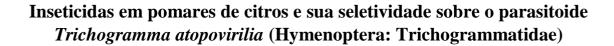
Universidade de São Paulo Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz"



Mariana Rosa da Silva

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

Piracicaba 2021

Mariana Rosa da Silva Engenheira Agrônoma

Inseticidas em pomares de citros e sua seletividade sobre o parasitoide *Trichogramma atopovirilia* (Hymenoptera: Trichogrammatidae)

versão revisada de acordo com a resolução CoPGr 6018 de 2011

Orientador:

Prof. Dr. PEDRO TAKAO YAMAMOTO

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

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

Silva, Mariana Rosa da

Inseticidas em pomares de citros e sua seletividade sobre o parasitoide *Trichogramma atopovirilia* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) / Mariana Rosa da Silva. - - versão revisada de acordo com a resolução CoPGr 6018 de 2011. - - Piracicaba, 2021.

63 p.

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

1. Bicho-furão-dos-citros 2. *Gymnandrosoma aurantianum* 3. Controle químico 4. Insetos benéficos 5. Toxicidade I. Título

AGRADECIMENTOS

À Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" (ESALQ/USP) e ao Departamento de Entomologia e Acarologia pelo suporte e estrutura para realização dos experimentos.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) pelo apoio na realização do presente estudo - Código de Financiamento 001.

Ao professor Pedro Takao Yamamoto, pela orientação e confiança depositada, que assim contribuiu com meu aprendizado e crescimento profissional.

A todos os funcionários do Departamento de Entomologia e Acarologia, e em especial, aos professores do Programa de Pós-Graduação em Entomologia pelo conhecimento repassado.

Ao Laboratório de Biologia de Insetos por fornecer os ovos para a condução dos experimentos.

Aos colegas do Laboratório de Manejo Integrado de Pragas pela receptividade, convívio e auxílio ao longo do curso de mestrado.

À Emile e à Gabryele pela ajuda com a avaliação das cartelas e sugestões que promoveram a melhoria da pesquisa.

Ao Juliano Pazini pelo grande auxílio com as análises estatísticas.

À Thais Matioli, pois graças a paciência dela, que me ensinou a utilizar os equipamentos, montar os experimentos, até as correções feitas e sugestões de melhorias que resultaram na versão final deste trabalho, possibilitou a condução da pesquisa sem grandes dificuldades. Além disso, fora do laboratório estabelecemos uma sólida amizade de fé. Sempre agradecerei a Deus pela sua vida e por Ele ter cruzado nossos caminhos, foi uma irmã que ganhei com este mestrado.

Ao Diogo Wappler, que me acompanhou e se fez presente por meio de videochamadas e de forma física sempre que possível, e foram muitas vezes! Obrigada pela dedicação em estreitar nossos laços em meio a distância.

Às minhas companheiras de casa, Brenda Pinheiro, Diana Peña e Yajahaira Nevenka, que desde o dia em que passamos a morar juntas formamos uma família unida.

Aos meus amigos de Tubarão – SC, que acompanharam este período e torceram desde o início e a todo momento, em especial, Alex Longo, Beatriz Borges, e Patrícia Menegaz de Farias.

À minha família, meus irmãos e meus pais, pelo suporte e conselhos que me ajudaram quando senti as dificuldades de estar distante de casa.

SUMÁRIO

RESUMO	7
ABSTRACT	8
1. INTRODUÇÃO	9
Referências	12
2. EXPOSIÇÃO DE Trichogramma atopovirilia A INSETICIDAS: PUPAS INVIÁ	VEIS E
PARASITISMO IMPEDIDO	17
Resumo	17
Abstract	17
2.1 Introdução	18
2.2 Material e métodos	20
2.2.1 Criação e manutenção de <i>Trichogramma atopovirilia</i>	20
2.2.2 Inseticidas utilizados	20
2.2.3 Capacidade de parasitismo de Trichogramma atopovirilia em ovos tratad	os com
inseticidas	21
2.2.4 Avaliação dos efeitos de inseticidas sobre pupas de <i>Trichogramma atopovirilia</i>	22
2.2.5 Classificação toxicológica dos inseticidas	23
2.2.6 Análises estatísticas	23
2.3 Resultados	24
2.3.1 Capacidade de parasitismo de Trichogramma atopovirilia em ovos com resí	duos de
inseticidas	24
2.3.2 Viabilidade de pupas após exposição a inseticidas	29
2.4 Discussão	
2.5 Conclusões	34
Referências	34
3. EFEITO LETAL E PERSISTÊNCIA DE INSETICIDAS SOBRE FOLHAS DE O	CITROS
E CONSEQUÊNCIAS PARA Trichogramma atopovirilia	41
Resumo	41
Abstract	41
3.1 Introdução	42
3.2 Material e métodos	43
3.2.1 Criação de <i>Trichogramma atopovirilia</i> e inseticidas testados	43

3.2.2 Efeito letal e subletais em <i>Trichogramma atopovirilia</i> após exposição a t	folhas de citros
tratadas com inseticidas	44
3.2.3 Teste de persistência	45
3.2.4 Classificação toxicológica dos inseticidas	46
3.2.5 Análises estatísticas	47
3.3 Resultados	47
3.3.1 Efeito letal	47
3.3.2 Persistência	49
3.4 Discussão	52
3.5 Conclusões	55
Referências	55
4. CONSIDERAÇÕES FINAIS	63

RESUMO

Inseticidas em pomares de citros e sua seletividade sobre o parasitoide *Trichogramma atopovirilia* (Hymenoptera: Trichogrammatidae)

As microvespas do gênero Trichogramma são parasitoides amplamente utilizados em programas de manejo integrado de pragas (MIP), que integram diferentes táticas de controle de pragas, como os métodos químico e biológico. No entanto, é importante que estes parasitoides consigam se estabelecer no agroecossistema e para isso, os inseticidas utilizados no ambiente agrícola não devem impactar negativamente estes insetos para que sua capacidade benéfica não seja reduzida. Deste modo, objetivou-se com o presente trabalho avaliar a seletividade de inseticidas utilizados em pomares de citros sobre o parasitoide Trichogramma atopovirilia, assim como o efeito letal e a persistência dos produtos, determinando os efeitos ao longo do tempo. Os testes foram realizados com os inseticidas bifentrina, beta-ciflutrina, diflubenzuron, malationa e tebufenozida, que são registrados para controle de bicho-furão-citros em pomares citrícolas. No experimento a fim de verificar a capacidade de parasitismo sobre ovos com resíduos, fêmeas adultas foram expostas a ovos tratados com os produtos, enquanto nos testes com pupas, estes produtos foram pulverizados sobre ovos de Ephestia kuehniella parasitados por T. atopovirilia. No teste de efeito letal, folhas de citros foram mergulhadas em caldas inseticidas e posteriormente as fêmeas foram expostas por 24 horas. No experimento de persistência, os inseticidas foram pulverizados sobre mudas de citros e aos 5, 15 e 30 dias após aplicação foram coletadas folhas e expostas as fêmeas do parasitoide. Houve redução da capacidade de parasitismo nos tratamentos com bifentrina, beta-ciflutrina e malationa. A emergência de adultos a partir das pupas expostas aos inseticidas bifentrina e malationa foi impactada negativamente. Do mesmo modo, no experimento de efeito letal, bifentrina, beta-ciflutrina e malationa ocasionaram a maior mortalidade de fêmeas. Malationa foi classificado como levemente persistente, e os demais inseticidas como de vida curta. Diflubenzuron e tebufenozida foram inócuos aos parasitoides em todos os experimentos. Os resultados obtidos contribuirão com a escolha de produtos seletivos para uso em campo que não causem impactos adversos nos agentes de controle biológico.

Palavras-chave: Bicho-furão-dos-citros, *Gymnandrosoma aurantianum*, Controle químico, Insetos benéficos, Toxicidade

ABSTRACT

Insecticides in citrus orchards and their selectivity to the parasitoid *Trichogramma* atopovirilia (Hymenoptera: Trichogrammatidae)

The microwasps of the genus Trichogramma are parasitoids widely used in integrated pest management (IPM) programs, which integrates different pest control tactics, such as chemical and biological methods. However, it is important that these parasitoids can establish themselves in the agroecosystem and for this, the insecticides used in the agricultural environment cannot negatively impact these insects so that their beneficial capacity is not reduced. Thus, this study aimed to evaluate the selectivity of insecticides used in citrus orchards on the parasitoid Trichogramma atopovirilia, as well as the lethal effect and persistence of the products to determine the effects over time. The tests were conducted with the insecticides: bifenthrin, beta-cyfluthrin, diflubenzuron, malathion and tebufenozide, which are registered for citrus fruit borer control in citrus groves. In the pupae experiment, these pesticides were sprayed on eggs of Ephestia kuehniella parasitized by T. atopovirilia, and to verify the ability to parasitize on eggs with residues, adult females were exposed to eggs treated with the insecticides. In the lethal effect test, citrus leaves were dipped in insecticide solution and after that the females were exposed for 24 hours. In the persistence test, the insecticides were sprayed on citrus seedlings and at 5, 15, and 30 days after application leaves were collected and the exposure to females was made. There was a reduction in parasitism capacity in the treatments with bifenthrin, beta-cyfluthrin and malathion. Adult emergence from pupae after exposure to the insecticides bifenthrin and malathion was negatively impacted. Similarly, in the lethal effect experiment, bifenthrin, beta-cyfluthrin and malathion caused the highest mortality of females. Malathion was classified as slightly persistent, and the other insecticides as short-lived. Diflubenzuron and tebufenozide were harmless to the parasitoids in all experiments. The results obtained will contribute to the selection of selective products to use in the field that do not cause adverse impacts on biological control agents.

Keywords: Citrus fruit borer, *Gymnandrosoma aurantianum*, Chemical control, Beneficial insects, Toxicity

1. INTRODUÇÃO

O cinturão citrícola de São Paulo e Triângulo/Sudoeste Mineiro é a região de maior produção de laranja no Brasil, com 287,76 milhões de caixas de 40,8 kg produzidas na safra 2020/2021 (Fundecitrus, 2021). Neste mesmo ano, havia nos estados de SP e MG, 166,56 milhões de árvores em plena produção, em uma área de 346,123.671 ha e densidade média de 502 plantas/ha, número que sofreu muita mudança ao longo das décadas. Ao passo que, em 1980, o plantio de árvores era realizado com 250 plantas/ha, gradualmente este número foi aumentando e chegou, em algumas unidades de produção, à uma densidade de até 850 árvores/ha (Neves et al., 2010; Fundecitrus, 2021) e, com o aumento do número de plantas por hectare, problemas com pragas passaram a ser recorrentes.

A incidência de pragas, como o bicho-furão-dos-citros e mosca-das-frutas, foi responsável por perdas de aproximadamente 13 milhões de caixas de laranja neste ano (Fundecitrus, 2021). E, em função de dificuldades encontradas utilizando unicamente os métodos convencionais para manejo de insetos e outras pragas, os agricultores passaram a buscar alternativas para uso em seus sistemas de produção e encontraram no Manejo Integrado de Pragas (MIP), a possibilidade de utilizar outras práticas de manejo em seus cultivos (Torres & Bueno, 2018).

O MIP é um programa de manejo que integra o uso de múltiplas táticas para controle de pragas, onde as abordagens enfatizadas vão desde a análise das condições do agroecossistema, o monitoramento dos níveis populacionais de insetos, a até a utilização de controle cultural, biológico, comportamental, genético, varietal e quando necessário, o uso do controle químico (Lundin et al., 2021). Estes últimos, quando utilizados, devem ser somente aqueles registrados no Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA) para a cultura. Sendo assim, no momento em que é verificada a necessidade de controlar uma praga fazendo o uso de inseticidas, o ideal é que os produtos utilizados pelo produtor sejam seletivos aos organismos benéficos, a fim de que não impactem de maneira negativa os inimigos naturais presentes no ambiente (El-Wakeil et al., 2013).

Um dos insetos-praga de importância econômica para a citricultura, o bicho-furão-doscitros, *Gymnandrosoma aurantianum* Lima, 1927 (Lepidoptera: Tortricidae), é uma praga responsável por acarretar significativas perdas em pomares cítricos. Isto ocorre devido ao fato de, na fase jovem, os indivíduos alimentarem-se do conteúdo interno dos frutos, provocando podridão e queda dos mesmos (Parra et al., 2004; Carvalho et al., 2015; Zorzetti et al., 2017). O bicho-furão encontra-se amplamente distribuído na América do Sul e, no Brasil, já foi detectada sua presença nos estados de Minas Gerais, São Paulo e Santa Catarina (Leandro,

2012; Noboa & Medina, 2018). O hábito desta praga de permanecer dentro dos frutos, durante seu estádio de desenvolvimento larval, dificulta o seu manejo, uma vez que o contato com os inseticidas aplicados para controlar este inseto se torna inviável (Parra et al., 2004; Zorzetti et al., 2017).

Entre os inseticidas registrados para controle do bicho-furão, destacam-se os neurotóxicos pela alta taxa de adoção nos ambientes agrícolas. Inseticidas desse grupo químico atuam com eficiência no controle de pragas devido ao seu modo de ação, que se dá pela desregulação do sinal neural do inseto. Alguns desses produtos, como os piretroides, são conhecidos pelo efeito "knock-down" que ocasionam, os quais levam os insetos-praga a sofrer rapidamente um efeito de choque e paralisia, que comumente precede a morte, mas há casos de recuperação do inseto (Thompson et al., 2020; J. Zhang et al., 2019). Dentre os inseticidas neurotóxicos, também podem ser utilizados os inibidores da enzima acetilcolinesterase, que atuam no processo de transmissão do impulso nervoso e fazem com que este seja transmitido intermitentemente, causando a morte dos indivíduos que entram em contato com as moléculas químicas destes inseticidas (Blenau et al., 2012; Ramos et al., 2020).

Há também, entre os inseticidas recomendados para controle de bicho-furão, o grupo dos reguladores de crescimento de insetos (RCI). Os inibidores da biossintintese de quitina, que englobam as benzoiluréias, agem desregulando a síntese de quitina que é requerida para formação do exoesqueleto. Esta alteração provoca uma má formação do exoesqueleto da larva, que impede um processo perfeito de muda, e eventualmente o leva a morte (Abramson et al., 2004). Tal como as benzoiluréias, o grupo químico das diacilhidrazinas é também um RCI, no entanto, seu modo de ação acontece mimetizando o hormônio que promove a muda dos insetos, os chamados agonistas dos receptores de ecdisteróides. Quando ingeridos, estes compostos atuam junto aos processos pertinentes ao hormônio de muda, induzindo uma ecdise prematura e, devido à má formação da cutícula, o resultado é a morte do inseto-praga (Abramson et al., 2004; Campbell et al., 1991; Fahrbach et al., 2012; Wing, 1988)

A adoção de programas de manejo integrado de pragas (MIP), que buscam integrar as diferentes estratégias e táticas de controle, é a melhor maneira de manter a população de pragas abaixo do nível de dano econômico, podendo integrar os métodos químico e biológico (Oliveira et al., 2013; Feltrin-Campos et al., 2018; Torres & Bueno, 2018). Diante disto, o conhecimento acerca dos potenciais efeitos negativos ocasionados aos inimigos naturais é um fator chave no desenvolvimento de programas de MIP, a fim de que sejam bem-sucedidos (El-Wakeil et al., 2013; El-Wakeil et al., 2006; El-Wakeil & Vidal, 2005; Smilanick et al., 1996; Volkmar & Schumacher, 2008).

Rotineiramente, nos agroecossistemas, os inimigos naturais atuam no controle de pragas, sendo responsáveis pela mortalidade natural. Os agentes de controle biológico tornam o manejo de pragas mais eficiente, é uma tática sustentável (Parra, 2014) e tem promovido um manejo de diversas pragas que têm importância econômica há mais de um século (Heimpel & Mills, 2017).

Entre os agentes utilizados para controle biológico, os parasitoides pertencentes ao gênero *Trichogramma* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) são largamente empregados. Com o uso destes organismos, realizam-se liberações massais para que atuem no controle de pragas em ambientes agrícolas, o chamado controle biológico aplicado (Smith, 1996; Zang et al., 2021). As espécies deste parasitoide de ovos são conhecidas pelo eficiente controle de diversos lepidópteros-praga, e assim são utilizados em escala mundial devido ao seu potencial como inimigos naturais (Jiang et al., 2019; Li, 1994; Nagarkatti & Nagaraja, 1971; Polaszek, 2009; Smith, 1996; Stinner, 1977).

Os parasitoides do gênero *Trichogramma* são considerados polífagos e, atualmente, são comercializadas pelo menos dez espécies para liberação em diversas culturas em todo o mundo (Knutson, 2005; Romeis et al., 2005; Zucchi et al., 2010). Entre as espécies, *Trichogramma atopovirilia* Oatman & Platner, 1983 (Hymenoptera: Trichogrammatidae) é uma das que possui ampla distribuição na América do Sul, sendo registrada em, pelo menos, sete hospedeiros diferentes, sendo a maioria lepidópteros de importância agrícola e econômica (Zucchi et al., 2010). *Trichogramma atopovirilia* destaca-se pelo potencial para uso em campo e, em especial, no controle de tortrícideos como o bicho-furão-dos-citros (Beserra & Parra, 2004; Molina & Fronza, 2005). No entanto, para que sua contribuição seja eficaz a ponto de manter o equilíbrio ecológico que se busca quando estas ferramentas são empregadas, é importante que consigam se estabelecer e se manter no agroecossistema (Fitt, 1989). Para isso, no momento em que se faz uso de estratégias integradas, usando o controle químico e biológico, uma importante etapa a ser realizada é a avaliação da seletividade do inseticida ao inimigo natural (Paiva et al., 2020).

A determinação da seletividade de um produto químico que é usualmente utilizada, foi estabelecida pela *International Organization for Biological Control/West Palearctic Regional Section* (IOBC/WPRS). A mesma sugere uma sequência de testes de exposição do inseto ao produto químico analisado, desde condições de laboratório, semi-campo e campo (Hassan, 1989; Rowland et al., 1991). Assim, garante-se que, quando utilizados em conjunto, os métodos de controle não comprometam a eficácia um do outro (Oliveira et al., 2013; Feltrin-Campos et al., 2018; Torres & Bueno, 2018)

Considerando a necessidade de avaliação da compatibilidade dos inseticidas utilizados em pomares de citros para controle de bicho-furão-dos-citros, ao parasitoide *T. atopovirilia*, uma vez que esta espécie realiza um importante papel no controle do inseto-praga, objetivouse com o presente trabalho avaliar a seletividade de inseticidas utilizados em pomares de citros sobre o parasitoide *T. atopovirilia* em laboratório. A pesquisa teve como principal foco avaliar os efeitos letal e subletais ocasionados em *T. atopovirilia* após exposição a inseticidas utilizados em pomares citrícolas para controle de bicho-furão-dos-citros.

