\pm$ 5,61 a	96,33 $\pm$ 0,75 b	9,96 $\pm$ 2,72 b	99,27 $\pm$ 0,72 a	-	-
<i>Cordyceps fumosorosea</i>	31,71 $\pm$ 5,29 a	98,09 $\pm$ 0,57 a	-	-	-	-	-	-	-	-
df	7	7	3	3	2	2	2	2	1	1
$\chi^2$	21,46	69,55	10,72	18,52	10,14	18,65	8,39	3,89	1,98	20,53
P	0,0015	0,008	0,004	<0,001	0,0014	<0,001	0,0151	0,35	0,15	<0,001

<sup>1</sup> Os dados seguidos pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si (teste de Kruskal-Wallis, seguido de Dunn com teste post-hoc de correção de Bonferroni (P<0,05)).

<sup>2</sup> Os dados seguidos da mesma letra não diferem estatisticamente entre si (teste de Kruskal-Wallis, seguido do teste post-hoc de Tukey (p<0,05)).

\* Nos dias 3, 7 e 10 não houve repetição suficiente para realizar a análise.

- Não foi avaliado, conforme metodologia da IOBC/WPRS.

De acordo com os resultados da presente pesquisa, o bicho-furão pode ser manejado com liberações de *T. atopovirilia* em intervalos de 3 a 7 dias entre as aplicações dos ingredientes ativos ciantraniliprole, ciantraniliprole + abamectina, *C. fumosorosea*, sulfoxaflor e abamectina. Flupiradifurone e espinetoram; por outro lado, devem ser aplicados com intervalos de 2 ou 3 semanas, respectivamente, entre as liberações de *T. atopovirilia*.

Apesar dos resultados apresentados quanto à seletividade fisiológica, os produtos classificados como nocivos ainda podem ser integrados em programas de manejo integrado, considerando-se sua seletividade. São fornecidas, com os resultados apresentados, informações para auxiliar no momento das liberações de *T. atopovirilia* para controlar *G. aurantianum* antes, juntamente ou após a pulverização de inseticidas, dependendo da seletividade e persistência dos inseticidas.



## 5. CONCLUSÕES

- A espécie *Trichogramma atopovirilia* Oatman & Platner, 1983 apresenta potencial de controle de *Gymnandrosoma aurantianum* Lima, 1927;
- Três liberações de 150 mil parasitoides da espécie *T. atopovirilia* por hectare, a intervalos semanais, é a mais eficiente para o controle de *G. aurantianum*;
- O drone utilizado na liberação permite uma dispersão homogênea dos parasitoides em citros, registrando-se parasitismo uniforme nas diferentes áreas;
- O momento ideal para se realizar a primeira liberação de *T. atopovirilia* é entre o quinto e sétimo dias (pico de postura do bicho-furão), após a constatação do nível de controle na armadilha de feromônio, utilizada para monitoramento de *G. aurantianum*;
- Os produtos químicos ciantraniliprole, sulfoxaflor, abamectina, a mistura ciantraniliprole + abamectina e o fungo entomopatogênico *Cordyceps fumosorosea* (Wize) Kepler, B. Shrestha & Spatafora, são seletivos ao parasitoide *T. atopovirilia* e podem ser utilizados mesmo com a liberação do parasitoide, desde que se respeite um intervalo de 3 a 7 dias entre aplicações de tais produtos, após a liberação de *T. atopovirilia*.





## REFERÊNCIAS

- Abd El-Hafez A, El-Sharkawy MAA, Hassan KA (2014) Consequential Effects of High Temperature on Biological Characteristics Influencing the Efficacy of *Trichogramma evanescens* Westwood and its Progeny. Egypt J Biol Pest Control 24:57–63
- Agrofit (Sistema de Agrotóxicos Fitossatinátios) [https://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit\\_cons/principal\\_agrofit\\_cons](https://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons) Acesso dia 24 abril de 2023
- Ayres J, Sala I, Miranda MPNW, Lopes RBB e SA (2018) Manejo do greening: 10 mandamentos para o sucesso no controle da doença., 1st edn. Fundecitrus, Araraquara
- Asrar M, Ali S, Mushtaq N, Zia K, Bibi R, Akhtar I, Hussain D, Li Y, Niaz Y, Alwahibi MS, Elshikh MS, Kubik S (2022) Toxicity of neem seed extract and different insecticides on *Trichogramma chilonis* (Hymenoptera: Trichogrammatidae). J King Saud Univ Sci 34:102135. <https://doi.org/10.1016/j.jksus.2022.102135>
- Basso C & Grille G (2009) Relaciones entre organismos en los sistemas hospederos-parasitoides- simbiontes. Facultad de Agronomia, Universidad de la Republica, Uruguay. 226
- Bento FMM (2008) Influência da umidade em quatro tipos de solo no desenvolvimento pupal de *Ceratitis* captada (Wiedemann, 1824), *Anastrepha fraterculus* (Wiedemann, 1830), do parasitóide *Diachasmimorpha longicaudata* (Ashmed, 1905) e de *Gymnandrosoma aurantianum* Lima, 1927. Dissertação (Mestrado), Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz
- Bento JMS, Parra JRP, De Miranda SHG, Adami ACO, Vilela EF, Leal WS (2016) How much is a pheromone worth? F1000Res 5:1763. <https://doi.org/10.12688/f1000research.9195.1>
- Bento JMS (2019) Manual de bicho-furão: medidas essenciais de controle. Fundecitrus, Araraquara
- Bento JMS, Parra JRP, Vilela EF, Walder JM, Leal WS (2001) Sexual behavior and diel activity of citrus fruit borer: *Ecdytoplopha aurantiana*. J Chem Ecol 27:2053–2065. <https://doi.org/10.1023/A:1012294921058>
- Bertate LM (2017) Quantidade liberada de *Trichogramma galloi* para o controle de diferentes densidades de ovos de *Diatraea saccharalis* em cana-de-açúcar. Centro Universitário Moura Larcenda