Referências

Abramson, C. I., Squire, J., Sheridan, A., & Mulder, P. G. (2004). The Effect of Insecticides Considered Harmless to Honey Bees (*Apis mellifera*): Proboscis Conditioning Studies by Using the Insect Growth Regulators Tebufenozide and Diflubenzuron. *Environmental Entomology*, 33(2), 378–388. https://doi.org/10.1603/0046-225X-33.2.378

Beserra, E. B., & Parra, J. R. P. (2004). Biologia e parasitismo de *Trichogramma atopovirilia* Oatman & Platner e *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera, Trichogrammatidae) em ovos de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera, Noctuidae). *Revista Brasileira de Entomologia*. https://doi.org/10.1590/s0085-56262004000100020

Blenau, W., Rademacher, E., & Baumann, A. (2012). Plant essential oils and formamidines as insecticides/ acaricides: What are the molecular targets? In *Apidologie* (Vol. 43, Issue 3, pp. 334–347). Springer. https://doi.org/10.1007/s13592-011-0108-7

Campbell, C. D., Walgenbach, J. F., & Kennedy, G. G. (1991). Effect of Parasitoids on Lepidopterous Pests in Insecticide-Treated and Untreated Tomatoes in Western North Carolina. *Journal of Economic Entomology*, 84(6), 1662–1667. https://doi.org/10.1093/jee/84.6.1662

Carvalho J.H.S, Barbosa J.C., Yamamoto P.T., Bicalho. I. (2015). Distribuição espacial do bicho-furão *Gymnandrosoma aurantiana* (Lima, 1927) (Lepidoptera: Tortricidae), em citros utilizando geoestatística. *Rev. Bras. Frutic.*, *37*, 600–609. https://kopernio.com/viewer?doi=10.1590/0100-2945-114/14&route=6

de Oliveira, H. N., Antigo, M. de R., de Carvalho, G. A., Glaeser, D. F., & Pereira, F. F. (2013). Seletividade de inseticidas utilizados na cana-de-açúcar a adultos de *Trichogramma galloi* Zucchi (Hymenoptera: Trichogrammatidae). *Bioscience Journal*, 29(5), 1266–1273.

El-Wakeil, N. E., Gaafar, N. M., & Vidal, S. (2006). Side effect of some Neem products on natural enemies of *Helicoverpa* (*Trichogramma* spp.) and *Chrysoperla carnea*. *Archives of Phytopathology and Plant Protection*. https://doi.org/10.1080/03235400500356160

El-Wakeil, N., Gaafar, N., Sallam, A., & Volkmar, C. (2013). Side Effects of Insecticides on Natural Enemies and Possibility of Their Integration in Plant Protection Strategies. In *Insecticides - Development of Safer and More Effective Technologies*. https://doi.org/10.5772/54199

El-Wakeil N.E., Vidal S., 2005. Using of *Chrysoperla carnea* in combination with *Trichogramma Species* for controlling *Helicoverpa armigera*.

Fahrbach, S. E., Smagghe, G., & Velarde, R. A. (2012). Insect nuclear receptors. *Annual Review of Entomology*, *57*(1), 83–106. https://doi.org/10.1146/annurev-ento-120710-100607

Feltrin-Campos, E., Rigenberg, R., Carvalho, G. A., Glaeser, D. F., & Oliveira, H. N. de. (2018). Selectivity of Insecticides against adult *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae) on Cassava. *Journal of Agricultural Science*, 11(1), 546. https://doi.org/10.5539/jas.v11n1p546

Fitt, G. P. (1989). The ecology of *Heliothis* species in relation to agroecosystems. *Annual Review of Entomology*, 34(1), 17–53.

Fundecitrus, 2021. Estimativa da safra de laranja 2020/2021 do cinturão citrícola de São Paulo e Triângulo/Sudoeste Mineiro. Sumário Executivo. Retrieved April 3, 2021, from https://www.fundecitrus.com.br/pdf/pes_relatorios/2020_05_11_Sumario-Executivo-da-Estimativa-da-Safra-de-Laranja-2020-2021.pdf

Hassan, S. A. (1989). Testing methodology and the concept of the IOBC/ WPRS Working Group. *In P. C. Jepson (Ed.), Pesticides and Non_target Invertebrates. Intercept, Wimborne, Dorset.*, 1–18.

Heimpel, G. E., & Mills, N. J. (2017). Biological control. Cambridge University Press.

Jiang, J., Liu, X., Zhang, Z., Liu, F., & Mu, W. (2019). Lethal and sublethal impact of sulfoxaflor on three species of *Trichogramma* parasitoid wasps (Hymenoptera: Trichogrammatidae). *Biological Control*. https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2019.04.001

Knutson, A. (2005). The *Trichogramma* manual: a guide to the use of *Trichogramma* for biological control with special reference to augmentative releases for control of bollworm and budworm in cotton.

Leandro H.H.C. (2012). Identificación y estudio de la biológia de *Gymnandrosoma* aurantianum Costa Lima (Perforador del fruto de Sacha Inchi) (*Plukenetia volubilis* L.) en Tingo María. Universidad Nacional Agraria de La Selva. http://repositorio.unas.edu.pe/bitstream/handle/UNAS/146/AGR-591.pdf?sequence=1&isAllowed=y

Lundin, O., Rundlöf, M., Jonsson, M., Bommarco, R., & Williams, N. M. (2021). Integrated pest and pollinator management – expanding the concept. *Frontiers in Ecology and the Environment*, fee.2325. https://doi.org/10.1002/fee.2325

Molina RMS, Fronza V, P. J. (2005). Seleção de *Trichogramma* spp., para o controle de *Ecdytolopha aurantiana*, com base na biologia e exigências térmicas. *Revista Brasileira de Entomologia*, 49(1), 152–158. https://kopernio.com/viewer?doi=10.1590/S0085-56262005000100018&route=7

- Nagarkatti, S., & Nagaraja, H. (1971). Redescriptions of some known species of *Trichogramma* (Hym., Trichogrammatidae), showing the importance of the male genitalia as a diagnostic character. *Bulletin of Entomological Research*, 61(1), 13–31. https://doi.org/10.1017/S0007485300057412
- Neves, et al. (2010). O retrato da citricultura brasileira. *Markestrat*, 572–576. https://doi.org/10.5151/chemeng-cobec-ic-07-eb-142
- Noboa M, Medina L, V. W. (2018). First Report of *Gynmandrosoma aurantianum* (Lepidoptera: Tortricidae) in Mandarin (*Citrus reticulata*) in the Inter-Andean Valleys of Ecuador. *Florida Entomologist*, *101(4)*, 699–701. https://kopernio.com/viewer?doi=10.1653/024.101.0411&route=6
- Paiva, A. C. R., Iost Filho, F. H., Parro, E. A., Barbosa, D. P. L., & Yamamoto, P. T. (2020). Do Ready-Mix Insecticides Cause Lethal and Sublethal Effects on *Trichogramma pretiosum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) Pupa? *Journal of Economic Entomology*, *113*(3), 1227–1233. https://doi.org/10.1093/jee/toaa031.
- Parra, J. R. P., Bento, J. M. S., Garcia, M. S., Yamamoto, P. T., Vilela, E. F., & Leal, W. S. (2004). Development of a control alternative for the citrus fruit borer, *Ecdytolopha aurantiana* (Lepidoptera, Tortricidae): from basic research to the grower. *Revista Brasileira de Entomologia*, 48(4), 561–567. https://doi.org/10.1590/S0085-56262004000400020
- Parra, J. R. P. (2014). Biological control in Brazil: An overview. In *Scientia Agricola* (Vol. 71, Issue 5, pp. 420–429). Scientia Agricola. https://doi.org/10.1590/0103-9016-2014-0167
- Polaszek, A. (2009). Species Diversity and Host Associations of *Trichogramma* in Eurasia. In *Egg Parasitoids in Agroecosystems with Emphasis on Trichogramma*. https://doi.org/10.1007/978-1-4020-9110-0_9
- Ramos, R. S., Macêdo, W. J. C., Costa, J. S., da Silva, C. H. T. d. P., Rosa, J. M. C., da Cruz,
- J. N., de Oliveira, M. S., de Aguiar Andrade, E. H., e Silva, R. B. L., Souto, R. N. P., & Santos, C. B. R. (2020). Potential inhibitors of the enzyme acetylcholinesterase and juvenile hormone with insecticidal activity: study of the binding mode via docking and molecular dynamics simulations. *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*, 38(16), 4687–4709. https://doi.org/10.1080/07391102.2019.1688192
- Romeis, J., Babendreier, D., Wäckers, F. L., & Shanower, T. G. (2005). Habitat and plant specificity of *Trichogramma* egg parasitoids Underlying mechanisms and implications. *Basic and Applied Ecology*. https://doi.org/10.1016/j.baae.2004.10.004
- Rowland, M., Hackett, B., & Stribley, M. (1991). Evaluation of insecticides in field-control simulators and standard laboratory bioassays against resistant and susceptible *Bemisia tabaci* (Homoptera: Aleyrodidae) from Sudan. *Bulletin of Entomological Research*, 81(2), 189–199. https://doi.org/10.1017/S0007485300051270
- Smilanick, J. M., Zalom, F. G., & Ehler, L. E. (1996). Effect of Methamidophos Residue on the Pentatomid Egg Parasitoids *Trissolcus basalis* and *T. utahensis* (Hymenoptera: Scelionidae). *Biological Control*, 6(2), 193–201.

- Smith, S. M. (1996). Biological Control with *Trichogramma*: Advances, Successes, and Potential of Their Use. *Annual Review of Entomology*, *41*(1), 375–406. https://doi.org/10.1146/annurev.en.41.010196.002111
- Stinner, R. E. (1977). Efficacy of Inundative Releases. *Annual Review of Entomology*, 22(1), 515–531. https://doi.org/10.1146/annurev.en.22.010177.002503
- Thompson, A. J., Verdin, P. S., Burton, M. J., Davies, T. G. E., Williamson, M. S., Field, L. M., Baines, R. A., Mellor, I. R., & Duce, I. R. (2020). The effects of knock-down resistance mutations and alternative splicing on voltage-gated sodium channels in Musca domestica and Drosophila melanogaster. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 122, 103388. https://doi.org/10.1016/j.ibmb.2020.103388
- Torres, J. B., & Bueno, A. de F. (2018). Conservation biological control using selective insecticides A valuable tool for IPM. In *Biological Control* (Vol. 126, pp. 53–64). Academic Press Inc. https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2018.07.012
- Volkmar C., Schumacher K, M. J. (2008). Impact of low-input pesticides usage on spider communities with special regard to accumulated effects. 18–25.
- Wing, K. D. (1988). RH 5849, a Nonsteroidal Ecdysone Agonist: Effects on a *Drosophila* Cell Line. *Science*, 241(4864), 467–469. http://www.jstor.org/stable/1701423 Zang, L. S., Wang, S., Zhang, F., & Desneux, N. (2021). Biological Control with *Trichogramma* in China: History, Present Status, and Perspectives. In *Annual Review of Entomology* (Vol. 66, Issue 1, pp. 463–484). Annual Reviews Inc. https://doi.org/10.1146/annurev-ento-060120-091620
- Zhang, J., Hao, W., Zhorov, B. S., Dong, K., & Jiang, D. (2019). Discovery of a Novel Series of Tricyclic Oxadiazine 4a-Methyl Esters Based on Indoxacarb as Potential Sodium Channel Blocker/Modulator Insecticides. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 67(28), 7793–7809. https://doi.org/10.1021/acs.jafc.9b00826
- Zorzetti, J., Ricietto, A. P. S., Fazion, F. A. P., Meneguim, A. M., Neves, P. M. O. J., Vilas-Boas, L. A., Rodrigues, R. B., & Vilas-Bôas, G. T. (2017). Selection and Characterization of *Bacillus thuringiensis* (Berliner) (Eubacteriales: Bacillaceae) Strains for *Ecdytolopha aurantiana* (Lima) (Lepidoptera: Tortricidae) Control. *Neotropical Entomology*, 46(1), 86–92. https://doi.org/10.1007/s13744-016-0424-8
- Zucchi, R. A., Querino, R. B., & Monteiro, R. C. (2010). Diversity and Hosts of *Trichogramma* in the New World, with Emphasis in South America. In *Egg Parasitoids in Agroecosystems with Emphasis on Trichogramma*. https://doi.org/10.1007/978-1-4020-9110-0_8

2. EXPOSIÇÃO DE Trichogramma atopovirilia A INSETICIDAS: PUPAS INVIÁVEIS E PARASITISMO IMPEDIDO

Resumo

Os parasitoides pertencentes ao gênero Trichogramma, em especial T. atopovirilia, contribuem com o controle de insetos-praga nos cultivos agrícolas, são considerados generalistas e, assim, são capazes de controlar vários insetos. No entanto, sabe-se que algumas espécies deste gênero são incompatíveis com inseticidas utilizados nos ambientes agrícolas e podem ser impactadas negativamente se expostas a determinados produtos utilizados. Neste sentido, objetivou-se com o presente estudo, verificar os efeitos de inseticidas recomendados para controle do bicho-furão-dos-citros (Gymnandrosoma aurantianum) para a citricultura, sobre a capacidade de parasitismo de fêmeas de T. atopovirilia em ovos tratados com inseticidas e também sobre a fase de pupa deste parasitoide. Os testes foram realizados com os inseticidas: bifentrina, beta-ciflutrina, diflubenzuron, malationa e tebufenozida. A exposição aos produtos se deu por meio de ovos de Ephestia kuehniella. Para o experimento que buscou verificar a capacidade de parasitismo, fêmeas adultas foram expostas a ovos com resíduos dos inseticidas, enquanto para o experimento com pupas, ovos do hospedeiro parasitados por T. atopovirilia anteriormente foram mergulhados em caldas inseticidas. Houve redução da capacidade de parasitismo das fêmeas de *T. atopovirilia* nos tratamentos com bifentrina, beta-ciflutrina e malationa. A emergência de adultos a partir das pupas expostas aos inseticidas bifentrina e malationa foi impactada negativamente, enquanto os inseticidas diflubenzuron e tebufenozida foram inócuos aos parasitoides em ambos os experimentos. Os dados apresentados no presente estudo auxiliarão a tomada de decisão no momento do planejamento de programas de MIP, de forma que possam ser associados métodos de controle biológico e químico.

Palavras-chave: Citricultura; Manejo Integrado de Pragas; Parasitoides; Seletividade; *Gymnandrosoma aurantianum*.

Abstract

Parasitoids belonging to the genus Trichogramma, especially T. atopovirilia Oatman & Platner, 1983, contribute to the control of insect pests in agricultural crops, are considered generalists, and thus are able to control various insects. However, it is known that some species of this genus are incompatible with insecticides used in agricultural environments and can be negatively impacted if exposed to certain products used. In this sense, the objective of this study was to verify the effects of insecticides recommended for control of the citrus fruit borer (Gymnandrosoma aurantianum) in citrus orchards, on the parasitism ability of T. atopovirilia females in eggs treated with the insecticides and also on the pupal stage of this parasitoid. The tests were conducted with the products: bifenthrin, beta-cyfluthrin, diflubenzuron, malathion, and tebufenozide. The exposure to the products was via Ephestia kuehniella eggs. For the experiment to verify the parasitism capacity, adult females were exposed to eggs with insecticide residues, while for the pupae experiment, eggs of the host parasitized by T. atopovirilia were previously immersed in insecticide solutions. The parasitism of T. atopovirilia females was reduced in the treatments with bifenthrin, betacyfluthrin, and malathion. Adult emergence from pupae exposed to the insecticides bifenthrin and malathion was negatively impacted, while the insecticides diflubenzuron and tebufenozide were harmless to the parasitoids in both experiments. The data presented in this study can help decision-making when planning IPM programs, so those biological and chemical control methods can be associated.

Keywords: Citriculture; Integrated Pest Management; Parasitoids; Selectivity; *Gymnandrosoma aurantianum*;

2.1 Introdução

O parasitoide de ovos *Trichogramma atopovirilia* Oatman & Platner, 1983 (Hymenoptera: Trichogrammatidae) é uma espécie amplamente distribuída na América do Sul, sendo registrada em pelo menos sete hospedeiros diferentes, a maioria por deles caracterizadas por pragas de importância agrícola e econômica (Zucchi et al., 2010). Este inimigo natural destaca-se pela sua agressividade e potencial para uso em campo, em especial no controle de tortricídeos (Lepidoptera: Tortricidae) como o bicho-furão-dos-citros (*Gymnandrosoma aurantianum* Lima, 1927) (Beserra & Parra, 2004; Molina & Fronza, 2005).

Os parasitoides pertencentes ao gênero *Trichogramma*, dentre estes *T. atopovirilia*, contribuem com o controle de insetos-praga nos cultivos agrícolas, de maneira aplicada, quando liberados no ambiente, ou de forma natural, sendo que os mesmos realizam o controle de insetos por estarem presentes no agroecossistema em questão (Souza et al., 2019). Uma das características vantajosas do uso destas microvespas é a baixa especificidade de hospedeiros, uma vez que muitas espécies destes insetos benéficos são consideradas generalistas e, assim, podem controlar uma variedade de lepidópteros-praga (Romeis et al., 2005).

No entanto, estes insetos podem ser impactados negativamente em decorrência do contato com produtos fitossanitários pulverizados em ambientes agrícolas (Carvalho et al., 2019; Rakes et al., 2021). As microvespas do gênero *Trichogramma* têm sido consideradas incompatíveis com o uso de grande parte dos inseticidas utilizados (Mohapatra & Shinde, 2021) e sabe-se que sua atividade é reduzida quando associa-se, de maneira equivocada, os métodos de controle químico e biológico (King et al., 1986; Meierrose & Araujo, 1986; Saber, 2011).

Os danos resultantes do contato dos insetos benéficos com os inseticidas podem ser de ordem letal, o qual é determinado como a mortalidade direta do indivíduo, causada pela exposição a um inseticida. Enquanto os efeitos subletais são definidos como implicações negativas imputadas aos organismos sobreviventes desta exposição, podendo ser fisiológicas ou comportamentais (Croft, 1990; Desneux et al., 2006, 2007; Little, 1990).