- Bertin A (2016) Mudanças genéticas e fenotípicas associadas à criação de *Trichogramma galloi* Zucchi, 1988 (Hymenoptera: Trichogrammatidae) nos hospedeiros natural e alternativo e os efeitos da hibridização intraespecífica no seu fitness. (Tese de Doutorado) Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”.
- Bigler F (1994) Quality control in *Trichogramma* production. In: Wajnberg E & Hassan SA (ed) Biological control with egg parasitoids. CAB International, Wallingford, UK., pp 93–111
- Bleicher E, Parra JRP (1989) Espécies de *Trichogramma* parasitoides de *Alabama argillacea*. Biologia de três populações. Pesquisa Agropecuária Brasileira, Brasília, 24(8):929-940.
- Bobot TE, Franklin E, Navia D, Gasnier TRJ, Lofego AC & Oliveira BM (2011) Mites (Arachnida, Acari) on *Citrus sinensis* L. Osbeck orange trees in the State of Amazonas, Northern Brazil. Acta Amazon 41:557–566.  
<https://doi.org/10.1590/S0044-59672011000400013>
- Botelho (1985) Tabela de vida ecológica e simulação da frase larval da *Diatraea saccharalis* (Fabr., 1794) (Lep.: Pyralidae). Tese (Doutorado em Entomologia), ESALQ/USP
- Botelho PSM (1997) Eficiência de *Trichogramma* em campo. In: Parra JRP & Zucchi RA (ed) *Trichogramma* e o controle biológico aplicado. Fealq, Piracicaba, SP, pp 33–318
- Botelho PSM & Macedo N (2002) *Cotesia flavipes* para o controle de *Diatraea saccharalis*. In Controle Biológico No Brasil: Parasitóides e Predadores. In: Parra JRP, Botelho PSM, Corrêa-Ferreira BS, Bento JMS (ed) Controle Biológico No Brasil: Parasitóides e Predadores. Manole, Piracicaba, SP, pp 409–429
- Botelho PSM, Parra JRP, Chagas Neto JF das, Oliveira CPB (1999) 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 Entomológica do Brasil 28:491–496.  
<https://doi.org/10.1590/s0301-80591999000300015>
- Botelho PSM, Parra JRP, Magrini EA, Haddad ML, Resende LCL (1995) Efeito do número de liberações de *Trichogramma galloi* (Zucchi, 1988) no parasitismo de ovos de *Diatraea saccharalis* (Fabr., 1794). Sci Agric 52:65–69.  
<https://doi.org/10.1590/s0103-90161995000100012>

- Bouvet JPR, Urbaneja A, Pérez-Hedo M, Monzó C (2019) Contribution of predation to the biological control of a key herbivorous pest in citrus agroecosystems. *Journal of Animal Ecology* 88:915–926. <https://doi.org/10.1111/1365-2656.12982>
- Bowen WR & Stern VM (1996) Effect of temperature on the production of males and sexual mosaics in a uniparental race of *Trichogramma semifumatum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae). *Ann Entomol Soc Am* 59
- Broglia-Micheletti SMF, Pereira-Barros JL, dos Santos AJN, de Carvalho LWT, de Carvalho LHT, de Oliveira CJT (2007) Efeito do número de adultos de *Trichogramma galloi* Zucchi, 1988 (Hymenoptera: Trichogrammatidae) liberados em semanas sucessivas, para o controle de *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794) (Lepidoptera: Crambidae). *Ciencia e Agrotecnologia* 31:53–58
- Burks BD (1979) Trichogrammatidae. In: Al. Krombein VK & Hurd Jr PD (ed) *Catalog of Hymenoptera in America north of Mexico*, 1st edn. Smithsonian Institute Press, Washington, DC, pp 1033–1043
- Cantori LV, Pinto AS, Oliveira AJMB, Padilha MN, Kobayashi AIF, Silva K, Oliveira HN (2015) Comparison between the releasing of different amounts of pupae and adults of *Trichogramma pretiosum* in controlling lepidopteran eggs in soybean. In: *Annual Meeting of the Entomological Society of America*. ESA, Minneapolis, p 63
- Carvalho DR (2003) Comparação de métodos de monitoramento e controle do bicho-furão, *Ecdytolopha aurantiana* (Lima, 1927) (Lepidoptera: Tortricidae), em citros. Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz
- Carvalho JAV (2013) Quantidade liberada de *Trichogramma galloi*, simulando uma aplicação aérea, no controle de *Diatraea saccharalis* em canavial. Centro Universitário Moura Lacerda
- Citrus BR (2021) Produção de laranja deve crescer na China. <https://citrusbr.com/noticias/producao-de-laranja-deve-crescer-na-china/> Acesso 22 de setembro de 2020
- Cônsoli & Parra (1999) Development of an artificial host egg for in vitro egg laying of *Trichogramma galloi* and *T. pretiosum* using plastic membranes. *Entomol Exp Appl* 91:327–336. <https://doi.org/10.1046/j.1570-7458.1999.00499.x>
- Cônsoli FL, Parra JRP, Zucchi RA (eds) (2010) Egg parasitoids in Agroecosystems with emphasis on *Trichogramma*. *Progress in Biological Control*. Springer