Estudos registraram que parasitoides provenientes de ovos parasitados do hospedeiro que entraram em contato com diferentes resíduos de inseticidas apresentam reduções de emergência, o que demonstra que mesmo que o córion do ovo possa atuar como uma proteção aos imaturos ali presentes (Cônsoli et al., 1998; Desneux et al., 2007; Suh et al., 2000), no momento em que as microvespas iniciam o processo de emergência, onde utilizam como estratégia para emergir, consumir uma parte do córion do ovo que permita a sua saída; os parasitoides podem acabar entrando em contato com os resíduos do inseticida aplicados sobre o ovo (Orr et al., 1989; Varma & Singh, 1987).

Pelo fato de os parasitoides do gênero *Trichogramma* apresentarem suscetibilidade em estádio larval, em laboratório também são testados os inseticidas para a fase menos suscetível do inseto, que é o estádio de pupa, no qual o inseto está protegido dentro do ovo do hospedeiro alternativo (Paiva et al., 2020). Diversos estudos já avaliaram os efeitos de inseticidas sobre pupas de diferentes espécies de *Trichogramma* e alguns demonstraram que determinados inseticidas provocam efeitos deletérios nos adultos que emergem a partir destas pupas, anteriormente expostas aos produtos químicos (Costa et al., 2014; Paiva et al., 2018; Momanyi et al., 2012; Wang et al., 2014).

Além da frequente redução na emergência de adultos, tem sido constatado que os inseticidas causam redução no parasitismo de ovos pelas fêmeas, chegando a diminuições de 95% (Youssef et al., 2004). Como é o caso dos inseticidas neurotóxicos, os quais agem nesses insetos reduzindo a fecundidade de parasitoides do gênero *Trichogramma* (Cônsoli et al., 1998). Este grupo de inseticidas é frequentemente relatado como causador de redução da taxa de emergência de parasitoides de ovos (Costa et al., 2014; Jiang et al., 2019).

As modificações que os inseticidas podem vir a ocasionar nas populações dos inimigos naturais são importantes efeitos que impactam os atributos natos destes agentes de controle biológico (Biondi et al., 2012; Drobnjakovic et al., 2016; Stark & Banks, 2003). Além disso, estas alterações são passíveis de reduzir a população de inimigos naturais e, como consequência, sua capacidade de controlar naturalmente insetos-praga nos ambientes agrícolas (Desneux et al., 2007; Rumpf et al., 1998). Por isso, é necessário adequar o uso dos inseticidas apropriados para emprego em um programa de MIP. Neste sentido, objetivou-se com o presente estudo verificar, em laboratório, a capacidade de parasitismo das fêmeas em ovos tratados com inseticidas registrados para a citricultura para controle do bicho-furão-doscitros e os efeitos dos inseticidas sobre a fase de pupa do parasitoide *T. atopovirilia*.

2.2 Material e Métodos

2.2.1 Criação e manutenção de Trichogramma atopovirilia

A criação de insetos foi mantida no Laboratório de Manejo Integrado de Pragas e a manutenção desta foi realizada junto ao Laboratório de Biologia de Insetos, ambos do Departamento de Entomologia e Acarologia da Universidade de São Paulo – USP, no Campus da Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" – ESALQ, localizado em Piracicaba - SP.

O parasitoide *T. atopovirilia* foi criado e multiplicado em ovos de *Ephestia kuehniella* Zeller, 1879 (Lepidoptera: Pyralidae) provenientes da criação existente no Laboratório de Biologia de Insetos da USP/ESALQ, uma vez que os ovos deste hospedeiro alternativo são os mais indicados para criação de espécies de *Trichogramma* em laboratório (Gomes, 1997; Parra & Zucchi, 2004).

A fim de disponibilizar os ovos de *E. kuehniella* para parasitismo, os mesmos foram inviabilizados sob luz germicida, uma vez que a fase larval desta espécie de hospedeiro possui hábito canibal, por isso é necessário impedir o seu desenvolvimento para que não haja perdas da progênie do parasitoide (Brenière, 1965).

Para inviabilização, os ovos do hospedeiro com até três dias de oviposição, foram dispostos em tiras retangulares de cartolina com dimensões 8,0 cm × 2,0 cm contendo fita adesiva de dupla face e expostos à luz germicida por um período de 45 minutos em uma distância de 15 cm da fonte de luz (Stein & Parra, 1987). Na extremidade das cartelas foram anotados os dados referentes a data de disponibilização para parasitismo.

As cartelas contendo os ovos inviabilizados do hospedeiro foram oferecidas aos adultos de *T. atopovirilia* para parasitismo por 24 horas e estes foram acondicionados em tubos de ensaio com dimensões de $8.0 \text{ cm} \times 2.5 \text{ cm}$ e mantidos em sala com condições controladas, 25 ± 2 °C, UR $70 \pm 10\%$ e fotofase de 14 horas.

2.2.2 Inseticidas utilizados

Os inseticidas testados para avaliação da seletividade ao parasitoide foram aqueles registrados para uso em pomares de citros para controle do bicho-furão-dos-citros *Gymnandrosoma aurantianum* Lima, 1927 (Lepidoptera: Tortricidae) (Tabela 1). Nos bioensaios de seletividade, foram empregadas as doses máximas dos inseticidas, como forma de simular as piores condições as quais os parasitoides poderiam ser expostos. Estas doses são recomendadas pelo fabricante do produto comercial.

Tabela 1 - Relação de inseticidas registrados para a citricultura para uso no controle de bichofurão-dos-citros e utilizados nos experimentos com concentração em produto comercial e ingrediente ativo.

Nome comercial	Grupo químico Modo de ação		Concentração (g ou mL/100 L de água)		
				p.c. ⁴	i.a. ⁵
Dimilin® WP¹	Diflubenzuron	Benzoiluréia	Inibidor da biossíntese de quitina	25	6,25
Malathion® 1000 EC²	Malationa	Organofosforado	Inibidor de acetilcolinesterase	150	150
Mimic® 240 SC³	Tebufenozida	Diacilhidrazina	Agonista dos receptores de ecdisteróides	50	12
Talstar® 100 EC	Bifentrina	Piretroide	Modulador do canal de sódio	7,5	0,75
Turbo® EC	Beta-ciflutrina	Piretroide	Modulador do canal de sódio	12,5	0,625

¹WP – Pó molhável; ²EC – Concentrado emulsionável; ³SC – Suspensão concentrada; ⁴p.c. – Produto comercial; concentração do produto comercial em g ou mL por 100 L de água; ⁵i.a. – Ingrediente ativo; concentração do ingrediente ativo em g por 100 L de água.

2.2.3 Capacidade de parasitismo de *Trichogramma atopovirilia* em ovos tratados com inseticidas

A fim de verificar a capacidade de parasitismo de *T. atopovirilia* em ovos de hospedeiros que entraram em contato com inseticidas, cartelas contendo aproximadamente 150 ovos de *E. kuehniella* não parasitados, foram mergulhados por um período de dois segundos em caldas dos inseticidas de cada tratamento testado. Posteriormente, as cartelas foram dispostas para secar em temperatura ambiente por uma hora, ou até que estas estivessem secas por completo e, em seguida, oferecidas às fêmeas do parasitoide, por um período de 24 horas. Após esse período, a cartela com ovos tratados foi retirada dos tubos e oferecidas cartelas com ovos sem tratamento, a fim de que a capacidade de parasitismo após a exposição aos inseticidas fosse verificada. As cartelas eram trocadas diariamente até que se constatasse a morte das fêmeas. Para alimentação das fêmeas era fornecida uma gotícula de mel, disposta diretamente no tubo de ensaio.

O delineamento experimental empregado foi inteiramente casualizado. Para cada tratamento foram realizadas 30 repetições, sendo cada uma destas constituída por um tubo de ensaio (8,0 × 2,5 cm). No tratamento controle foi utilizado apenas água destilada na pulverização e oferecido mel como fonte de alimento para as fêmeas. Os tubos foram

acondicionados em sala com condições controladas, 25 ± 2 °C, UR $70 \pm 10\%$ e fotofase de 14 horas.

Os ovos parasitados foram mantidos sob as mesmas condições até que sua coloração se tornasse escurecida. A verificação do parasitismo dos ovos foi realizada com o auxílio de um microscópio estereoscópio stéreo-zoom série SZ/SZT, marca BEL Engineering®, por meio do qual foi realizada a contagem do número total de ovos e aqueles que estavam parasitados. A porcentagem de emergência também foi avaliada pela quantificação do número de ovos contendo orifícios de saída dos insetos em relação ao número de ovos pretos (Degrande, 1996), enquanto a razão sexual foi verificada por meio da análise das características das antenas dos indivíduos (Bowen & Stern, 1966).

Após a emergência dos insetos das cartelas tratadas com inseticidas, foram individualizadas 15 fêmeas de cada tratamento a fim de verificar a capacidade de parasitismo da primeira geração de descendentes (F_1). As fêmeas foram acondicionadas em tubos de ensaio (8.0×2.5 cm) e fornecido diariamente, por toda a sua vida, cartelas com um número conhecido de ovos do hospedeiro alternativo, com até três dias de oviposição. As cartelas com os ovos foram substituídas a cada 24 horas.

Como forma de avaliar a longevidade destes descendentes, as fêmeas foram mantidas até que fosse verificada a sua morte. Com estes dados foram avaliadas a emergência, a razão sexual, a longevidade e a capacidade de parasitismo dos descendentes da geração F1.

2.2.4 Avaliação dos efeitos de inseticidas sobre pupas de *Trichogramma atopovirilia*Neste experimento, foram utilizadas cartelas contendo ovos do hospedeiro *E. kuehniella*com sete dias de parasitismo por *T. atopovirilia*.

Para obter os ovos parasitados, fêmeas recém emergidas de T. atopovirilia foram individualizadas e acondicionadas em tubos de ensaio $(8,0 \times 2,5 \text{ cm})$, junto a uma cartela com aproximadamente 150 ovos não parasitados do hospedeiro alternativo. A fim de garantir a uniformidade de parasitismo nas repetições e quantidade ideal de ovos parasitados, um número excedente de 30% de cartelas foi disponibilizado para parasitismo por T. atopovirilia. Assim, aos sete dias, foi possível descartar as cartelas que apresentaram baixa quantidade de ovos parasitados. O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado.

As fêmeas que haviam sido dispostas para parasitarem os ovos foram removidas dos tubos de ensaio após 24 horas e, os mesmos, foram acondicionados em sala com condições controladas, 25 ± 2 °C, UR $70 \pm 10\%$ e fotofase de 14 horas, por sete dias, até que as larvas atingissem o estádio de pupa.

Após sete dias do parasitismo dos ovos, as cartelas foram expostas aos inseticidas. Das cartelas parasitadas, as que possuíam menos que 30 ovos parasitados foram descartadas. As demais cartelas contendo um número conhecidos de ovos do hospedeiro *E. kuehniella* com sete dias de parasitismo por *T. atopovirilia* foram mergulhados por dois segundos nas caldas contendo os inseticidas testados em cada tratamento, a fim de verificar os efeitos destes produtos na emergência, longevidade e razão sexual. Os tratamentos foram compostos de 30 repetições cada, sendo cada repetição constituída de uma cartela com ovos parasitados.

Para avaliar os efeitos transgeracionais dos inseticidas ocasionados na geração F_1 , a partir dos ovos tratados, foram individualizadas 15 fêmeas de cada tratamento em tubos de vidro (8,0 \times 2,5 cm). Foram oferecidas, diariamente, cartelas com ovos do hospedeiro alternativo com até três dias de oviposição durante toda a vida da fêmea, a fim de verificar a taxa de parasitismo.

A longevidade da geração F₁ foi verificada e as cartelas com ovos oferecidas diariamente foi quantificada, assim como o número de ovos parasitados. Além disso, a porcentagem de emergência de insetos foi realizada por meio da contagem do número de ovos contendo orifícios de saída dos insetos.

2.2.5 Classificação toxicológica dos inseticidas

Os produtos avaliados nos testes de seletividade foram classificados de acordo com as categorias toxicológicas propostas pela IOBC/WPRS (*International Organization for Biological and Integrated Control/West Paleartic Regional Section*) em relação a redução da capacidade de parasitismo e capacidade de emergência ocasionada aos parasitoides estudados, que são classificadas pela IOBC como: Classe 1 = Inócuo (< 30% de redução), Classe 2 = Levemente nocivo (30% a 80% de redução), Classe 3 = Moderadamente nocivo (>80% a 99% de redução) e Classe 4 = Nocivo (>99% de redução) (Hassan, 1997).

2.2.6 Análises estatísticas

Inicialmente, os dados de taxa de mortalidade, taxa de parasitismo, taxa de emergência e razão sexual, nos experimentos de capacidade de parasitismo e exposição de pupas a inseticidas, foram submetidos aos testes de normalidade de Shapiro-Wilk e de homocedasticidade de variâncias de Bartlett. A análise de variância (ANOVA) não-paramétrica de Kruskal-Wallis com Dunn com correção de Bonferroni post hoc (p<0,05) foi

empregada aos dados que não atenderam os pressupostos de normalidade e homogeneidade de variâncias, mesmo após transformações, pelos pacotes "easyanova" e "dunn.test".

Os dados de mortalidade, em porcentagem (%), dos tratamentos e do controle também foram utilizados para o cálculo do percentual de mortalidade corrigida (%), por meio da fórmula de correção de mortalidade de Schneider-Orelli (contagem de insetos mortos; população uniforme de insetos nos tratamentos) {[MC%= (%MTrat – %MTest)/(100 – MTest)*100]; em que MC é a mortalidade corrigida (%) em função do controle, MTrat é a mortalidade (%) observada no tratamento e MTest é a mortalidade (%) observada no controle}.

Os dados de taxa de parasitismo ao longo do tempo (dias) dos parasitoides adultos (F₀) expostos aos resíduos dos inseticidas foram submetidos, inicialmente, aos testes de normalidade de Shapiro-Wilk e de homocedasticidade de variâncias de Bartlett. Visto que os dados não atenderam os pressupostos de normalidade e homogeneidade de variâncias, mesmo após transformações clássicas e por Box e Cox (1964), optou-se pelo emprego da transformação dos dados por ranqueamento e execução de ANOVA sobre os ranks ou postos dos dados, conforme orientação de Wobbrock et al. (2011) para experimentos em esquema fatorial. A ANOVA sobre os postos dos dados foi efetuada por meio do pacote "ARTool". Mediante interação significativa, realizou-se o desdobramento da interação por meio do teste de Kruskal-Wallis com Fisher (LSD) post hoc (p<0,05), comparando "inseticidas" dentro de cada nível "dias". Os pacotes "agricolae", "openxlsx" e "MASS" também foram utilizados nas análises. As análises estatísticas foram efetuadas por meio dos pacotes supracitados do software R 4.0.0 (R Development Core Team, 2020).

2.3 Resultados

2.3.1 Capacidade de parasitismo de *Trichogramma atopovirilia* em ovos com resíduos de inseticidas

Verificou-se que houve redução da capacidade de parasitismo das fêmeas de *T. atopovirilia* em função dos resíduos dos inseticidas bifentrina, beta-ciflutrina e malationa aplicados nos ovos do hospedeiro alternativo (Tabela 1).

A redução de parasitismo causada pelo inseticida bifentrina foi de 100%, sendo classificado como nocivo (classe 4) e para o inseticida beta-ciflutrina foi de 97%, esse classificado como moderadamente nocivo (Tabela 1). O inseticida malationa foi classificado como levemente nocivo (classe 2), uma vez que este reduziu em 50,93% o parasitismo, e

diflubenzuron e tebufenozida foram classificados como inócuos (classe 1), pois não reduziram de maneira significativa a quantidade de ovos parasitados ($X^2 = 69,08$; g.l.= 5; p < 0,001).

Tabela 1. Porcentagem de parasitismo de fêmeas de *Trichogramma atopovirilia* sobre ovos contaminados, redução do parasitismo, e tempo letal (TL₅₀) após exposição por 24 h com os inseticidas testados e suas classificações na redução do parasitismo.

Tratamento	Ovos parasitados 24 h (%)¹	Redução do parasitismo (%)²	Tempo Letal (TL ₅₀) (dias)	Classe IOBC/ WPRS ³
Controle	$19,42 \pm 3,06$ a	-	11,10 (9,47 – 12,73) a	-
Diflubenzuron	$23,18 \pm 3,10 \text{ a}$	0,00	8,83 (7,17 – 10,49) a	1
Malationa	9,53 ± 1,97 b	50,93	2,30 (1,70 – 2,89) b	2
Tebufenozida	$24,73 \pm 3,19$ a	0,00	8,37 (6,87 – 9,86) a	1
Bifentrina	$0.00 \pm 0.00 c$	100,00	3,83 (2,69 – 4,97) b	4
Beta-ciflutrina	0.58 ± 0.26 c	97,01	3,96 (2,73 – 5,20) b	3

 1 Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente segundo teste de Kruskall-Wallis com Dunn e com correção Bonferroni (p< 0.05). 2 Redução do parasitismo foi obtido por meio da formula: R = (1 - (P/p)) * 100. 3 Classes propostas pela IOBC/WPRS: Classe 1 = Inócuo (< 30% de redução), Classe 2 = Levemente nocivo (30% a 80% de redução), Classe 3 = Moderadamente nocivo (>80% a 99% de redução) e Classe 4 = Nocivo (> 99% de redução).

Além da redução na capacidade de parasitismo, as fêmeas expostas aos inseticidas bifentrina, beta-ciflutrina e malationa tiveram redução significativa no tempo letal para a mortalidade de 50% da população (Tabela 1). Quando expostas ao inseticida malationa, foi registrada a maior redução do tempo letal, no qual as fêmeas sobreviveram por aproximadamente dois dias, enquanto, para os inseticidas classificados como inócuos, esse tempo foi de 8,37 e 8,83 dias, respectivamente para tebufenozida e diflubenzuron, e as fêmeas do tratamento controle tiveram longevidade de 11 dias. Os inseticidas piretroides bifentrina e beta-ciflutrina, classificados como nocivos, também reduziram significativamente a longevidade dos insetos, que foi de, aproximadamente, quatro dias (X² = 104,06; g.l.= 5; p < 0,001).

Ressalta-se que a ausência de parasitismo no tratamento com o inseticida bifentrina, foi devido às fêmeas de *T. atopovirilia* não terem parasitado os ovos com resíduos, mas elas também não morreram logo que foram expostas ao produto. A partir do dia seguinte, quando as cartelas com resíduos foram removidas e substituídas por cartelas com ovos sem

tratamento, as fêmeas parasitaram normalmente. Apesar disso, a longevidade das fêmeas deste tratamento foi reduzida, no qual tiveram média de sobrevivência de 3,83 dias (Tabela 1).