- Cossentine JE, Lemieux J, Zhang Y (1996) Comparative host suitability of viable and nonviable codling moth (Lepidoptera: Tortricidae) eggs for parasitism by *Trichogramma platneri* (Hymenoptera: Trichogrammatidae). *Environ Entomol* 25:1052–1057
- Costa MA, Farias ES, Passos LC, Carvalho VC, Carvalho GA (2022) Side effects of insecticides applied to cotton on adult *Trichogramma pretiosum* by three exposure routes. *Pest Manag Sci* 78:1895–1902. <https://doi.org/10.1002/ps.6807>
- Croplife. (2021) Cresce a adoção de produtos biológicos pelos agricultores brasileiros. <https://croplifebrasil.org/noticias/cresce-a-adocao-de-produtos-biologicos-pelos-agricultores-brasileiros/>. Accessed 26 Sep 2022
- De Conti BF (2012) Exigências térmicas e monitoramento de *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794) (Lepidoptera: Crambidae), como suporte ao seu controle biológico. (Tese de Doutorado) Universidade de São Paulo/Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”
- De Paiva ACR, Iost Filho FH, Parro EA, Barbosa DPL, Yamamoto PT (2020) Do Ready-Mix Insecticides Cause Lethal and Sublethal Effects on *Trichogramma pretiosum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) Pupa? *J Econ Entomol* 113:1227–1233. <https://doi.org/10.1093/jee/toaa031>
- Delpuech JM, Meyet J (2003) Reduction in the sex ratio of the progeny of a parasitoid wasp (*Trichogramma brassicae*) surviving the insecticide chlorpyrifos. *Arch Environ Contam Toxicol* 45:203–208. <https://doi.org/10.1007/s00244-002-0146-2>
- Diniz AJF, Garcia AG, Alves GR, Reigada C, Vieira JM & Parra JRP (2020) The enemy is outside: releasing the parasitoid *Tamarixia radiata* (Hymenoptera: Eulophidae) in external sources of HLB inocula to control the asian citrus psyllid. *Neotrop Entomol* 49:250–257. <https://doi.org/10.1007/s13744-019-00736-y>
- Dury GJ & Wade MJ (2020) When mother knows best: A population genetic model of transgenerational versus intragenerational plasticity. *J Evol Biol* 33:127–137. <https://doi.org/10.1111/jeb.13545>
- Fatouros NE & Huigens ME (2012) Phoresy in the field: Natural occurrence of *Trichogramma* egg parasitoids on butterflies and moths. *BioControl* 57:493–502. <https://doi.org/10.1007/s10526-011-9427-x>
- Figueiredo MLC, Cruz I, da Silva RB, Foster JE (2015) Biological control with *Trichogramma pretiosum* increases organic maize productivity by 19.4%. *Agron Sustain Dev* 35:1175–1183. <https://doi.org/10.1007/s13593-015-0312-3>