Nas 24 horas de exposição das fêmeas de *T. atopovirilia* aos ovos com resíduos de inseticidas, malationa causou 50% de mortalidade, bifentrina 33,33% e beta-ciflutrina provocou a morte de 30% das fêmeas de *T. atopovirilia* (Figura 1). Como consequência desta exposição direta, estes inseticidas foram classificados como levemente nocivo (classe 2), de acordo com a categorização proposta pela IOBC. Entretanto, mesmo após a remoção dos ovos com resíduos de produtos, com substituição por cartelas de ovos sem tratamento, a mortalidade das fêmeas continuou a ocorrer significativamente, o que resultou no aumento da classificação destes produtos, sendo malationa classificado, ao final de 120 horas de exposição, como nocivo e bifentrina e beta-ciflutrina como moderadamente nocivo (Figura 1).

Os inseticidas diflubenzuron e tebufenozida foram classificados como inócuos (classe 1), com tebufenozida provocando, com 24 horas de exposição, mortalidade de 10% da população e diflubenzuron não ocasionou a morte de nenhum inseto ($X^2 = 37,92$; g.l.= 5; p < 0,001). Já nas 120 horas subsequentes, os inseticidas diflubenzuron e tebufenozida continuaram com a mesma classificação anterior de pouco nocivos (classe 1), neste caso, houve aumento da mortalidade para o tratamento com diflubenzuron, com 20% de mortalidade e redução da mortalidade no tratamento com tebufenozida, que registrou 16,7% ($X^2 = 71,83$; g.l.= 5; p < 0,001).

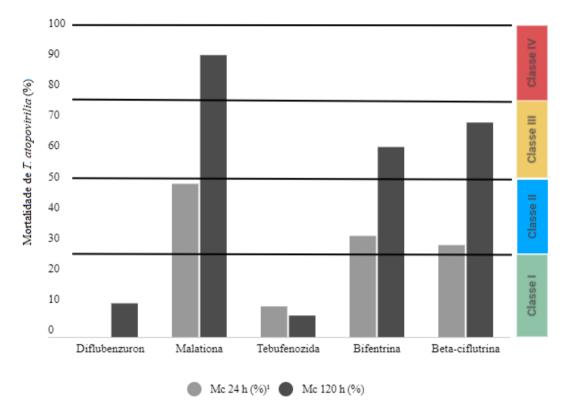


Figura 1. Mortalidade corrigida de fêmeas de *Trichogramma atopovirilia* em 24 horas e 120 horas após exposição aos ovos tratados com inseticidas e classes de toxicidade segundo classificação proposta. ¹Mc: mortalidade corrigida segundo fórmula de Schneider-Orelli. ²Categorias toxicológicas propostas pela IOBC/WPRS: Classe 1 = Inócuo (Mc < 25%), Classe 2 = Levemente nocivo (25 ≤ Mc < 50%), Classe 3 = Moderadamente nocivo (50 ≤ Mc < 75%) e Classe 4 = Nocivo (Mc ≥ 75%).

Para a geração F_1 , proveniente dos ovos expostos aos inseticidas, não houve redução na emergência de adultos ($X^2 = 6.99$; g.l.= 5; p = 0.2207) e também na razão sexual ($X^2 = 1.98$; g.l.= 5; p = 0.8516). Entretanto, a longevidade foi altamente impactada, sendo que no tratamento controle foi de 10 dias e nos demais tratamentos de quatro ou cinco dias ($X^2 = 24.75$; g.l.= 4; p < 0.001) (Tabela 2).

É importante salientar que os ovos referentes ao tratamento com bifentrina foram aqueles em que as fêmeas da geração F_0 não parasitaram os ovos do hospedeiro pela presença do resíduo deste produto e, devido ao fato não ter havido parasitismo, impossibilitou o estabelecimento da geração F_1 para análise dos descendentes.

Tabela 2. Percentual médio de emergência, razão sexual e longevidade da F₁, geração de indivíduos proveniente dos ovos expostos aos inseticidas.

Tratamento	Emergência	Razão sexual	Longevidade	
	(%)	média	(dias)	
Controle	$83,52 \pm 2,05$	$0{,}68 \pm 0{,}04$	10,33 a ¹	
Diflubenzuron	$78,60 \pm 2,19$	$0,65 \pm 0,03$	4,05 b	
Malationa	$81,72 \pm 2,61$	$0,64 \pm 0,05$	4,40 b	
Tebufenozida	$84,36 \pm 1,57$	$0,64 \pm 0,04$	5,53 b	
Bifentrina	-	-	-	
Beta-ciflutrina	$78,64 \pm 2,39$	$0,68 \pm 0,04$	5,50 b	
g.l.	5	5	4	
X^2	6,99	1,98	24,75	
p	0,2207	0,8516	< 0,001	

 1 Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente pelo método Kruskal-Wallis com Dunn e com correção Bonferroni (p < 0,05)

Para a geração F_0 , fêmeas da geração exposta aos inseticidas, a maior probabilidade de sobrevivência foi apresentada pelos tratamentos diflubenzuron e tebufenozida, com 18 e 17 dias, e a menor foi observado para o tratamento com malationa, com seis dias de sobrevivência de insetos. Já para a geração F_1 , os resultados obtidos foram diferentes, com redução da probabilidade de sobrevivência, com valores de 14 dias para o inseticida tebufenozida e oito dias para o inseticida diflubenzuron (Figura 2).

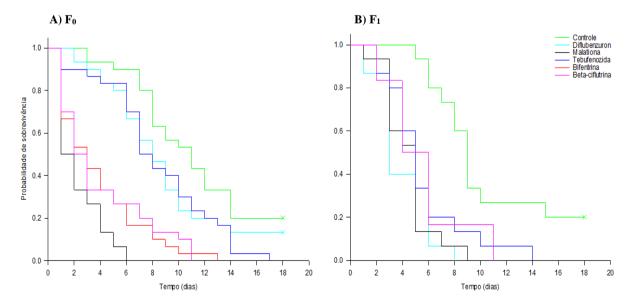


Figura 2. Curva de sobrevivência de fêmeas de *Trichogramma atopovirilia* após exposição a inseticidas (F_0) e descendentes desta geração (F_1) .

2.3.2 Viabilidade de pupas após exposição a inseticidas

As pupas de T. atopovirilia expostas ao tratamento com o inseticida bifentrina apresentaram uma redução de 89,10% na emergência de adultos, por meio da inviabilização das pupas (Tabela 3). O inseticida malationa não inviabilizou as pupas, mas, apesar de haver emergência dos adultos, em poucas horas estes morreram. Por isso, em ambos os tratamentos não foram obtidos espécimes da geração F_1 para analisar os efeitos ocasionados aos descendentes. Os demais tratamentos não afetaram a emergência de insetos ($X^2 = 103,50$; g.l.=5; p < 0,001).

A razão sexual dos insetos nos tratamentos também não diferiu estatisticamente do controle, com exceção do tratamento diflubenzuron ($X^2 = 28,48$; g.l.= 5; p < 0,001) (Tabela 3).

A classificação de seletividade dos inseticidas, de acordo com as categorias propostas pela IOBC/WPRS, indicou que, com exceção do inseticida bifentrina, que foi classificado como moderadamente nocivo ao parasitoide (classe 3), todos os demais inseticidas foram classificados como inócuos (classe 1).

Tabela 3. Percentual médio de emergência e razão sexual de adultos de *Trichogramma atopovirilia* onde a fase de pupa foi exposta a inseticidas, além da classificação de seletividade dos inseticidas.

Tratamento	Emergência (%)	Redução de emergência (%)	Razão sexual média	Classificação IOBC/WPRS
Controle	$70,07 \pm 0,73 \text{ b}$	-	$0,93 \pm 0,02$ a	-
Diflubenzuron	$90,62 \pm 1,58$ a	0	$0.86 \pm 0.01 \text{ b}$	1
Malationa	$69,91 \pm 4,07 \text{ b}$	0,23	0.93 ± 0.01 a	1
Tebufenozida	$90,93 \pm 1,40 \text{ a}$	0	0.95 ± 0.01 a	1
Bifentrina	$7,64 \pm 3,31$ c	89,10	$0.92 \pm 0.04 \text{ a}$	3
Beta-ciflutrina	$70,64 \pm 4,22 \text{ b}$	0	0.92 ± 0.01 a	1
g.l.	5		5	
X^2	103,50		28,48	
p	<0,001		<0,001	

 1 Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente pelo método Kruskal-Wallis com Dunn e com correção Bonferroni (p< 0.05). 2 Redução de emergência foi obtida por meio da formula: R = (1 - (P/p)) * 100. Classes propostas pela IOBC/WPRS: Classe 1 = Inócuo (< 30% de redução), Classe 2 = Levemente nocivo (30% a 80% de redução), Classe 3 = Moderadamente nocivo (>80% a 99% de redução) e Classe 4 = Nocivo (> 99% de redução).

A geração de descendentes, provenientes das fêmeas expostas aos inseticidas na fase de pupa, não apresentou alteração de emergência, razão sexual ou parasitismo de ovos em virtude desta exposição. No entanto, a longevidade dos adultos da geração F_1 foi reduzida pelos inseticidas diflubenzuron, tebufenozida e beta-ciflutrina, quando comparadas com o tratamento controle ($X^2 = 60,69$; g.l.= 5; p < 0,001) (Figura 3, Tabela 4).

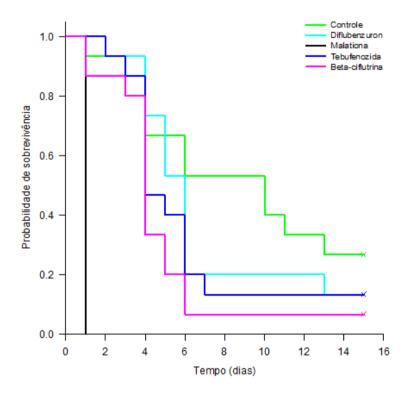


Figura 3. Curva de sobrevivência de fêmeas de *Trichogramma atopovirilia* da geração F_1 , onde a geração F_0 foi exposta aos inseticidas na fase de pupa, sem o tratamento bifentrina, o qual não foi possível estabelecer F_1 .

Tabela 4. Percentual médio de parasitismo de ovos, emergência e razão sexual de *Trichogramma atopovirilia* da geração F_1 , onde a geração F_0 foi exposta aos inseticidas na fase de pupa.

Tratamento	Parasitismo médio (%)	Emergência média (%)	Razão sexual média	Longevidade (dias)
Controle	$12,21 \pm 1,99$	$90,13 \pm 2,07$	$0,40 \pm 0,11$	8,80 a
Diflubenzuron	$11,67 \pm 1,48$	$90,03 \pm 3,30$	$0,\!29 \pm 0,\!10$	6,80 b
Malationa	-	-	-	-
Tebufenozida	$11,33 \pm 2,02$	$88,83 \pm 2,25$	$0,\!48 \pm 0,\!08$	5,93 b
Bifentrina	-	-	-	-
Beta-ciflutrina	$11,76 \pm 1,58$	$91,26 \pm 2,34$	$0,45 \pm 0,09$	4,67 b
g.l.	3	3	3	5
X^2	1,14	1,28	4,58	60,69
p	0,7680	0,7329	0,2047	< 0,001

¹Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente pelo método Kruskal–Wallis com Dunn e com correção Bonferroni (p< 0.05).

2.4 Discussão

Os inseticidas testados que são pertencentes aos grupos químicos dos organofosforados (malationa) e piretroides (bifentrina e beta-ciflutrina), afetaram negativamente a pupa ou adulto dos parasitoides *T. atopovirilia*, e os inseticidas reguladores de crescimento (RCI) foram considerados seletivos a este inimigo natural. Resultados similares também foram reportados por Cônsoli et al. (1998), Hassan et al. (1998) e Hussain et al. (2010).

O inseticida malationa, pelo fato de não ter reduzido a emergência de adultos quando aplicados em pupa de *T. atopovirilia*, foi classificado como inócuo (classe 1). Apesar disso, no presente estudo, os insetos emergiram e morreram logo em seguida, fato que pode indicar que no momento da emergência, os adultos podem ter sido levados a morte pelo contato com os inseticidas ou por terem ingerido resíduos presentes no córion do ovo, como observado por Orr et al. (1989) para *Trissolcus basalis*, por Parsaeyan et al. (2020) para *Trichogramma brassicae* Bezdenko e por Varma & Singh (1987) para *Trichogramma brasiliensis* Ashmead.

Os inseticidas do grupo dos organofosforados têm como modo de ação a inibição da enzima acetilcolinesterase (Wang et al., 2013). Estudos conduzidos nas últimas décadas demonstraram que estes produtos são altamente nocivos para os inimigos naturais (Croft, 1990; J. M. Delpuech et al., 2005; Moura et al., 2006). Além disso, são inseticidas conhecidos por ocasionar redução do parasitismo pelos insetos benéficos, estando de acordo com os resultados encontrados no presente estudo. Apesar de malationa reduzir em 51% o parasitismo

por *T. atopovirilia*, há registros de redução de até 95% de parasitismo de ovos pelo parasitoide *Trichogramma cacoeciae* Marchal (Hymenoptera: Trichogrammatidae) (Youssef et al., 2004).

É importante salientar que diferentes níveis de toxicidade são impostos aos agentes de controle biológico de acordo com o grupo químico ao qual os inseticidas pertencem. Entretanto, no caso dos piretroides, essas variações de níveis tóxicos são apresentadas no mesmo grupo (Carvalho et al., 2010; Wang et al., 2012). Os resultados encontrados no presente estudo demonstraram que beta-ciflutrina foi classificado como moderadamente nocivo (classe 3), devido ao fato de ter ocasionado redução da capacidade de parasitismo de fêmeas de *T. atopovirilia* e provocado a mortalidade das mesmas. No entanto, quando pupas foram expostas a este inseticida, beta-ciflutrina não ocasionou impactos negativos, e este inseticida foi classificado como inócuo (classe 1) para este estádio de desenvolvimento dos parasitoides.

A menor sensibilidade de fases imaturas dos parasitoides, quando comparadas com a exposição de adultos, é atribuída a proteção exercida pelo córion do ovo do hospedeiro alternativo (Cheng et al., 2021; Sattar et al., 2011). No estádio imaturo de desenvolvimento, onde os parasitoides se encontram dentro do ovo do hospedeiro, estes estão protegidos da ação tóxica de uma série de inseticidas pertencentes a diferentes grupos químicos (Cônsoli et al., 1998; Desneux et al., 2004, 2005, 2007; Preetha et al., 2009; Saber, 2011; Singh & Varma, 1986; Suh et al., 2000).

De maneira geral, o impacto negativo ocasionado pelos inseticidas sobre parasitoides diminui conforme o inseto progride no processo de desenvolvimento (Liu & Zhang, 2012). Além disso, o momento em que é realizada a aplicação do inseticida pode ser determinante para o parasitoide e seu estádio de desenvolvimento enquanto embrião, visto que o inseticida pode sofrer degradação no ambiente antes de os parasitoides emergirem (Saber, 2011).

Bifentrina, outro inseticida do grupo dos piretroides, foi mais nocivo para as fêmeas de *T. atopovirilia* quando comparado com beta-ciflutrina. Este inseticida impediu o contato das fêmeas com os ovos do hospedeiro alternativo, impossibilitando o parasitismo. A justificativa para este fato, de acordo com alguns autores, é pela alta toxicidade que este os inseticidas piretroides apresentam, o que faz com que a capacidade olfatória das fêmeas seja desregulada e estas não encontrem os ovos do hospedeiro para parasitarem (Desneux et al., 2004; Vianna et al., 2009). A longevidade das fêmeas expostas a este inseticida também foi menor, quando comparadas com o tratamento controle.

Estes resultados corroboram os obtidos por outros autores que verificaram o mesmo efeito ao avaliarem a toxicidade de inseticidas piretroides para o parasitoide *Trichogramma pretiosum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) (Carvalho et al., 2001; Paiva et al., 2018; Souza et al., 2013); bem como para outros inimigos naturais, como *Ceraeochrysa cubana* (Neuroptera: Chrysopidae) (Cordeiro et al., 2010; Rugno et al., 2021).

Além disso, bifentrina também inviabilizou as pupas de *T. atopovirilia*, com redução de emergência de 89,10% nos ovos tratados com este inseticida. Outros autores encontraram resultados semelhantes quando expuseram *Trichogramma chilonis* Ishii (Hymenoptera: Trichogrammatidae) e *T. pretiosum* a este inseticida (Cônsoli et al., 1998; Hussain et al., 2010; Smith, 1996).

A taxa de emergência reflete o número de indivíduos que irá emergir e contribuir com o controle de pragas no agroecossistema, por isso, a emergência dos inimigos naturais garante o equilíbrio populacional destes insetos benéficos no ambiente e a continuidade de sua contribuição (Soares et al., 2007). Quando a emergência é impactada de forma negativa, a capacidade benéfica dos agentes de controle biológico é cessada.

Os resultados encontrados demonstram os diversos efeitos ocasionados pelos inseticidas aos parasitoides do gênero *Trichogramma*. Os inseticidas reguladores de crescimento (RCI), diflubenzuron e tebufenozida, testados sobre *T. atopovirilia*, foram considerados inócuos em ambas as fases de pupa e adulta. Os RCI são caracterizados pela baixa toxicidade aos organismos benéficos, devido à absorção ineficiente que acontece após a ingestão pelos inimigos naturais, os quais não sofrem o processo de muda, o que torna este composto pouco tóxico para estes insetos (Cohen, 2010; Costa et al., 2014; Merzendorfer, 2013). Os resultados obtidos corroboram aqueles obtidos para outras espécies pertencentes ao gênero *Trichogramma*, tais como: *Trichogramma nubilale* Ertle & Davis, *Trichogramma confusum* Viggiani e *T. pretiosum* Riley (Maia et al., 2010; Moscardini et al., 2008; Wang et al., 2012, 2013).

Outros autores verificaram resultados similares quando avaliaram a toxicidade de RCI's para insetos benéficos (Carmo, Bueno, & Bueno, 2010; Hassan et al., 1998; Schneider et al., 2008; Takada et al., 2000; Theiling & Croft, 1988), o que confirma que estes produtos podem ser considerados os mais seguros para os parasitoides do gênero *Trichogramma*, uma vez que demonstram mínimo impacto adverso sobre estes e, assim, seu uso pode ser indicado em programas de MIP.

Os resultados demonstram que a seleção do inseticida adequado para emprego nos agroecossistemas deve ser realizada de maneira cuidadosa, uma vez que determinados

produtos expõem o inimigo natural a efeitos extremamente nocivos, como é o caso de malationa e bifentrina. Além disso, beta-ciflutrina também deve ser utilizado com cautela, pois o mesmo foi classificado como moderadamente nocivo.