- Flanders SE (1927) Particularities of diverse egg deposition phenomena characterizing carnivoroid Hymenoptera (with morphological and physiological correlations). *Can Entomol* 105:1175–1187. <https://doi.org/DOI: 10.4039/Ent1051175-9>
- Fonseca JP, (1934) Combate à lagarta das laranjas, *Gymnandrosoma aurantianum* Costa Lima. *Chácaras e Quintais* 50:215–216
- Fournier F & Boivin G (2000) Comparative dispersal of *Trichogramma evanescens* and *Trichogramma pretiosum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) in relation to environmental conditions. *Environ Entomol* 29:55–63. <https://doi.org/10.1603/0046-225X-29.1.55>
- Fundecitrus (2023a) Inventário de árvores e estimativa da safra de laranja do cinturão citrícola de São Paulo e Triângulo/Sudoeste Mineiro. [https://www.fundecitrus.com.br/pdf/pes\\_relatorios/Apresentação\\_Estimativa\\_Safra\\_Laranja\\_2022-23.pdf](https://www.fundecitrus.com.br/pdf/pes_relatorios/Apresentação_Estimativa_Safra_Laranja_2022-23.pdf). Acesso dia 15 de janeiro de 2023.
- Fundecitrus (2023b) Protecitrus. <https://www.fundecitrus.com.br/protecitrus>. Acesso dia 15 de janeiro de 2023.
- Gallo D, Nakano O, Silveira Neto S, Carvalho RPL, Baptista GC, Berti Filho E, Parra JRP, Zucchi RA, Alves SB, Vendramim JD, Marchini LC, Lopes JRS, Omoto C (2002) *Entomologia Agrícola*. Fealq, Piracicaba, SP
- Garcia MS & Parra JRP (1999) Comparação de dietas artificiais, com fontes protéicas variáveis, para criação de *Ecdytoplopha aurantiana* (Lima) (Lepidoptera: Tortricidae). *Anais da Sociedade Entomológica do Brasil* 28:219–232
- Garcia MS (1998) Bioecologia e potencial de controle biológico de *Ecdytoplopha aurantianum* (LIMA, 1927) (Lepidoptera: Tortricidae), o Bicho-furão-dos-citros, através de *Trichogramma pretiosum* Rley, 1879. Tese (Doutorado em Entomologia), ESALQ/USP
- Garcia MS, Parra, JRP, Rossi AR, Kasten Júnior P (1998) Bioecologia do bicho-furão e perspectivas de controle. *Laranja* 19:249–260
- Gauthier P, Khelifi M, Dionne A, Todorova S (2019) Technical feasibility of spraying trichogramma ostrinae pupae to control the european corn borer in sweet corn crops. *Appl Eng Agric* 35:185–192. <https://doi.org/10.13031/aea.12833>
- Geremias LD (2008) Seleção de linhagens e efeito da temperatura e do alimento no desempenho de *Trichogramma galloi* Zucchi, 1988 (Hymenoptera: Trichogrammatidae) para o controle de *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 17 94) (Lepidoptera: Crambidae) em milho. Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz

- Gómez-Torres ML (2005) Controle biológico de *Ecdytolopha aurantiana* (Lima, 1927) (Lepidoptera:Tortricidae) com *Trichogramma atopovirilia* Oatman & Platner , 1983. Dissertação (Mestrado em Entomologia), ESALQ/USP
- Greene GL, Leppla NC, Dicherson WA (1976) Velvet bean caterpillar: a rearing procedure and artificial medium. J Econ Entomol 69:487–488
- Guarnieri A, Maini S, Molari G, Rondelli V (2011) Automatic trap for moth detection in integrated pest management. Bull Insectology 64:247–251
- Haddad ML, Parra JRP, Moraes RC (1999) Métodos para estimar os limites térmicos inferior e superior de desenvolvimento de insetos. Piracicaba, SP
- Hassan SA (1989) Selection of suitable *Trichogramma* strains to control the codling moth *Cydia pomonella* and the two summer fruit tortrix moths *Adoxophyes orana*, *Pandemis heparana* [Lep.: Tortricidae]. Entomophaga 34:19–27. <https://doi.org/10.1007/BF02372583>
- Hassan SA (1994) Strategies to select *Trichogramma* species for use in biological control. In: Wajnberg E & Hassan SA (ed) Biological control with egg parasitoids. CAB International, Wallingford, pp 55–68
- Hassan SA (1997) Métodos padronizados para testes de seletividade com ênfase em *Trichogramma*. In: Parra J.R.P.; Zucchi RA (ed) *Trichogramma* e o controle biológico aplicado. Fealq, Piracicaba, SP, pp 207–233
- Hassan SA, Bigler F, Bogenschütz H, Boller E, Brun J, Calis JNM, Coremans-Pelseneer J, Duso C, Grove A, Heimbach U, Helyer N, Hokkanen H, Lewis GB, Mansour F, Moreth L, Polgar L, Samsøe-Petersen L, Sauphanor B, Stäubli A, Sterk G, Vainio A, van de Veire M, Viggiani G, Vogt H (1994) Results of the sixth joint pesticide testing programme of the IOBC/WPRS-working group «pesticides and beneficial organisms». Entomophaga 39:107–119. <https://doi.org/10.1007/BF02373500>
- Hassan SA, Kohler E, Rost WM (1988) Mass production and utilization of *Trichogramma*: 10. Control of the codling moth *Cydia pomonella* and the summer fruit tortrix moth *Adoxo phytesorana* (Lep.: Totricidae). Entomophaga 33:143–420
- Hassan SA, Stein E, Dannemann K, Reichel W (1986) Mass-production and utilization of *Trichogramma*: 8. Optimizing the use to control the European corn borer *Ostrinia nubilalis* Hbn. Journal of Applied Entomology 101:508–515
- HF Brasil <https://www.hfbrasil.org.br/br/estatistica/citros.aspx>. Acesso 22 de setembro de 2020