Os inseticidas que atuem de forma a proteger os inimigos naturais devem ser preconizados, como é o caso dos reguladores de crescimento avaliados neste estudo, diflubenzuron e tebufenozida, pois são inócuos ao parasitoide *T. atopovirilia*.

2.5 Conclusões

Os resultados observados nos tratamentos com exposição de fêmeas de *T. atopovirilia* aos inseticidas malationa, bifentrina e beta-ciflutrina, demonstraram que a capacidade de parasitismo de ovos do hospedeiro é reduzida quando há exposição a estes produtos. Os efeitos negativos ocasionados pelo inseticida bifentrina, que impediu o parasitismo dos ovos, indica que os efeitos negativos ocasionados pelos inseticidas podem impossibilitar a capacidade benéfica do parasitoide no ambiente agrícola.

O efeito prolongado sobre os insetos expostos, como observado nos tratamentos com os piretroides e organofosforados, que ocasionaram a mortalidade de insetos até as 120 horas subsequentes da exposição; assim como a redução de longevidade dos adultos registrada, reforçam que em condições de campo, a atividade benéfica dos inimigos naturais pode ser drasticamente reduzida caso estes fatores não sejam considerados no momento do manejo.

A inviabilização de pupas, como ocorreu quando pupas foram expostas a bifentrina e a morte dos indivíduos logo após emergirem, ao serem tratadas com o inseticida malationa, são fatores adversos que reforçam a incompatibilidade destes inseticidas com os inimigos naturais.

Deve-se preconizar o uso de produtos como diflubenzuron e tebufenozida, que são considerados inócuos em todos os estádios de desenvolvimento dos parasitoides *T. atopovirilia*, pois são inseticidas eficientes no controle de pragas e que não ocasionam prejuízos aos agentes de controle biológico. E caso seja necessária a utilização dos inseticidas classificados como nocivos aos parasitoides, estes produtos devem ser aplicados nos horários de menor atividade destes inimigos naturais.

Referências

Beserra, E. B., & Parra, J. R. P. (2004). Biologia e parasitismo de *Trichogramma atopovirilia* Oatman & Platner e *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera, Trichogrammatidae) em ovos de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera, Noctuidae). *Revista Brasileira de Entomologia*. https://doi.org/10.1590/s0085-56262004000100020

- Biondi, A., Desneux, N., Siscaro, G., & Zappalà, L. (2012). Using organic-certified rather than synthetic pesticides may not be safer for biological control agents: Selectivity and side effects of 14 pesticides on the predator *Orius laevigatus*. *Chemosphere*, 87(7), 803–812. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2011.12.082
- Bowen, W. R., & Stern, V. M. (1966). Effect of Temperature on the Production of Males and Sexual Mosaics in a Uniparental Race of *Trichogramma semifumatum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae)12. *Annals of the Entomological Society of America*, *59*(4), 823–834. https://doi.org/10.1093/aesa/59.4.823
- Box, G. E., & Cox, D. R. (1964). An analysis of transformations. *Journal of the Royal Statistical Society: Series B (Methodological)*, 26(2), 211-243.
- Carmo, E. L., Bueno, A. F., & Bueno, R. C. O. F. (2010). Pesticide selectivity for the insect egg parasitoid *Telenomus remus*. *BioControl*, *55*(4), 455–464. https://doi.org/10.1007/s10526-010-9269-y
- Carvalho, Geraldo Andrade; Godoy, Maurício Sekiguch; Parreira, Douglas Silva; Rezende, D.T. (2010). Effect of chemical insecticides used in tomato crops on immature *Trichogramma pretiosum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae). Revista Colombiana de Entomologia. http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0120-04882010000100003
- Carvalho, G. A. de, Parra, J. R. P., Baptista, G. C. de. (2001). Impacto de produtos fitossanitários utilizados na cultura do tomateiro na fase adulta de duas linhagens de *Trichogramma pretiosum* Riley, 1879 (Hymenoptera: Trichogrammatidae). *Ciência e Agrotecnologia*, 25(3), 560–568.
- Carvalho, G. A., Grützmacher, A. D., Passos, L. C., & de Oliveira, R. L. (2019). Physiological and ecological selectivity of pesticides for natural enemies of insects. In *Natural Enemies of Insect Pests in Neotropical Agroecosystems: Biological Control and Functional Biodiversity* (pp. 469–478). Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-030-24733-1_37
- Cheng, S., Lin, R., Yu, C., Sun, R., & Jiang, H. (2021). Toxic effects of seven pesticides to aphid parasitoid, *Aphidius gifuensis* (Hymenoptera: Braconidae) after contact exposure. *Crop Protection*, 145, 105634. https://doi.org/10.1016/j.cropro.2021.105634
- Cohen, E. (2010). Chitin biochemistry: synthesis, hydrolysis and inhibition. *Advances in Insect Physiology*, 38, 5–74.
- Cônsoli, F. L., Parra, J. R. P., & Hassan, S. A. (1998). Side-effects of insecticides used in tomato fields on the egg parasitoid *Trichogramma pretiosum* Riley (Hym., Trichogrammatidae), a natural enemy of *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lep., Gelechiidae). *Journal of Applied Entomology*, 122(1–5), 43–47. https://doi.org/10.1111/j.1439-0418.1998.tb01459.x
- Cordeiro, E. M. G., Corrêa, A. S., Venzon, M., & Guedes, R. N. C. (2010). Insecticide survival and behavioral avoidance in the lacewings *Chrysoperla externa* and *Ceraeochrysa cubana*. *Chemosphere*, 81(10), 1352–1357. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2010.08.021

- Costa, M. A., Moscardini, V. F., da Costa Gontijo, P., Carvalho, G. A., de Oliveira, R. L., & de Oliveira, H. N. (2014). Sublethal and transgenerational effects of insecticides in developing *Trichogramma galloi* (Hymenoptera: Trichogrammatidae): Toxicity of insecticides to *Trichogramma galloi*. *Ecotoxicology*, 23(8), 1399–1408. https://doi.org/10.1007/s10646-014-1282-y
- Croft, B. A. (1990). Arthropod biological control agents and pesticides. *Arthropod Biological Control Agents and Pesticides*.
- Degrande, P. E. Otimização e prática da metodologia da IOBC para avaliar o efeito de pesticidas sobre *Trichogramma cacoeciae* (Trichogrammatidae) e *Chrysoperla carnea* (Chrysopidae). Diss. Universidade de São Paulo, 1996.
- Delpuech, J. M., Bardon, C., & Boulétreau, M. (2005). Increase of the behavioral response to kairomones by the parasitoid wasp *Leptopilina heterotoma* surviving insecticides. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 49(2), 186–191. https://doi.org/10.1007/s00244-004-0158-1
- Desneux, N., Decourtye, A., & Delpuech, J. M. (2007). The sublethal effects of pesticides on beneficial arthropods. *Annual Review of Entomology*, *52*, 81–106. https://doi.org/10.1146/annurev.ento.52.110405.091440
- Desneux, N., Denoyelle, R., & Kaiser, L. (2006). A multi-step bioassay to assess the effect of the deltamethrin on the parasitic wasp *Aphidius ervi. Chemosphere*, 65(10), 1697–1706. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2006.04.082
- Desneux, N., Fauvergue, X., Dechaume-Moncharmont, F. X., Kerhoas, L., Ballanger, Y., & Kaiser, L. (2005). *Diaeretiella rapae* limits *Myzus persicae* populations after applications of deltamethrin in oilseed rape. *Journal of Economic Entomology*, *98*(1), 9–17. https://doi.org/10.1093/jee/98.1.9
- Desneux, N., Pham-Delègue, M. H., & Kaiser, L. (2004). Effects of sub-lethal and lethal doses of lambda-cyhalothrin on oviposition experience and host-searching behaviour of a parasitic wasp, *Aphidius ervi. Pest Management Science*, 60(4), 381–389. https://doi.org/10.1002/ps.822
- Drobnjaković, T., Drobnjaković, T., Marčić, D., Prijović, M., Perić, P., Milenković, S., & Bošković, J. (2016). Life history traits and population growth of *Encarsia formosa* Gahan (Hymenoptera: Aphelinidae) local population from Serbia *Entomologia Generalis*, *35*, 281–295. https://doi.org/10.1127/entomologia/2016/0183
- Gomes, S. M. (1997). Comparação de três hospedeiros alternativos para criação e produção massal de *Trichogramma pretiosum* Riley, 1879. *Dissertatação de Mestrado, Piracicaba, ESALO, Universidade de São Paulo*, 106.
- Hassan, S. A. (1997) "Seleção de espécies de Trichogramma para o uso em programas de controle biológico." *Trichogramma eo controle biológico aplicado*. 183-206.
- Hassan, S. A., Hafes, B., Degrande, P. E., & Herai, K. (1998). The side-effects of pesticides on the egg parasitoid *Trichogramma cacoeciae* Marchal (Hym., Trichogrammatidae), acute dose-response and persistence tests. *Journal of Applied Entomology*, *122*(9–10), 569–573. https://doi.org/10.1111/j.1439-0418.1998.tb01547.x

- Hussain, D., Akram, M., Iqbal, Z., Ali, A., & Saleem, M. (2010). Effect of some insecticides on *Trichogramma chilonis* Ishii. (Trichogrammatidae: Hymenoptera) immature and adult survival.
- Jiang, J., Liu, X., Zhang, Z., Liu, F., & Mu, W. (2019). Lethal and sublethal impact of sulfoxaflor on three species of *Trichogramma* parasitoid wasps (Hymenoptera: Trichogrammatidae). *Biological Control*. https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2019.04.001
- King, E. G., Bouse, L. F., Bull, D. L., Coleman, R. J., Dickerson, W. A., Lewis, W. J., Lopez, J. D., Morrison, R. K., & Phillips, J. R. (1986). Management of *Heliothis* spp. in cotton by augmentative releases of *Trichogramma pretiosum* Ril. *Journal of Applied Entomology*, 101(1–5), 2–10. https://doi.org/10.1111/j.1439-0418.1986.tb00826.x
- Little, E. E. (1990). Behavioral toxicology: Stimulating challenges for a growing discipline. Environmental Toxicology and Chemistry, 9(1)1–2. https://doi.org/10.1002/etc.5620090101
- Liu, T., Zhang, T. (2012). Side effects of two reduced-risk insecticides, indoxacarb and spinosad, on two species of *Trichogramma* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) on cabbage." *Ecotoxicology* 21.8: 2254-2263.
- Maia, J. B., Andrade Carvalho, G., Santos Leite, M. I., Lopes de Oliveira, R., & Makyama, L. (2010). Selectivity of insecticides used in corn crops to adult *Trichogramma atopovirilia* (Hymenoptera: Trichogrammatidae). *Revista Colombiana de Entomología*, 36(2), 202–206.
- Meierrose, C., & Araujo, J. (1986). Natural egg parasitism on *Helicoverpa (Heliothis)* armigera Hbn. (Lepidoptera, Noctuidae) on tomato in South Portugal. *Journal of Applied Entomology*, 101(1–5), 11–18. https://doi.org/10.1111/j.1439-0418.1986.tb00827.x
- Merzendorfer, H. (2013). Chitin synthesis inhibitors: old molecules and new developments. *Insect Science*, 20, 121–138. https://doi.org/10.1111/j.1744-7917.2012.01535.x
- Mohapatra, B., & Shinde, C. (2021). Contact toxicity of different insecticides against egg parasitoid, *Trichogramma japonicum* Ashmead under laboratory condition. *Journal of Entomology and Zoology Studies*, 9(1), 134–139. https://doi.org/10.22271/j.ento.2021.v9.i1b.8138
- Molina R.M.S., Fronza V. P. J. (2005). Seleção de *Trichogramma* spp., para o controle de *Ecdytolopha aurantiana*, com base na biologia e exigências térmicas. *Revista Brasileira de Entomologia*, 49(1), 152–158. https://kopernio.com/viewer?doi=10.1590/S0085-56262005000100018&route=7
- Momanyi, G., Maranga, R., Sithanantham, S., Agong, S., Matoka, C. M., & Hassan, S. A. (2012). Evaluation of persistence and relative toxicity of some pest control products to adults of two native *Trichogrammatid* species in Kenya. *BioControl*, *57*(5), 591–601. https://doi.org/10.1007/s10526-011-9434-y
- Moscardini, V. F., de Moura, A. P., Carvalho, G. A., & Lasmar, O. (2008). Efeito residual de inseticidas sintéticos sobre *Trichogramma pretiosum* Riley (Hym., Trichogrammatidae) em diferentes gerações. *Acta Scientiarum. Agronomy*, 30(2), 177–182.
- Moura, A. P., Carvalho, G. A., Pereira, A. E., & Rocha, L. C. D. (2006). Selectivity evaluation of insecticides used to control tomato pests to *Trichogramma pretiosum*. *BioControl*, *51*(6), 769–778. https://doi.org/10.1007/s10526-006-0001-x

- Orr, D. B., Boethel, D. J., & Blake Layton, M. (1989). Effect of Insecticide Applications in Soybeans on *Trissolcus basalis* (Hymenoptera: Scelionidae). *Journal of Economic Entomology*, 82(4), 1078–1084. https://doi.org/10.1093/jee/82.4.1078
- Paiva, A. C. R., Iost Filho, F. H., Parro, E. A., Barbosa, D. P. L., & Yamamoto, P. T. (2020). Do Ready-Mix Insecticides Cause Lethal and Sublethal Effects on *Trichogramma pretiosum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) Pupa? *Journal of Economic Entomology*, *113*(3), 1227–1233. https://doi.org/10.1093/jee/toaa031
- Paiva, A. C. Ribeiro, Beloti, V. H., & Yamamoto, P. T. (2018). Sublethal effects of insecticides used in soybean on the parasitoid *Trichogramma pretiosum*. *Ecotoxicology*, 27(4), 448–456. https://doi.org/10.1007/s10646-018-1909-5
- Parra, J. R. P., & Zucchi, R. A. (2004). Trichogramma in Brazil: feasibility of use after twenty years of research. *Neotropical Entomology*, *33*(3), 271–281. https://doi.org/10.1590/S1519-566X2004000300001
- Parsaeyan, E., Saber, M., Seyed, Safavi, A., Poorjavad, Nafiseh, & Biondi, A. (2020). Side effects of chlorantraniliprole, phosalone and spinosad on the egg parasitoid, *Trichogramma brassicae*. *Ecotoxicology*, 29,1052–1061. https://doi.org/10.1007/s10646-020-02235-y
- Preetha, G., Stanley, J., Suresh, S., Kuttalam, S., & Samiyappan, R. (2009). Toxicity of selected insecticides to *Trichogramma chilonis:* Assessing their safety in the rice ecosystem. *Phytoparasitica*, *37*(3), 209–215. https://doi.org/10.1007/s12600-009-0031-x
- Rakes, M., Pasini, R. A., Morais, M. C., Araújo, M. B., de Bastos Pazini, J., Seidel, E. J., Bernardi, D., & Grützmacher, A. D. (2021). Pesticide selectivity to the parasitoid *Trichogramma pretiosum:* A pattern 10-year database and its implications for Integrated Pest Management. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 208, 111504. https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2020.111504
- Romeis, J., Babendreier, D., Wäckers, F. L., & Shanower, T. G. (2005). Habitat and plant specificity of *Trichogramma* egg parasitoids Underlying mechanisms and implications. *Basic and Applied Ecology*. https://doi.org/10.1016/j.baae.2004.10.004
- Rugno, G. R., Rugno, Ohanna B. C., Qureshi, J. A., Stansly, P. A., & Yamamoto, P. T. (2021). Toxicity of imidacloprid, fenpropathrin, and dimethoate to *Ceraeochrysa cubana* (Neuroptera: Chrysopidae) through different exposure routes. *Crop Protection*, *146*, 105649. https://doi.org/10.1016/j.cropro.2021.105649
- Rumpf, S., Frampton, C., & Dietrich, D. R. (1998). Effects of Conventional Insecticides and Insect Growth Regulators on Fecundity and Other Life-Table Parameters of *Micromus tasmaniae* (Neuroptera: Hemerobiidae). In *J. Econ. Entomol* (Vol. 91, Issue 1). http://nbn-resolving.de/urn:nbn:de:bsz:352-opus-49689
- Saber, M. (2011). Acute and population level toxicity of imidacloprid and fenpyroximate on an important egg parasitoid, *Trichogramma cacoeciae* (Hymenoptera: Trichogrammatidae). *Ecotoxicology*, 20(6), 1476–1484. https://doi.org/10.1007/s10646-011-0704-3.
- Sattar, S., Arif, M., Sattar, H., & Qazi, J. I. (2011). Toxicity of some new insecticides against *Trichogramma chilonis* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) under laboratory and extended laboratory conditions. *Pakistan Journal of Zoology*, 43(6).

- Schneider, M., Smagghe, G., Pineda, S., & Viñuela, E. (2008). The ecological impact of four IGR insecticides in adults of *Hyposoter didymator* (Hym., Ichneumonidae): Pharmacokinetics approach. *Ecotoxicology*, 17(3), 181–188. https://doi.org/10.1007/s10646-007-0182-9
- Singh, P. P., & Varma, G. C. (1986). Comparative toxicities of some insecticides to *Chrysoperla carnea* (Chrysopidae: Neuroptera) and *Trichogramma brasiliensis* (Trichogrammatidae: Hymenoptera), two arthropod natural enemies of cotton pests. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 15(1), 23–30.
- Smith, S. M. (1996). Biological Control with *Trichogramma*: Advances, Successes, and Potential of Their Use. *Annual Review of Entomology*, 41(1), 375–406. https://doi.org/10.1146/annurev.en.41.010196.002111
- Soares, M. A., Leite, G. L. D., Zanuncio, J. C., Rocha, S. L., De Si, V. G. M., & Serro, J. E. (2007). Flight Capacity, Parasitism and Emergence of Five *Trichogramma* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) Species from Forest Areas in Brazil. In *Phytoparasitica* (Vol. 35, Issue 3). http://www.phytoparasitica.org
- Souza, B., Vázquez, C. L. L., & Marucci, R. C. (2019). Natural enemies of insect pests in neotropical agroecosystems: Biological control and functional biodiversity. In B. Souza, L. L. Vázquez, & R. C. Marucci (Eds.), *Natural Enemies of Insect Pests in Neotropical Agroecosystems: Biological Control and Functional Biodiversity*. Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-030-24733-1
- Souza, J. R., Carvalho, G. A., Moura, A. P., Couto, M. H. G., & Maia, J. B. (2013). Impact of insecticides used to control *Spodoptera frugiperda* (J.E. smith) in corn on survival, sex ratio, and reproduction of *Trichogramma pretiosum* riley offspring. *Chilean Journal of Agricultural Research*, 73(2), 122–127. https://doi.org/10.4067/S0718-58392013000200006
- Stark, J. D., & Banks, J. E. (2003). Population level effects of pesticides and other toxicants on arthropods. *Annual Review of Entomology*, 48(1), 505–519. https://doi.org/10.1146/annurev.ento.48.091801.112621
- Stein, C. P., & Parra, J. R. P. (1987). Uso da radiacao ultravioleta para inviabilizar ovos de *Anagasta kuehniella* (Zeller, 1879) visando estudos com *Trichogramma* spp. *Anais Da Sociedade Entomologica do Brasil*, 16(1), 229–233. https://bdpi.usp.br/single.php?_id=000762627
- Suh, C. P. C., ORR, D. B., & Van Duyn, J. (2000). Effect of insecticides on *Trichogramma exiguum* (Hymenoptera; Trichogrammatidae) preimaginal development and adult survival. *J. Econ. Entomol*, *93*, 577–583.
- Takada, Y., Kawamura, S., & Tanaka, T. (2000). Biological characteristics. Growth and development of the egg parasitoid *Trichogramma dendrolimi* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) on the cabbage armyworm *Mamestra brassicae* (Lepidoptera: Noctuidae). *Applied Entomology and Zoology*. https://doi.org/10.1303/aez.2000.369
- Theiling, K. M., & Croft, B. A. (1988). Pesticide side-effects on arthropod natural enemies: A database summary. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 21(3–4), 191–218. https://doi.org/10.1016/0167-8809(88)90088-6
- Varma, G. C., & Singh, P. P. (1987). Effect of insecticides on the emergence of *Trichogramma brasiliensis* [Hymenoptera: Trichogrammatidae] from parasitized host eggs. *Entomophaga*, 32(5), 443–448. https://doi.org/10.1007/BF02373512

- Vianna, U. R., Pratissoli, D., Zanuncio, J. C., Lima, E. R., Brunner, J., Pereira, F. F., & Serrão, J. E. (2009). Insecticide toxicity to *Trichogramma pretiosum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) females and effect on descendant generation. *Ecotoxicology*, *18*(2), 180–186. https://doi.org/10.1007/s10646-008-0270-5
- Wang, Y., Wu, C., Cang, T., Yang, L., Yu, W., Zhao, X., Wang, Q., & Cai, L. (2014). Toxicity risk of insecticides to the insect egg parasitoid *Trichogramma evanescens* Westwood (Hymenoptera: Trichogrammatidae). *Pest Management Science*, 70(3), 398–404. https://doi.org/10.1002/ps.3571
- Wang, Y., Chen, L., An, X., Jiang, J., Wang, Q., Cai, L., & Zhao, X. (2013). Susceptibility to selected insecticides and risk assessment in the insect egg parasitoid *Trichogramma confusum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae). *Journal of Economic Entomology*, *106*(1), 142–149. https://doi.org/10.1603/EC12313
- Wang, Y., Yu, R., Zhao, X., Chen, L., Wu, C., Cang, T., & Wang, Q. (2012). Susceptibility of adult *Trichogramma nubilale* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) to selected insecticides with different modes of action. *Crop Protection*, *34*, 76–82. https://doi.org/10.1016/j.cropro.2011.12.007
- Wobbrock, J. O., Findlater, L., Gergle, D., & Higgins, J. J. (2011, May). The aligned rank transform for nonparametric factorial analyses using only anova procedures. In *Proceedings* of the SIGCHI conference on human factors in computing systems (pp. 143-146).
- Youssef, A. I., Nasr, F. N., Stefanos, S. S., Elkhair, S. S. A., Shehata, W. A., Agamy, E., Herz, A., & Hassan, S. A. (2004). The side-effects of plant protection products used in olive cultivation on the hymenopterous egg parasitoid *Trichogramma cacoeciae* Marchal. *Journal of Applied Entomology*, 128(9–10), 593–599. https://doi.org/10.1111/j.1439-0418.2004.00892.x
- Zucchi, R. A., Querino, R. B., & Monteiro, R. C. (2010). Diversity and Hosts of *Trichogramma* in the New World, with Emphasis in South America. In *Egg Parasitoids in Agroecosystems with Emphasis on Trichogramma*. https://doi.org/10.1007/978-1-4020-9110-0_8

3. EFEITO LETAL E PERSISTÊNCIA DE INSETICIDAS SOBRE FOLHAS DE CITROS E CONSEQUÊNCIAS PARA *Trichogramma atopovirilia*

Resumo

Após a aplicação de um inseticida em campo é natural que ocorra a degradação do produto, e, com o passar do tempo, os insetos-praga e inimigos naturais são expostos a quantidades menores de resíduos do produto aplicado. No entanto, o resíduo do produto na planta, poderá causar efeitos nocivos aos organismos e mesmo as pequenas quantidades podem impactar o parasitoide T. atopovirilia e reduzir sua capacidade benéfica. Deste modo, objetivou-se com o presente estudo, analisar o efeito letal e a persistência de inseticidas sobre folhas de citros e os efeitos ao longo do tempo sobre T. atopovirilia. Discos de folhas de citros foram mergulhadas em caldas dos inseticidas bifentrina, beta-ciflutrina, diflubenzuron, malationa e tebufenozida, e após a secagem dos produtos sobre as folhas, fêmeas foram expostas por 24 horas. Para o teste de persistência, os mesmos inseticidas foram pulverizados sobre mudas de citros e aos 5, 15 e 30 dias após pulverização (DAP), foram coletadas folhas e realizada a exposição de fêmeas adultas de *T. atopovirilia*. Os inseticidas malationa, bifentrina e beta-ciflutrina ocasionaram a maior mortalidade dos insetos no experimento de efeito letal. Diflubenzuron e tebufenozida foram inócuos para T. atopovirilia. A classificação de persistência demonstrou que o inseticida malationa é levemente persistente e os demais produtos são de vida curta. Os resultados contribuem para o conhecimento dos intervalos adequados para a liberação de parasitoides quando cada inseticida é pulverizado. Apesar disso, ainda devem ser preconizados produtos seletivos como diflubenzuron e tebufenozida para uso em programas de MIP.

Palavras-chave: Controle biológico; Citros; Toxicidade residual

Abstract

After the application of an insecticide in the field, it is natural that degradation of the product occurs and over time, the pest insects and natural enemies are exposed to smaller amounts of residues of the applied product. However, the residue of the product in the plant may cause harmful effects to organisms, and even small amounts can impact the parasitoid T. atopovirilia and reduce its beneficial capacity. Thus, the present study aimed to analyze the lethal effect and persistence of insecticides on citrus leaves and the effects over time on T. atopovirilia. Discs of citrus leaves were dipped in broths of the insecticides bifenthrin, betacyfluthrin, diflubenzuron, malathion, and tebufenozide, and after drying the products on the leaves, females were exposed for 24 hours. For the persistence test, the same insecticides were sprayed on citrus seedlings, and at 5, 15, and 30 days after spraying (DAP), leaves were collected and adult females of T. atopovirilia were exposed. The insecticides malathion, bifenthrin, and beta-cyfluthrin caused the highest mortality of insects in the lethal effect experiment. Diflubenzuron and tebufenozide were harmless to T. atopovirilia. The persistence classification showed that the insecticide malathion is slightly persistent and the other products are short-lived. The results contribute to the knowledge of the appropriate intervals for parasitoid release when each insecticide is sprayed. Nevertheless, selective products such as diflubenzuron and tebufenozide should still be recommended for use in IPM programs.

Keywords: Biological control; Citrus; Residual toxicity;

3.1 Introdução

O impacto que um inseticida causa a uma população de organismos benéficos pode ser mensurado por sua persistência no ambiente, bem como sua toxicidade residual (Castilhos et al., 2019). Um dos primeiros itens a ser verificado ao iniciar a implantação de uma estratégia de manejo de pragas com o uso de controle biológico é conhecer a toxicidade dos inseticidas sobre as pragas e seus inimigos naturais (Morales et al., 2019).

Os parasitoides pertencentes a família Trichogrammatidae, dentre esses o gênero *Trichogramma*, são inimigos naturais suscetíveis à muitos produtos químicos utilizados nos ambientes agrícolas (Fontes et al., 2018; Hassan et al., 1998; Milonas et al., 2020; Vieira et al., 2001). Estas microvespas parasitam ovos de uma variedade de espécies de pragas nos cultivos agrícolas e são utilizados em muitos países para controle biológico de pragas de inúmeras culturas (Manzoni et al., 2007; Smith, 1996).

No Brasil, uma espécie de parasitoide de ovos que apresenta potencial para controle de lepidópteros e, especialmente, tortricídeos como *Gymnandrosoma aurantianum* Lima, 1927 (Lepidoptera: Tortricidae), é *Trichogramma atopovirilia* Oatman & Platner (Hymenoptera: Trichogrammatidae) (Molina, 2003). Esses insetos, assim como os demais indivíduos pertencentes a este gênero, são altamente efetivos no controle de pragas, pois, à partir do momento em que parasitam os ovos do hospedeiro e passam a se desenvolver, impedem a emergência do inseto-praga (Hassan, 1994; Jalali et al., 2016; Molina & Fronza, 2005).

No entanto, após passadas décadas desde que os inseticidas sintéticos passaram a ser utilizados nos agroecossistemas, pesquisas têm relatado efeitos negativos sobre os organismos benéficos (Brunner et al., 2001; Wang et al., 2012; Skouras et al., 2019; Sohail et al., 2019; Schäfer & Herz, 2020). Em condições de campo, sabe-se que com o passar do tempo após a aplicação do produto, ocorre a sua degradação e os inimigos naturais são expostos a quantidades menores de resíduos do inseticida anteriormente aplicado (Desneux et al., 2009; Gu et al., 2008; Ricupero et al., 2020; Sántis et al., 2012; Sharma et al., 2007). Estas quantidades menores podem não ocasionar a morte dos organismos, mas induzir efeitos subletais, como desordens fisiológicas ou comportamentais, as quais devem ser consideradas (Biondi, Mommaerts, et al., 2012; Desneux et al., 2007; Gu et al., 2008).

Alguns desses componentes químicos apresentam ação prolongada sobre os organismos, em que a persistência destes produtos faz com que os efeitos deletérios sejam registrados por um maior período de tempo, tanto para espécies de *Trichogramma* como para outros insetos benéficos (Hewa-Kapuge et al., 2003; Medina et al., 2012; Sattar et al., 2011; Wanumen et al., 2016). A avaliação prévia quanto aos riscos dos inseticidas para os agentes

de controle biológico é essencial para o desenvolvimento de um efetivo programa de Manejo Integrado de Pragas (MIP) (Passos et al., 2018). Um programa bem-sucedido de MIP deve levar em consideração a integração de produtos químicos com os agentes de controle biológico, porém utilizando produtos químicos que não afetam os inimigos naturais (Wright & Verkerk, 1995).

A maior causa de redução da eficiência de inimigos naturais no controle de pragas é decorrente da toxicidade aguda e/ou efeitos subletais provocados pelos produtos fitossanitários. Tais parâmetros, se avaliados previamente, podem prover informações acerca dos potenciais efeitos dos inseticidas em organismos não-alvo (Wang et al., 2012). Por esta razão, o emprego de produtos seletivos se faz necessário no manejo de pragas, utilizando aqueles que forem classificados como inócuos ou pouco nocivos aos organismos benéficos (Stark et al., 2007).

Morales et al. (2019) pontuam que a toxicidade do inseticida deve ser mensurada ao longo do tempo após a aplicação do produto, avaliando sua permanência, evolução e não apenas imediatamente após aplicado. Diante disto, o objetivo com o presente estudo foi analisar o efeito letal, o efeito subletal aos insetos sobreviventes, assim como a persistência dos inseticidas sobre folhas de citros e a letalidade destes produtos ao longo do tempo sobre *T. atopovirilia*.

3.2 Material e métodos

3.2.1 Criação de *Trichogramma atopovirilia* e inseticidas testados

O estudo foi conduzido no Laboratório de Manejo Integrado de Pragas e no Laboratório de Biologia de Insetos, ambos pertencentes ao Departamento de Entomologia e Acarologia da Universidade de São Paulo – USP, no Campus da Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" – ESALQ, localizado em Piracicaba - SP.

O parasitoide *T. atopovirilia* foi criado e multiplicado em ovos de *Ephestia kuehniella* Zeller, 1879 (Lepidoptera: Pyralidae), pois os ovos deste hospedeiro alternativo são os mais indicados para criação de espécies de *Trichogramma* em laboratório (Gomes, 1997; Parra & Zucchi, 2004) e estes foram obtidos a partir da criação de *E. kuehniella* existente no Laboratório de Biologia de Insetos da USP/ESALQ.

Os ovos do hospedeiro alternativo com até três dias de oviposição, foram inviabilizados sob luz germicida para posteriormente serem disponibilizados para parasitismo. A inviabilização foi realizada com base na metodologia proposta por Stein & Parra (1987), onde os ovos do hospedeiro com até três dias de oviposição, foram dispostos em tiras retangulares

de cartolina com dimensões 8,0 cm × 2,0 cm contendo fita adesiva de dupla face e expostos à luz germicida por um período de 45 minutos em uma distância de 15 cm da fonte de luz. Na extremidade das cartelas foram anotados os dados referentes a data de disponibilização para parasitismo.

As cartelas contendo os ovos inviabilizados do hospedeiro foram oferecidas aos adultos de T. atopovirilia para parasitismo por 24 horas e estes foram acondicionados em tubos de ensaio com dimensões de $8.0 \text{ cm} \times 2.5 \text{ cm}$ e mantidos em sala com condições controladas, 25 ± 2 °C, UR $70 \pm 10\%$ e fotofase de 14 horas.

Os inseticidas empregados nos experimentos para avaliação da seletividade ao parasitoide *T. atipovirilia* foram aqueles registrados para uso em pomares de citros para controle do bicho-furão-dos-citros [(*Gymnandrosoma aurantianum* Lima, 1927 (Lepidoptera: Tortricidae)].

Nos bioensaios, foram empregadas as doses máximas dos inseticidas, para que pudessem ser simuladas as piores condições as quais os insetos podem ser expostos. Estas doses são recomendadas pelo fabricante do produto comercial para cada 100 litros de calda, sendo elas: diflubenzuron [Dimilin® WP, 250 g (i.a.)/kg produto comercial - 25 g produto comercial (p.c.)/100 L de água], malationa [Malathion® 1000 EC, 1000 g (i.a.)/L produto comercial - 150 mL p.c./100 L], tebufenozida [Mimic® 240 SC, 240 g (i.a.)/L produto comercial - 50 mL p.c./100 L], bifentrina [Talstar® 100 EC, 100 g (i.a.)/L produto comercial - 7,5 mL p.c./100 L], beta-ciflutrina [Turbo® EC, 50 g (i.a.)/L produto comercial -12,5 mL p.c./100 L].

3.2.2 Efeito letal e subletais em *Trichogramma atopovirilia* após exposição a folhas de citros tratadas com inseticidas

Plantas de citros foram adquiridas em viveiro de mudas comercial, no tamanho e condições nutricionais adequadas para a condução dos experimentos em laboratório, as quais foram mantidas em casa de vegetação, onde eram irrigadas diariamente de maneira manual.

As folhas das plantas de citros foram seccionadas com o auxílio de um vazador metálico em discos de 4,0 cm de diâmetro. Os tratamentos foram compostos por 30 repetições cada, sendo cada repetição composta por um disco de folha de citros com uma fêmea de *T. atopovirilia*.

Os discos foram mergulhados por dois segundos nas caldas contendo os inseticidas testados em cada tratamento e em seguida dispostos para secar em temperatura ambiente por uma hora, ou até que o mesmo estivesse completamente seco. Em seguida, os discos foram

acondicionados em tubos de ensaio com dimensões de $8,0 \text{ cm} \times 2,5 \text{ cm}$ e uma fêmea do parasitoide foi introduzida para ser exposta ao inseticida por 24 horas. Como fonte de alimento ao inseto, foi fornecida uma gotícula de mel e esta foi disposta diretamente no vidro do tubo de ensaio.

Após 24 horas de exposição dos insetos as folhas tratadas, foi realizada a avaliação da mortalidade das fêmeas pertencentes as repetições de cada tratamento. A avaliação se deu por meio da contagem do número de insetos vivos e mortos, onde os vivos foram considerados aqueles que respondem ao estímulo do toque de um pincel de cerdas macias.

Como forma de avaliar a capacidade de parasitismo dos insetos sobreviventes, uma cartela contendo ovos inviabilizados do hospedeiro *E. kuehniella* foi oferecido para cada parasitoide por toda a sua vida, sendo substituída a cada 24 horas.

A porcentagem de emergência dos descendentes também foi avaliada através da contagem do número de ovos contendo orifícios de saída em relação ao número de ovos pretos (Degrande, 1990), e a razão sexual determinada por meio da análise das características das antenas dos indivíduos (Bowen & Stern, 1966).

A partir das cartelas provenientes do primeiro dia de parasitismo, 15 fêmeas da geração F₁ foram individualizadas a fim de avaliar a capacidade de parasitismo dos descendentes. Para estas, cartelas contendo ovos do hospedeiro alternativo com até três dias de oviposição, foram oferecidos diariamente ao longo de sua vida. Assim foi possível avaliar a capacidade de parasitismo e a longevidade da geração F₁.

A avaliação das cartelas com ovos parasitados se deu por meio da quantificação do número total de ovos, número de ovos parasitados, assim como a emergência dos indivíduos adultos da geração F₂, realizada através da contagem do número de ovos contendo orifícios de saída dos insetos e razão sexual destes descendentes. Segundo metodologia padrão proposta pela IOBC.

3.2.3 Teste de persistência

Com a finalidade de avaliar a persistência dos inseticidas nas folhas das plantas e seu efeito sobre *T. atopovirilia*, plantas de citros foram adquiridas em viveiro de mudas comercial, no tamanho e condições nutricionais adequadas para a condução dos experimentos em laboratório. As mesmas foram mantidas em casa de vegetação, onde eram irrigadas de maneira manual diariamente, evitando-se molhar as folhas que continham os resíduos do produto aplicado anteriormente.

Sobre cada planta, foi pulverizado com um borrifador de 2 litros um inseticida referente a um tratamento a ser testado. Duas plantas receberam pulverização do mesmo inseticida. A pulverização foi realizada até o ponto de escorrimento. Folhas destas plantas de citros foram coletadas após diferentes intervalos de aplicação dos produtos, com metodologia adaptada da IOBC, sendo elas: 5, 15 e 30 dias após a pulverização (DAP) para avaliação de persistência dos inseticidas sobre predadores e parasitoides (Sterk et al., 1999).