- Hopper KR, Roush RT, Powell W (1993) Management of genetics of biological control introductions. *Annu Rev Entomol* 38:27–51
- Hugo V, Soares MA, Andrés F, Dimate R, Gibran V, Sá M, de Zanuncio JC, Valicente FH (2019) *Helicoverpa armigera*. 102
- Iost Filho FH, Paiva ACR, Yamamoto PT (2017) Flupyradifurone is selective to the egg's parasitoid *Trichogramma pretiosum*. In: ESA 2017 Annual Meeting. Denver, Colorado
- Iost Filho FH, Heldens WB, Kong Z, De Lange ES (2020) Drones: Innovative technology for use in precision pest management. *J Econ Entomol* 113:1–25. <https://doi.org/10.1093/jee/toz268>
- Ivan EAF (2012) Uso de *Cotesia flavipes* (Cam.) (Hymenoptera: Braconidae) no controle de *Diatraea saccharalis* (E) (Lepidoptera: Crambidae) em cana-de-açúcar. (Trabalho de conclusão de curso) Centro Universitário Moura Lacerda.
- Ivan IAF, Carneiro RP, Silva KRE, Araujo Jr, LP, Santos AJPS & Pinto AS (2017) Quantidade liberada de adultos de *Trichogramma pretiosum* para o controle de ovos de *Spodoptera frugiperda* em milho. In: Congresso Brasileiro de Fitossanidade, 4, Anais. Unesp FCAV, Uberlândia:
- Juache-Villagrana AE, Pando-Robles V, Garcia-Luna SM, Ponce-Garcia G, Fernandez-Salas I, Lopez-Monroy B, Rodriguez-Sanchez IP, Flores AE (2022) Assessing the Impact of Insecticide Resistance on Vector Competence: A Review. *Insects* 13:1–13. <https://doi.org/10.3390/insects13040377>
- Khan MA (2020) Lethal and parasitism effects of selected novel pesticides on adult *Trichogramma chilonis* (Hymenoptera: Trichogrammatidae). *Journal of Plant Diseases and Protection* 127:81–90. <https://doi.org/10.1007/s41348-019-00280-2>
- Lopes JRS (1988) Estudos bioetológicos de *Trichogramma galloi* Zucchi, 1988 (Hym., Trichogrammatidae) para o controle de *Diatraea saccharalis* (Fabr., 1794) (Lep., Pyralidae). (Tese de Doutorado) Universidade de São Paulo / Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”.
- Malan AP, Diest JIV, Moore SD, Addison P (2018) Control Options for False Codling Moth, *Thaumatotibia leucotreta* (Lepidoptera: Tortricidae), in South Africa, with Emphasis on the Potential Use of Entomopathogenic Nematodes and Fungi. *African Entomology* 26:14–29. <https://doi.org/10.4001/003.026.0014>



- Martel V, Johns RC, Jochems-Tanguay L, Jean F, Maltais A, Trudeau S, St-Onge M, Cormier D, Smith SM, Boisclair J (2021) The Use of UAS to Release the Egg Parasitoid *Trichogramma* spp. (Hymenoptera: Trichogrammatidae) against an Agricultural and a Forest Pest in Canada. *J Econ Entomol* 114:1867–1881. <https://doi.org/10.1093/jee/toaa325>
- Matioli TF, Zanardi OZ, Yamamoto PT (2019) Impacts of seven insecticides on *Cotesia flavipes* (Cameron) (Hymenoptera: Braconidae). *Ecotoxicology* 28:1210–1219. <https://doi.org/10.1007/s10646-019-02129-8>
- Mendoza PSS (2007) Avaliação da dispersão do parasitoide *Telenomus remus* nixon (Hymenoptera: Platygasteridae) e armazenamento do hospedeiro para o controle de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) em milho. (Dissertação de Mestrado) Universidade Estadual Paulista - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias Campus Jaboticabal
- Milano P, Berti Filho E, Parra JRP, Carvalho SS (2008) Aspectos biológicos e parasitismo de *Hymenochaonia delicata* Cresson (Hymenoptera: Braconidae) sobre *Gymnandrosoma aurantianum* Lima (Lepidoptera: Tortricidae) em laboratório. *Revista de Agricultura* 83:19–27
- Molina RMS (2003) Bioecologia de duas espécies de *Trichogramma* para o controle de *Ecdytolopha aurantiana* (Lima, 1927) (Lepidoptera: Tortricidae) em citros. Dissertação (Mestrado em Entomologia), ESALQ/USP
- Molina RMS, Fronza V, Parra JRP (2005) Seleção de *Trichogramma* spp., para o controle de *Ecdytolopha aurantiana*, com base na biologia e exigências térmicas. *Rev Bras Entomol* 49:152–158
- Monteiro LB, Doll A & Boeing LF (2008) Densidade de *Neoseiulus californicus* (McGregor, 1954) (Acari: Phytoseiidae) no controle do ácaro-vermelho da macieira, Fraiburgo-SC. *Rev Bras Frutic* 30:902–906
- Moraes, G. W. G.; Brun, P. G.; Soares LA (1983) Insetos x insetos nova alternativa para o controle de pragas. *Ciência Hoje* 1:70–77
- Nakano O & Soares MG (1995) Bicho-furão: Biologia, hábitos e controle. *Laranja* 16:209–221
- Nation JL (2022) *Insect Physiology and Biochemistry*, 4th edn. CRC Press, Boca Raton
- Nava DE, Sturza VS, Martins CR (2020) First Report of *Gymnandrosoma aurantianum* (Lepidoptera: Tortricidae) in Pecan in Brazil. *Florida Entomologist* 103:130–131. <https://doi.org/10.1653/024.103.0422>

- Newton PJ & Odendaal WJ (1990) Commercial inundative releases of *Trichogrammatoidea cryptophlebiae* (Hyme.: Trichogrammatidae) against *Cryptophebia leucotreta* (Lep.: Tortricidae) in Citrus. *Entomophaga* 35:545–556
- Nidagundi KS & Mallapur CP (2021) Contact Toxicity of Insecticides and Biopesticides to *Trichogramma chilonis* Ishii (Hymenoptera: Trichogrammatidae) under laboratory condition. *Res Sq* 1–16. <https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-1091845/v1>
- Notícias Agrícolas (2021) Produção de suco de laranja nos EUA cai ao menor nível em 50 anos. [https://www.noticiasagricolas.com.br/noticias/laranja-citrus/299896-producao-de-suco-de-laranja-nos-eua-cai-ao-menor-nivel-em-50-anos.html#.YpUNsi\\_5SCc](https://www.noticiasagricolas.com.br/noticias/laranja-citrus/299896-producao-de-suco-de-laranja-nos-eua-cai-ao-menor-nivel-em-50-anos.html#.YpUNsi_5SCc).
- Oatman ER & Platner GR (1985) Biological control of two avocado pests. *Calif Agric* (Berkeley) 39:21–23
- Pak GA (1984) Inundative release of *Trichogramma* for the control of cruciferous Lepidoptera: Preintroductory selection of an effective parasitoid. In: Diamondblack moth and other crucifer pests international workshop, 2: 1991. Shanhua: AVRDC, Shanhua, pp 297–308
- Parra JRP, Alves GR, Diniz AJF & Vieira JM (2016) *Tamarixia radiata* (Hymenoptera: Eulophidae) × *Diaphorina citri* (Hemiptera: Liviidae): Mass rearing and potential use of the parasitoid in Brazil. *J Integr Pest Manag.* <https://doi.org/10.1093/jipm/pmw003>
- Parra JRP, Bento JMS, Garcia MS, Yamamoto PT, Vilela EF & Leal WS (2004a) Development of a control alternative for the citrus fruit borer, *Ecdytolopha aurantiana* (Lepidoptera, Tortricidae): from basic research to the grower. 48, 561–567. *Rev Bras Entomol* 48:561–567. <https://doi.org/10.1590/S0085-56262004000400020>
- Parra JRP, Bento JMS, Chagas MCM & Yamamoto PT (2004b) O controle biológico da larva-minadora-dos-citros. *Visão Agríc* 2:64–67
- Parra JRP & Coelho Jr A (2021) *Trichogramma* spp. um caso de sucesso de controle biológico aplicado no Brasil. In: Parra JRP, Pinto AS, Nava DE, Oliveira RC, Diniz AJF (eds) *Controle Biológico com Parasitoides e Predadores na Agricultura Brasileira*. Fealq, Piracicaba, pp 206–234
- Parra JRP, Zucchi RA, Coelho Jr A, Geremias LD, Cònsoli FL (2015) *Trichogramma* as a tool for IPM in Brazil. In: Vinson BM, Greenberg S, Liu T, Rao A, Volosciuk LF (ed) *Augmentative Biological Control Using Trichogramma spp.: Current Status and Perspectives*. Shaanxi: Northwest A&F University Press, pp 472–496