Os tratamentos foram compostos de 30 repetições cada, sendo que cada repetição foi constituída por uma fêmea e um disco de folha de citros. Os discos foram seccionados a partir de folhas de citros com diâmetro de 4,0 cm, com o auxílio de um vazador metálico. Em seguida, foram acondicionados em tubos de ensaio (8,0 cm × 2,5 cm) e uma fêmea do parasitoide foi introduzida, onde ficou confinada por 24 horas. Como fonte de alimento para o inseto, foi fornecida uma gotícula de mel e esta foi disposta diretamente no vidro do tubo de ensaio.

Após 24 horas de exposição dos insetos, foi realizada a avaliação para verificar a mortalidade das fêmeas expostas. O número de insetos vivos e mortos foi contado, sendo que os vivos foram considerados aqueles que responderam ao estímulo do toque de um pincel de cerdas macias.

As fêmeas sobreviventes tiveram sua capacidade de parasitismo avaliada. Para isso, uma cartela contendo ovos inviabilizados do hospedeiro *E. kuehniella* foi oferecido para cada parasitoide por toda a sua vida, sendo trocadas a cada 24 horas.

As cartelas com ovos parasitados foram avaliadas por meio da quantificação do número total de ovos, número de ovos parasitados, assim como a emergência dos descendentes da geração F₁, realizada pela contagem do número de ovos contendo orifícios de saída dos insetos e razão sexual dos mesmos.

A porcentagem de emergência dos descendentes foi avaliada por intermédio da contagem do número de ovos contendo orifícios de saída em relação ao número de ovos pretos (Degrande, 1990), enquanto a razão sexual foi determinada por meio da análise das características das antenas dos indivíduos (Bowen & Stern, 1966).

3.2.4 Classificação toxicológica dos inseticidas

Os produtos avaliados no experimento de efeito letal foram classificados de acordo com as categorias toxicológicas propostas pela IOBC/WPRS (*International Organization for Biological and Integrated Control/West Paleartic Regional Section*) em relação a mortalidade corrigida (Mc). As categorias são: Classe 1 = Inócuo (Mc < 25%), Classe 2 = Levemente

nocivo ($25 \le Mc < 50\%$), Classe 3 = Moderadamente nocivo ($50 \le Mc < 75\%$) e Classe 4 = Nocivo ($Mc \ge 75\%$) (Hassan, 1997). No teste de persistência, os produtos que ocasionaram redução da sobrevivência dos parasitoides em até 30%, foram classificados conforme a escala de persistência proposta pela IOBC/WPRS, que são: Classe 1 = Vida curta (< 5 dias), Classe 2 = Levemente persistente (5 - 15 dias), Classe 3 = Moderadamente persistente (15 - 30 dias) e Classe 4 = Persistente (> 30 dias) (Sterk et al., 1999).

3.2.5 Análises estatísticas

A probabilidade de mortalidade predita dos parasitoides adultos foi analisada em cada intervalo de tempo de exposição por meio de um modelo linear generalizado (GLM) com distribuição de erro binomial e função de ligação probit. Considerou-se o número de insetos mortos como a variável resposta (dependente); o tempo e os tratamentos (inseticidas e controle) foram incluídos como variáveis explicativas (independentes). A interação tratamentos*tempo também foi testada. Para tal, utilizaram-se os pacotes "visreg", "MASS", "ggplot2", "GGally" e "jtools". As análises estatísticas foram efetuadas por meio dos pacotes supracitados do software R 4.0.0 (R Development Core Team, 2020). Ainda, para avaliar a sobrevivência ao longo do tempo (dias) dos parasitoides adultos (F₀ e F₁) expostos aos resíduos dos inseticidas, foram utilizados os estimadores de Kaplan-Meier (método Log-Rank) e as curvas de sobrevivência foram comparadas pelo teste de Holm-Sidak (p<0,05), por meio do software SigmaPlot 12.3 (Systat Software, San Jose, CA, USA).

3.3 Resultados

3.3.1 Efeito letal

Os inseticidas malationa, bifentrina e beta-ciflutrina foram os produtos que ocasionaram maior mortalidade no experimento de efeito letal, estes inseticidas ocasionaram mortalidade de 93,33, 66,67 e 40,00% da população, respectivamente, e foram classificados como nocivo (classe 4), moderadamente nocivo (classe 3) e levemente nocivo (classe 2), respectivamente, enquanto diflubenzuron e tebufenozida foram classificados como inócuos (classe 1), pois não ocasionaram mortalidade das fêmeas maior que 25% (Tabela 1).

Além disso, todos os tratamentos apresentaram menor parasitismo de ovos que o tratamento controle, no entanto, apenas os tratamentos com os inseticidas piretroides, bifentrina e beta-ciflutrina, diferiram significativamente ($X^2 = 17,5$; g.l.= 5; p=0,0036) (Tabela 1).

A emergência da geração F₁ não foi reduzida nos tratamentos com aplicação de inseticidas, assim como a razão sexual destes parasitoides não foi modificada (Tabela 1).

Tabela 1. Mortalidade corrigida de fêmeas expostas a folhas tratadas com inseticidas, parasitismo de ovos pelas fêmeas sobreviventes, emergência dos adultos e classificação da IOBC, de acordo com a mortalidade ocasionada.

Tratamento	Mc (%)1	Parasitismo ³	Emergência³	Razão sexual³	Seletividade IOBC/WPRS
Controle	$0.00 \pm 0.00 e^2$	$40,63 \pm 2,98 a$	93,77 ± 1,32 a	$0,76 \pm 0,04$ a	
Diflubenzuron	$13,33 \pm 6,31 \text{ de}$	$28,84 \pm 2.66$ ab	$88,00 \pm 1,40 \text{ ab}$	$0,77 \pm 0,05 \text{ a}$	1
Malationa	93,33 ± 4,63 a	$28,57 \pm 8,93$ ab	80,30 ± 3,03 b	$0,75 \pm 0,10$ a	4
Tebufenozida	23,33 ± 7,85 d	$27,13 \pm 3,74$ ab	89,18 ± 1,53 ab	$0.83 \pm 0.02 \text{ a}$	1
Bifentrina	66,67 ± 8,75 b	21,47 ± 5,54 b	88,12 ± 2,43 ab	$0,74 \pm 0,08 \text{ a}$	3
Beta-ciflutrina	$40,00 \pm 6,10$ c	20,08 ± 3,50 b	89,49 ± 2,24 ab	$0.78 \pm 0.05 a$	2
g.1.	5	5	5	5	
X^2	76,72	17,5	16,13	2,13	
p	<0,001	0,0036	0,0065	0,8302	

¹Mortalidade corrigida de fêmeas de *Trichogramma atopovirilia* após exposição as folhas tratadas com inseticidas e classes de toxicidade segundo classificação proposta. ¹Mc: mortalidade corrigida segundo fórmula de Schneider-Orelli. ²Categorias toxicológicas propostas pela IOBC/WPRS: Classe 1 = Inócuo (Mc < 25%), Classe 2 = Levemente nocivo (25 ≤ Mc < 50%), Classe 3 = Moderadamente nocivo (50 ≤ Mc < 75%) e Classe 4 = Nocivo (Mc ≥ 75%). ²Mc corrigida pela fórmula de Schneider-Orelli (%).³ Análise de variâncias não-paramétrica de Kruskall-Wallis com Dunn e com correção de Bonferroni post-hoc (p<0,05).

A longevidade das fêmeas expostas aos inseticidas foi reduzida em decorrência desta exposição. Enquanto o tratamento controle apresentou tempo médio de sobrevivência de 8,86 dias, malationa, e bifentrina resultaram em 1,33 e 3,06 dias de sobrevivência de fêmeas. Diflubenzuron, beta-ciflutrina e tebufenozida apresentaram longevidade de fêmeas de 5,56, 5,43 e 6,40 dias ($X^2 = 63,88$; g.l. = 5; p <0,001) (Figura 1).

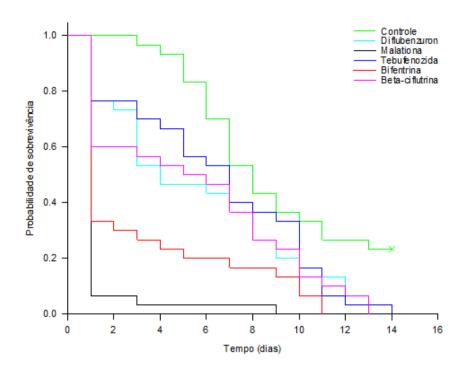


Figura 1. Curva de sobrevivência de fêmeas de *Trichogramma atopovirilia* expostas aos inseticidas em experimento de efeito letal.

3.3.2 Persistência

No experimento de persistência, o inseticida malationa ocasionou até a primeira avaliação após a pulverização do produto, a morte de 50% de fêmeas. Entretanto, até os 15 dias, na segunda avaliação, apresentou 17,24% de mortalidade e, em função desses resultados, foi classificado como levemente persistente (classe 2). Os demais produtos foram classificados como de vida curta (classe 1), devido ao fato de terem ocasionado a morte de fêmeas inferior a 30% aos 5 DAP (Tabela 2).

Os inseticidas tebufenozida, e diflubenzuron não apresentaram efeitos nocivos aos parasitoides, nestes tratamentos a mortalidade de fêmeas ficou abaixo de 15% na primeira avaliação de persistência e nos demais períodos apresentaram mortalidade menor que 5% (Figura 2). Além disso, estes produtos não apresentaram impactos negativos sobre a capacidade de parasitismo dos parasitoides ou emergência de adultos em decorrência da exposição (Tabela 3).

Tabela 2. Mortalidade corrigida de *Trichogramma atopovirilia* ao longo do tempo e classificação de persistência e seletividade de acordo com categorias propostas pela IOBC/WPRS.

<u> </u>	N	AP)		
Tratamento	5	15	30	Persistência IOBC/WPRS ²
Controle	0	0	0	0
Diflubenzuron	3,33	0,00	3,33	Vida curta
Malationa	50,00	17,24	16,66	Levemente persistente
Tebufenozida	0,00	0,00	3,33	Vida curta
Bifentrina	23,33	17,24	10,00	Vida curta
Beta-ciflutrina	26,66	13,79	6,66	Vida curta

 1 Mortalidade corrigida segundo fórmula de Schneider-Orelli. 2 Escala de persistência proposta pela IOBC/WPRS com base em mortalidade superior a 30% dos parasitoides: Classe 1 = Vida curta (<5 dias), Classe 2 = Levemente persistente (5 - 15 dias), Classe 3 = Moderadamente persistente (15 - 30 dias) e Classe 4 = Persistente (> 30 dias).

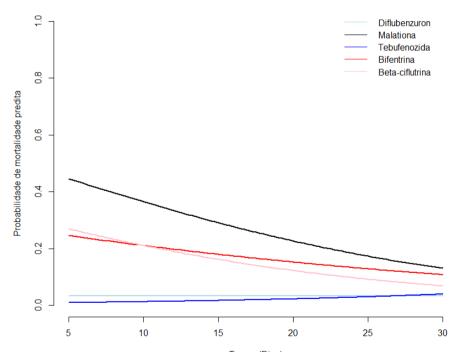


Figura 2. Mortandade predita de remeas de *Trichogramma atopovirua* ao iongo do tempo para cada inseticida testado.

Tabela 3. Capacidade de parasitismo de fêmeas de *Trichogramma atopovirilia* após exposição a folhas tratadas com inseticidas e emergência de adultos destes ovos parasitados ao longo do tempo.

Tratamento	5 DAP		15 DAP		30 DAP	
	Parasitismo	Emergência	Parasitismo	Emergência	Parasitismo	Emergência
Controle	$30,71 \pm 1,78 \text{ ab}$	$90,48 \pm 1,89 \text{ a}$	$29,41 \pm 2,76$ a	$86,98 \pm 1,79 \text{ a}$	$28,53 \pm 2,52$ a	$87,25 \pm 3,22 \text{ a}$
Diflubenzuron	$26,34 \pm 2,45 \text{ b}$	$93,20 \pm 1,41 \text{ a}$	$28,51 \pm 2,26 \text{ ab}$	$80,69 \pm 2,34$ a	$27,98 \pm 3,05 \text{ a}$	$92,04 \pm 1,75$ a
Malationa	$21,51 \pm 3,40 \text{ b}$	$94,24 \pm 1,55 a$	$23,16 \pm 2,01 \text{ b}$	$85,05 \pm 2,15$ a	$26,58 \pm 2,88 \text{ a}$	$90,98 \pm 1,78 \text{ a}$
Tebufenozida	$26,16 \pm 2,80 \text{ b}$	$95,50 \pm 1,15 \ a$	$26,34 \pm 2,36 \text{ ab}$	$82,58 \pm 2,57$ a	$26,20 \pm 2,36 \text{ a}$	$91,75 \pm 1,48 \text{ a}$
Bifentrina	$32,51 \pm 2,67$ a	$91,06 \pm 1,45 a$	$29,08 \pm 2,68$ a	$85,36 \pm 2,37$ a	$24,25 \pm 2,86$ a	91,94 ± 1,63 a
Beta-ciflutrina	$29,15 \pm 3,24$ ab	$94,44 \pm 1,44$ a	$28,77 \pm 2,08 \text{ a}$	$87,01 \pm 1,77 a$	$27,72 \pm 2,74$ a	$90,87 \pm 2,51$ a
g.1.	5	5	5	5	5	5
X^2	16,14	11,03	13,33	5,63	3,29	0,6
p	0,0065	0,0607	0,0204	0,343	0,6555	0,9880

Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente nas colunas pelo método Kruskal—Wallis com Dunn e com correção Bonferroni (p< 0.05)

3.4 Discussão

É devido aos efeitos observados em testes de toxicidade que se obtém embasamento suficiente acerca dos intervalos adequados para liberação de inimigos naturais no campo após a aplicação de um inseticida (Cheng et al., 2021).

Os resultados obtidos com o presente experimento demonstraram que, o inseticida bifentrina foi um dos produtos mais nocivos para as fêmeas de *T. atopovirilia*, e tais resultados foram semelhantes aos encontrados por Shankarganesh et al. (2013), quando testaram este produto sobre *Trichogramma chilonis* Ishii e *Trichogramma brasiliensis* Ashmead (Hymenoptera: Trichogrammatidae).

O inseticida beta-ciflutrina apresentou moderada seletividade aos parasitoides (classe 2), resultado que diferiu de outros autores como Carmo et al. (2010a), quando estudou a toxicidade deste inseticida sobre *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae) e concluiu que este produto foi inócuo a espécie por ele estudada. Além destes parasitoides, outros inimigos naturais, como *Telenomus podisi* (Hymenoptera: Platygastridae), estudado por Stecca et al. (2018) não sofreram impacto negativo devido a exposição a este inseticida e estes autores classificaram este produto como seletivo aos inimigos naturais, diferentemente do presente estudo.

Além disso, excetuando-se o inseticida malationa que foi classificado como levemente persistente (classe 2), todos os demais produtos testados têm baixa persistência ao longo do tempo (classe 1), sendo classificados como inseticidas de vida curta, uma vez que a mortalidade de insetos em decorrência da exposição ocorreu até os cinco dias após a pulverização dos produtos.

Os ingredientes ativos bifentrina e beta-ciflutrina são inseticidas pertencentes ao grupo químico dos piretroides, grupo que tem causado efeitos negativos sobre espécies de *Trichogramma* (Cheng et al., 2021). Este fato é confirmado por pesquisadores que estudaram diferentes espécies deste gênero, como *Trichogramma evanescens* Westowood (Wang et al., 2014), *Trichogramma brassicae* Bezdenko (Parsaeyan et al., 2018), *Trichogramma dendrolimi* Matsumura, *Trichogramma ostrininae* Pang et Chen e *Trichogramma chilonis* Ishii (Cheng et al., 2021); e também outros inimigos naturais como *Aphidius ervi* Haliday (Hymenoptera: Aphidiidae), *Telenomus busseolae* Gahan e *Telenomus remus* Nixon (Hymenoptera: Scelionidae) (Bayram et al., 2010; Carmo et al., 2010b; Delpuech et al., 2001; Desneux et al., 2004).

O mecanismo de ação dos piretroides permite que estes produtos sejam eficientes no controle de um amplo espectro de insetos e a atuação deste grupo químico está diretamente

associada a transmissões neurais. Estes produtos modificam os canais de sódio dos axônios, se ligando aos receptores de forma que mantém os canais abertos prolongadamente, provocando uma hiperpolarização da membrana e leva o inseto a um estado de hiperexcitação, paralisia e morte (Bloomquist, 1996; Soderlund, 2010; Wang et al., 2013).

No entanto, mesmo com a alta toxicidade dos piretroides, estes inseticidas apresentaram baixa persistência para *T. atopovirilia*. Este fato pode ser atribuído a fotodegradação do produto, pois as plantas utilizadas no presente estudo foram mantidas em casa de vegetação após a pulverização, onde recebiam luz solar, e uma vez que este grupo de inseticidas é rapidamente degradado no ambiente devido a radiação solar, justifica-se a baixa persistência observada (Liu et al., 2010).

Ainda que tenha ocorrido efeito negativo acentuado nos tratamentos com os inseticidas anteriormente citados, a maior toxicidade para as fêmeas foi registrada nos testes com malationa. A significativa mortalidade observada neste tratamento corrobora os resultados obtidos por Madhusudan & Bhushanam, (2020), que relataram a alta toxicidade deste organofosforado, e outros inseticidas deste mesmo grupo, sobre *T. chilonis*. No entanto, de maneira diferente, Momanyi et al. (2012) classificaram este inseticida como levemente nocivo para *Trichogramma* sp.

Malationa é altamente tóxico (nocivo) para os insetos devido a inibição da enzima acetilcolinesterase, que regula a transmissão do impulso nervoso (Souza et al., 2013). Este modo de ação do inseticida provoca um acúmulo de acetilcolina na sinapse e uma transmissão contínua de impulsos nervosos no indivíduo (Uma et al., 2014). O grupo químico ao qual pertence o inseticida malationa, os organofosforados, usualmente agem nos insetos por meio de contato ou ingestão e alguns produtos deste grupo apresentam forte efeito fumigante. Frequentemente, os organofosforados são classificados como mais tóxicos que os inseticidas piretroides.

Apesar disso, a mortalidade de fêmeas ao longo do tempo neste tratamento indicou que malationa foi um inseticida de vida curta (classe 1), diferente da classificação apresentada por Youssef et al. (2004), que em seus estudos o classificaram como moderadamente persistente (classe 3) ao expor *Trichogramma cacoeciae* Marchal (Hymenoptera: Trichogrammatidae).