- Parra JRP (2021) Elaboração de programas de controle biológico: uma visão inter e multidisciplinar. In: Parra JRP, Pinto AS, Nava DE, Oliveira RC, Diniz AJF (eds) Controle Biológico com Parasitoides e Predadores na Agricultura Brasileira. Fealq, Piracicaba, SP, pp 39–54
- Parra JRP (2015) Técnicas de criação de insetos para programas de controle biológico. Fealq/Esalq/USP/Departamento de Entomologia, Piracicaba, São Paulo
- Parra JRP (1997) Rearing techniques of *Anagasta kuehniella*, factitious host of *Trichogramma* production. Fealq, Piracicaba, SP
- Parra JRP & Coelho A (2022) Insect Rearing Techniques for Biological Control Programs, a Component of Sustainable Agriculture in Brazil. *Insects* 13. <https://doi.org/10.3390/insects13010105>
- Parra JRP, Garcia AG, Diniz AJF, Bento JMS (2022) Sustainability in Brazilian Citriculture: Three Decades of Successful Biological Control of Insect Pests. *Frontiers in Agronomy* 4:1–10. <https://doi.org/10.3389/fagro.2022.874188>
- Parra JRP, Zucchi RA (1997) *Trichogramma* e o controle biologico aplicado. Fealq/Fapesp
- Parra JRP & Zucchi RA (2004) *Trichogramma* in Brazil: feasibility of use after twenty years of research. *Neotrop Entomol* 33:271–281. <https://doi.org/10.1590/s1519-566x2004000300001>
- Parra JRP, Zucchi RA, Silveira Neto S, Haddad ML (1991) Biology and thermal requirements of *Trichogramma galloi* Zucchi and *T. distinctum* Zucchi, on two alternatives hosts. Paris: INRA
- Perez-Alvarez R, Nault BA, Poveda K (2019) Effectiveness of augmentative biological control depends on landscape context. *Sci Rep* 9:1–15. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-45041-1>
- Pinto AS & Parra JRP (2021) Tecnologia de liberação de parasitoides e predadores. In: Parra JRP, Pinto AS, Nava DE, Oliveira RC, Diniz AJF (eds) Controle Biológico com Parasitoides e Predadores na Agricultura Brasileira. Fealq, Piracicaba, pp 427–477
- Pinto AS (1999) Comparação de técnicas de liberação e atuação de *Trichogramma galloi* Zucchi, 1988 em infestações artificiais de *Diatraea saccharalis* (Fabr., 1794) prejudiciais à cana-de-açúcar. (Tese de Doutorado) Universidade de São Paulo/Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”
- Pinto AS & Parra JRP (2002) Liberação de inimigos naturais. In: Parra JRP, Botelho PSM, Correa-Ferreira BS, Bento JMS (ed) Controle Biológico No Brasil: Parasitoides e Predadores. Manole, São Paulo, pp 325–342

- Pinto AS, Rodrigues LR, Oliva MB (2019) Uso de armadilhas de feromônio para a broca-da-cana, *Diatraea* spp., em canaviais, 2nd edn. Occasio, Piracicaba, SP
- Pinto AS & Trujillo SEL (2019) Natural enemies of insect pest in neotropical agroecosystems: biological control of functional biodiversity. In: Souza, B.; Vasquez, L.L.; Marucci RC (ed) Sugarcane. Swisland: Springer, pp 413–425
- Pinto JH & Stouthamer R (1994) Systematics of the *Trichogrammatidae* with emphasis on *Trichogramma*. In: Wajnberg E & Hassan SA (ed) Biological control with egg parasitoids. pp 1–36
- Pinto LFG, Rodrigues A, Macedo D & Girardi EA (2013) Contributions of socio-environmental certification to the sustainability of the citrus industry in Brazil. Citrus Res Technol 34:9–16. <https://doi.org/10.5935/2236-3122.20130002>
- Prates HS & Pinto WBS (1988) Ocorrência da mariposa das laranjas (*Gymnandrosoma aurantianum* Lima, 1927) na citricultura paulista. Laranja 9:117–124
- Prates HS & Pinto WBS (1991) “Bicho-furão” um grave problema para a citricultura paulista. Laranja 12:425–434
- Pratissoli D, Milanez AM, Celestino FN, Barbosa WF (2011) *Trichogramma atopovirilia* Oatman & Platner (Hymenoptera: Trichogrammatidae) em condições de laboratório. Rev Ceres 58:661–664
- Pratissoli D, Vianna UR, Zago HB, Pastori PL (2005) Capacidade de dispersão de *Trichogramma* em tomaterio estaqueado. Pesqui Agropecu Bras 40:613–616
- Preti M, Verheggen F, Angeli S (2021) Insect pest monitoring with camera-equipped traps: strengths and limitations. J Pest Sci (2004) 94:203–217. <https://doi.org/10.1007/s10340-020-01309-4>
- Raga A, Prestes DAO, Souza Filho MF, Sato ME, Siloto RC, Guimarães JA (2004) Fruit fly (Diptera: Tephritoidea) infestation in citrus in the state of São Paulo, Brazil. Crop Prot 33:85–89. <https://doi.org/10.1590/S1519-566X2004000100015>
- Rakes M, Pasini RA, Moraes MC, Araújo MB, de Bastos Pazini J, Seidel EJ, Bernardi D, Grützmacher AD (2021) Pesticide selectivity to the parasitoid *Trichogramma pretiosum*: A pattern 10-year database and its implications for Integrated Pest Management. Ecotoxicol Environ Saf 208:111504. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2020.111504>

- Ramírez-Cerón D, Rodríguez-Leyva E, Lomeli-Flores JR, Soto-Rojas L, Ramírez-Alarcón S, Segura-Miranda A (2022) Toxicity and Residual Activity of Insecticides against *Diadegma insulare*, a Parasitoid of the Diamondback Moth. *Insects* 13:1–11. <https://doi.org/10.3390/insects13060514>
- R Development Core Team (2022). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria
- Rôdas, P.L.; Oliveira, H.N.; Glaeser DF (2019) Liberação do parasitoide *Cotesia flavipes* (Hymenoptera: Braconidae) em *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera:Crambidae) na cana-de-açúcar. *Interciência* 44:287–290
- Silva MR (2021) Inseticidas em pomares cítricos e sua seletividade sobre o parasitoide *Trichogramma atopovirilia* (Hymenoptera: Trichogrammatidae). Dissertação (Mestrado em Entomologia), ESALQ/USP.
- Silveira Neto S, Nakano O, Barbin D, Nova NAV (1976) Manual de ecologia dos insetos. Ceres, Piracicaba, SP
- Smith SM, Hubbes M, Carrow JR (1986) Factors affecting inundative releases of *Trichogramma minutum* Ril. against the spruce budworm. *Journal of Applied Entomology* 101:29–39
- Smith SM (1996) Biological control with *Trichogramma*: Advances, successes, and potential of their use. *Annu Rev Entomol* 41:375–406. <https://doi.org/10.1146/annurev.en.41.010196.002111>
- Smith SM (1994) Methods and timing of releases of *Trichogramma* to control of lepidopterous pests. In: Wajnberg E & Hassan SA (ed) *Biological control with egg parasitoids*. CAB, Wallingford, UK., pp 113–144
- Soares MA, Leão G, Leite D, Zanuncio JC, Mendes De Sá VG, Soares Ferreira C, Rocha SL, Pires M, Serrão JE (2012) Quality Control of *Trichogramma atopovirilia* and *Trichogramma pretiosum* (Hym.: Trichogrammatidae) Adults Reared Under Laboratory Conditions. *Arch Biol Technol* v 55:305–311
- Stein CP & Parra JRP (1987) Aspectos biológicos de *Anagasta kuehniella* (Zeller, 1879) criada em 2 substratos alimentares. *Anais da Sociedade Entomológica do Brasil* 16:173–185

- Tabebordbar F, Shishehbor P, Ziaee M, Sohrabi F (2020) Lethal and sublethal effects of two new insecticides spirotetramat and flupyradifurone in comparison to conventional insecticide deltamethrin on *Trichogramma evanescens* (Hymenoptera: Trichogrammatidae). J Asia Pac Entomol 23:1114–1119. <https://doi.org/10.1016/j.aspen.2020.09.008>
- Takahashi TA (2016) Seletividade de inseticidas a *Trichogramma atopovirilia* e *Trichogramma pretiosum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) em ovos de dois hospedeiros naturais. Dissertação de mestrado, Universidade Federal do Paraná
- Tayeh A, Estoup A, Laugier G, Loiseau A, Turgeon J, Toepfer S, Facon B (2012) Evolution in biocontrol strains: insight from the harlequin ladybird *Harmonia axyridis*. Evol Appl 5:481–488
- Tepa-Yotto GT, Meagher RL, Winsou JK, Dahoueto BTA, Tamò M, Sæthre MG, Nagoshi RN (2022) Monitoring *Spodoptera frugiperda* in Benin: Assessing the influence of trap type, pheromone blends, and habitat on pheromone trapping. Florida Entomologist 105:71–78. <https://doi.org/10.1653/024.105.0111>
- van Emden, H.F., Sponagl, B., Wagner, E., Baker, T., Ganguly, S., Douloumpaka S (1996) Hopkins' 'host selection principle', another nail in its coffin. Phvsiological Entomology 21:325–328
- van Lenteren JC (2011) Success in Biological Control of Arthropods by Augmentation of Natural Enemies. In: Geoff Gurr SW (ed) Biological Control: Measures of Success, 1st edn. Springer Dordrecht, pp 77–103
- van Lenteren JC (2012) The state of commercial augmentative biological control: plenty of natural enemies, but a frustrating lack of uptake. BioControl 57:1–20. <https://doi.org/10.1007/s10526-011-9395-1>
- Vinson SB (1997) Comportamento de seleção hospedeira de parasitoides de ovos, com ênfase na família Trichogrammatidae. In: Parra JRP; Zucchi RA (ed) *Trichogramma* e o controle biológico aplicado. Fealq, Piracicaba, pp 67–119
- Vinson SB, Greenberg SM, Liu T-X, Rao A, Voloscluk LF (2015) Biological Control of Pests Using *Trichogramma*: Current Status and Perspectives
- Visser ME, Jones TH, Driessen G (1999) Interference among Insect Parasitoids: A Multi-Patch Experiment. J Anim Eco 68(1), 108-120
- Wajnberg E (1994) Intra-population genetic varioation in *Trichogramma*. In: Wajnberg E & Hassan SA (eds) Biological Control with Egg Parasitoids. IOBC

- Williams L, Price LD (2004) A space-efficient contact toxicity bioassay for minute Hymenoptera, used to test the effects of novel and conventional insecticides on the egg parasitoids *Anaphes iole* and *Trichogramma pretiosum*. *BioControl* 49:163–185. <https://doi.org/10.1023/B:BICO.0000017287.50875.de>
- Zachrisson, B.; Parra JRP (1988) Capacidade de dispersão de *Trichogramma pretiosum* Riley, 1879 para o controle de *Anticarsia gemmatilis* Hübner, 1818 em soja. *Sci Agric* 55:133–137
- Zucchi RA, Nakano O, Silveira Neto S (1993) Guia de identificacao de pragas agrícolas. Piracicaba: Fealq. Acesso 24/março/2023.