É com base nos resultados aqui demonstrados e em estudos anteriores que verificaram que este inseticida não é compatível com *T. atopovirilia* e outras espécies do gênero como, *Trichogramma platneri* Nagarkatti, *T. chilonis* e *T. dendrolimi* (Brunner et al., 2001; Preetha et al., 2009; Suh et al., 2000; Takada et al., 2000), que seu uso deve ser substituído por produtos considerados seguros para compor programas de MIP.

Estudos como estes visam demonstrar quais produtos são mais compatíveis com os inimigos naturais e que devem ser indicados para uso quando há liberação de parasitoides, ou quando se busca a conservação dos organismos benéficos. É neste sentido que a avaliação de persistência é essencial, uma vez que este dado é a base da tomada de decisão acerca dos químicos mais indicados quando está sendo realizado o planejamento de programas de MIP (Castro et al., 2012).

Malationa, bifentrina e beta-ciflutrina provocaram efeitos nocivos para fêmeas de *T. atopovirilia* e sua aplicação em campo deve ser realizada mediante cuidadosa avaliação. A baixa persistência destes inseticidas não exclui o fato de que os riscos aos parasitoides, e outros insetos benéficos promovidos por estes produtos, é um fator a ser avaliado durante toda a época de produção na citricultura, uma vez que há inimigos naturais que estão presentes no ambiente durante todo o tempo, seja por meio de liberações, ou de forma natural (Colloff et al., 2013; Gómez-Marco et al., 2016; W. Zhang & Swinton, 2009).

Os inseticidas diflubenzuron e tebufenozida foram seletivos para as fêmeas de *T. atopovirilia*. Estes produtos são inseticidas reguladores de crescimento (RCI), onde o modo de ação do primeiro produto se dá por meio inibição da síntese de quitina, no qual desregula a formação do exosesqueleto do inseto após a muda, o que acaba por levá-lo a morte (Schneider et al., 2008); enquanto o segundo acelera o processo de ecdise do inseto, uma vez que age como agonista do ecdisona, o hormônio natural de muda destes indivíduos (Dhadialla et al., 1998; Stecca et al., 2018).

No estádio em que a espécie foi estudada neste experimento, com exposição de fêmeas adultas, não houve efeito negativo devido a atuação destes inseticidas no processo de desenvolvimento destes parasitoides. Estes produtos demonstraram ser seguros e os que menos ocasionaram impactos negativos aos insetos, além de terem apresentado baixa persistência, sendo considerados seletivos a este inimigo natural (Paiva et al., 2018; Theiling & Croft, 1988; Wang et al., 2012).

Os RCI's são rotineiramente apontados como pouco nocivos aos inimigos naturais e a classificação de seletividade dos inseticidas pertencentes a este grupo para espécies do gênero *Trichogramma* é tida como inócua, fato que confirma os resultados encontrados neste estudo (Hassan et al., 1998; Takada et al., 2000; Wang et al., 2012).

Os resultados encontrados possibilitarão uma tomada de decisão mais assertiva quanto aos inseticidas empregados para manejo de pragas, visto que os produtos com menores impactos negativos aos agentes de controle biológico são os mais apropriados para uso em programas de MIP.

Salienta-se que os experimentos descritos foram conduzidos sob condições de laboratório, nos quais os parasitoides foram expostos as doses máximas de cada inseticida, simulando as piores condições em que estes indivíduos poderiam ser expostos. Em condições de campo, é possível que os inseticidas provoquem menores efeitos sobre os inimigos naturais, uma vez que no ambiente natural estes indivíduos podem evitar as áreas tratadas e buscarem abrigo em locais sem aplicação de produtos. Além disso, a degradação do produto pela luz solar reduz drasticamente o impacto dos inseticidas, quando comparado com as condições de laboratório (Rocha & Carvalho, 2004).

3.5 Conclusões

Os dados do experimento de efeito letal demonstraram que o inseticida malationa não é compatível com *T. atopovirilia*, assim como bifentrina e beta-ciflutrina logo após a pulverização dos produtos nas plantas de citros, pois esta exposição leva os parasitoides a morte.

Além disso, mesmo que a persistência destes produtos tenha demonstrado ser baixa, os quais foram classificados como levemente persistente (malationa) e de vida curta (bifentrina e beta-ciflutrina), os organismos benéficos presentes naturalmente no ambiente também devem ser conservados. Em virtude disso, o ideal é que sejam empregados produtos comprovadamente inócuos, como diflubenzuron e tebufenozida, que foram considerados seletivos e não causam nenhum efeito negativo sobre parasitoides *T. atopovirilia*.

Referências

Bayram, A., Salerno, G., Onofri, A., & Conti, E. (2010). Lethal and sublethal effects of preimaginal treatments with two pyrethroids on the life history of the egg parasitoid *Telenomus busseolae*. *BioControl*, *55*(6), 697–710. https://doi.org/10.1007/s10526-010-9288-8

Biondi, A., Mommaerts, V., Smagghe, G., Viñuela, E., Zappalà, L., & Desneux, N. (2012). The non-target impact of spinosyns on beneficial arthropods. In *Pest Management Science* (Vol. 68, Issue 12, pp. 1523–1536). https://doi.org/10.1002/ps.3396

Bloomquist, J. R. (1996). Ion channels as targets for insecticides. *Annual Review of Entomology*, 41(1), 163–190. https://doi.org/10.1146/annurev.en.41.010196.001115

Bowen, W. R., & Stern, V. M. (1966). Effect of Temperature on the Production of Males and Sexual Mosaics in a Uniparental Race of *Trichogramma semifumatum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae)12. *Annals of the Entomological Society of America*, 59(4), 823–834. https://doi.org/10.1093/aesa/59.4.823

- Brunner, J. F., Dunley, J. E., Doerr, M. D., & Beers, E. H. (2001). Effect of pesticides on *Colpoclypeus florus* (Hymenoptera: Eulophidae) and *Trichogramma platneri* (Hymenoptera: Trichogrammatidae), parasitoids of leafrollers in Washington. *Journal of Economic Entomology*, 94(5), 1075–1084. https://doi.org/10.1603/0022-0493-94.5.1075.
- Carmo, E. L. do, Bueno, A. F., Bueno, R. C. O. F., Vieira, S. S., Goulart, M. M. P., & Carneiro, T. R. (2010a) a. Seletividade de produtos fitossanitários utilizados na cultura da soja para pupas de *Trichogramma pretiosum* riley, 1879 (Hymenoptera: Trichogrammatidae). *Arquivos Do Instituto Biológico*, 77(2), 283–290. https://doi.org/10.1590/1808-1657v77p2832010
- Carmo, E. L., Bueno, A. F., & Bueno, R. C. O. F. (2010b). Pesticide selectivity for the insect egg parasitoid *Telenomus remus*. *BioControl*, *55*(4), 455–464. https://doi.org/10.1007/s10526-010-9269-y
- Castilhos, R. V., Grützmacher, A. D., Krüger, L. R., Siqueira, P. R. B., & Moraes, Í. L. de. (2019). Persistence of insecticides used in peach orchards to larvae and adults of the predator *Chrysoperla externa* (Neuroptera: Chrysopidae). *Arquivos Do Instituto Biológico*, 86. https://doi.org/10.1590/1808-1657000312018
- Castro, A. A., Lacerda, M. C., Zanuncio, T. V., De S. Ramalho, F., Polanczyk, R. A., Serrão, J. E., & Zanuncio, J. C. (2012). Effect of the insect growth regulator diflubenzuron on the predator *Podisus nigrispinus* (Heteroptera: Pentatomidae). *Ecotoxicology*, 21(1), 96–103. https://doi.org/10.1007/s10646-011-0769-z
- Cheng, S., Lin, R., Yu, C., Sun, R., & Jiang, H. (2021). Toxic effects of seven pesticides to aphid parasitoid, *Aphidius gifuensis* (Hymenoptera: Braconidae) after contact exposure. *Crop Protection*, 145, 105634. https://doi.org/10.1016/j.cropro.2021.105634
- Colloff, M. J., Lindsay, E. A., & Cook, D. C. (2013). Natural pest control in citrus as an ecosystem service: Integrating ecology, economics and management at the farm scale. *Biological Control*, 67(2), 170–177. https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2013.07.017
- Degrande, P. E. (1990) Otimização e prática da metodologia da IOBC para avaliar o efeito de pesticidas sobre *Trichogramma cacoeciae* (Trichogrammatidae) e *Chrysoperla carnea* (Chrysopidae). Diss. Universidade de São Paulo.
- Delpuech, J. M., Legallet, B., & Fouillet, P. (2001). Partial compensation of the sublethal effect of deltamethrin on the sex pheromonal communication of *Trichogramma brassicae*. *Chemosphere*, 42(8), 985–991. https://doi.org/10.1016/S0045-6535(00)00110-7
- Desneux, N., Decourtye, A., & Delpuech, J. M. (2007). The sublethal effects of pesticides on beneficial arthropods. *Annual Review of Entomology*, *52*, 81–106. https://doi.org/10.1146/annurev.ento.52.110405.091440
- Desneux, N., Fauvergue, X., Dechaume-Moncharmont, F.-X., Kerhoas, L., Ballanger, Y., & Kaiser, L. (2009). *Diaeretiella rapae* limits *Myzus persicae* populations after applications of deltamethrin in oilseed rape. *Journal of Economic Entomology*, *98*(1), 9–17. https://doi.org/10.1603/0022-0493-98.1.9
- Desneux, N., Pham-Delègue, M. H., & Kaiser, L. (2004). Effects of sub-lethal and lethal doses of lambda-cyhalothrin on oviposition experience and host-searching behaviour of a parasitic wasp, *Aphidius ervi. Pest Management Science*, 60(4), 381–389. https://doi.org/10.1002/ps.822

- Dhadialla, T. S., Carlson, G. R., & Le, D. P. (1998). New insecticides with ecdysteroidal and juvenile hormone activity. *Annual Review of Entomology*, *43*(1), 545–569. https://doi.org/10.1146/annurev.ento.43.1.545
- Fontes, J., Roja, I. S., Tavares, J., & Oliveira, L. (2018). Lethal and sublethal effects of various pesticides on *Trichogramma achaeae* (Hymenoptera: Trichogrammatidae). *Journal of Economic Entomology*, 111(3), 1219–1226.
- Gomes, S. M. (1997). Comparação de três hospedeiros alternativos para criação e produção massal de *Trichogramma pretiosum* Riley, 1879. *Dissertação de Mestrado, Piracicaba, ESALQ, Universidade de São Paulo*, 106.
- Gómez-Marco, F., Urbaneja, A., & Tena, A. (2016). A sown grass cover enriched with wild forb plants improves the biological control of aphids in citrus. *Basic and Applied Ecology*, 17(3), 210–219. https://doi.org/10.1016/j.baae.2015.10.006
- Gu, X. Z., Zhang, G. Y., Chen, L., Dai, R. L., & Yu, Y. C. (2008). Persistence and dissipation of synthetic pyrethroid pesticides in red soils from the Yangtze River Delta area. *Environmental Geochemistry and Health*, *30*(1), 67–77. https://doi.org/10.1007/s10653-007-9108-y
- Hassan, S. A., Hafes, B., Degrande, P. E., & Herai, K. (1998). The side-effects of pesticides on the egg parasitoid *Trichogramma cacoeciae* Marchal (Hym., Trichogrammatidae), acute dose-response and persistence tests. *Journal of Applied Entomology*, *122*(9–10), 569–573. https://doi.org/10.1111/j.1439-0418.1998.tb01547.x
- Hassan SA. (1994). Guideline for the evaluation of side effects of plant protection product on Trichogramma cacoeciae. *IOBC WPRS BULLETIN*.
- Hewa-Kapuge, S., McDougall, S., & Hoffmann, A. A. (2003). Effects of Methoxyfenozide, Indoxacarb, and Other Insecticides on the Beneficial Egg Parasitoid *Trichogramma* nr. *brassicae* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) Under Laboratory and Field Conditions. *Journal of Economic Entomology*, 96(4), 1083–1090. https://doi.org/10.1093/jee/96.4.1083
- Jalali, S. K., Mohanraj, P., & Lakshmi, B. L. (2016). Trichogrammatids. In *Ecofriendly Pest Management for Food Security*. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-803265-7.00005-1
- Liu, P., Liu, Y., Liu, Q., & Liu, J. (2010). Photodegradation mechanism of deltamethrin and fenvalerate. *Journal of Environmental Sciences*, 22(7), 1123–1128. https://doi.org/10.1016/S1001-0742(09)60227-8
- Madhusudan S and Bhushanam M. (2020). Evaluation of selected insecticides on adults of Lepidopteron biocontrol egg parasitoid *Trichogramma chilonis* (Trichogrammatidae, Hymenoptera). *Journal of Entomology and Zoology Studies*, 8(5), 1037–1040. http://www.entomoljournal.com
- Manzoni, C., Grützmacher, A., Giolo, F., Härter, W., Castilhos, R., & Paschoal, M. (2007). Seletividade de Agroquímicos Utilizados na Produção Integrada de Maçã aos Parasitoides *Trichogramma pretiosum* Riley e *Trichogramma atopovirilia* Oatman & Platner (Hymenoptera: Trichogrammatidae) BioAssay. In *BioAssay* (Vol. 2, Issue 0). Sociedade Entomológica do Brasil. https://www.bioassay.org.br/bioassay/article/view/50/82
- Medina, P., Manzanares, G., Izarra, R., Adán, A., Smagghe, G., & Viñuela, E. (2012). Influence of insecticide persistence on the survival of the two braconid parasitoids *Chelonus inanitus* and *Aphidius ervi*. *Influence of Insecticide Persistence on the Survival of the Two Braconid Parasitoids Chelonus Inanitus and Aphidius Ervi.*, 80, 217–222.

- Milonas, P. G., Partsinevelos, G., & Kapranas, A. (2020). Susceptibility of different developmental stages of *Trichogramma* parasitoids to insecticides commonly used in the Mediterranean olive agroecosystem. *Bulletin of Entomological Research*. https://doi.org/10.1017/S0007485320000668
- Molina R.M.S., Fronza V. P. J. (2005). Seleção de *Trichogramma* spp., para o controle de *Ecdytolopha aurantiana*, com base na biologia e exigências térmicas. *Revista Brasileira de Entomologia*, 49(1), 152–158. https://kopernio.com/viewer?doi=10.1590/S0085-56262005000100018&route=7
- Momanyi, G., Maranga, R., Sithanantham, S., Agong, S., Matoka, C. M., & Hassan, S. A. (2012). Evaluation of persistence and relative toxicity of some pest control products to adults of two native *Trichogrammatid* species in Kenya. *BioControl*, *57*(5), 591–601. https://doi.org/10.1007/s10526-011-9434-y
- Morales, S. I., Martínez, A. M., Figueroa, J. I., Campos-García, J., Gómez-Tagle, A., Lobit, P., Smagghe, G., & Pineda, S. (2019). Foliar persistence and residual activity of four insecticides of different mode of action on the predator *Engytatus varians* (Hemiptera: Miridae). *Chemosphere*, 235, 76–83. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.06.163
- Paiva, A. C. R., Beloti, V. H., & Yamamoto, P. T. (2018). Sublethal effects of insecticides used in soybean on the parasitoid *Trichogramma pretiosum*. *Ecotoxicology*, 27(4), 448–456. https://doi.org/10.1007/s10646-018-1909-5
- Parra, J. R. P., & Zucchi, R. A. (2004). *Trichogramma* in Brazil: feasibility of use after twenty years of research. *Neotropical Entomology*, *33*(3), 271–281. https://doi.org/10.1590/S1519-566X2004000300001
- Parsaeyan, E., Safavi, S. A., Saber, M., & Poorjavad, N. (2018). Effects of emamectin benzoate and cypermethrin on the demography of *Trichogramma brassicae* Bezdenko. *Crop Protection*, 110, 269–274. https://doi.org/10.1016/j.cropro.2017.03.026
- Passos, L. C., Soares, M. A., Collares, L. J., Malagoli, I., Desneux, N., & Carvalho, G. A. (2018). Lethal, sublethal and transgenerational effects of insecticides on *Macrolophus basicornis*, predator of *Tuta absoluta*. *Entomologia Generalis*, *38*(2), 127–143. https://doi.org/10.1127/entomologia/2018/0744
- Preetha, G., Stanley, J., Suresh, S., Kuttalam, S., & Samiyappan, R. (2009). Toxicity of selected insecticides to *Trichogramma chilonis*: Assessing their safety in the rice ecosystem. *Phytoparasitica*, *37*(3), 209–215. https://doi.org/10.1007/s12600-009-0031-x
- R Development Core Team. (2020). R: A language and environment for statistical computing. Version 4.0.0. Vienna, Austria: R Foundation for Statistical Computing. Retrieved from https://www.R-project.org/
- Ricupero, M., Desneux, N., Zappalà, L., & Biondi, A. (2020). Target and non-target impact of systemic insecticides on a polyphagous aphid pest and its parasitoid. *Chemosphere*, 247, 125728. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.125728
- Rocha, L. C. D., & Carvalho, G. A. (2004). Adaptação da metodologia padrão da IOBC para estudos de seletividade com *Trichogramma pretiosum* Riley, 1879 (Hymenoptera: Trichogrammatidae) em condições de laboratório. *Acta Scientiarum. Agronomy*, 26(3). https://doi.org/10.4025/actasciagron.v26i3.1825

- Sántis, E. L., Hernández, L. A., Martínez, A. M., Campos, J., Figueroa, J. I., Lobit, P., Chavarrieta, J. M., Viñuela, E., Smagghe, G., & Pineda, S. (2012). Long-term foliar persistence and efficacy of spinosad against beet armyworm under greenhouse conditions. *Pest Management Science*, 68(6), 914–921. https://doi.org/10.1002/ps.3250
- Sattar, S., Arif, M., Sattar, H., & Qazi, J. I. (2011). Toxicity of some new insecticides against *Trichogramma chilonis* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) under laboratory and extended laboratory conditions. *Pakistan Journal of Zoology*, 43(6).
- Schäfer, Lea, and Annette Herz. (2020). Suitability of European *Trichogramma* species as biocontrol agents against the tomato leaf miner *Tuta absoluta*. *Insects* 11.6: 357.
- Schneider, M., Smagghe, G., Pineda, S., & Viñuela, E. (2008). The ecological impact of four IGR insecticides in adults of *Hyposoter didymator* (Hym., Ichneumonidae): Pharmacokinetics approach. *Ecotoxicology*, 17(3), 181–188. https://doi.org/10.1007/s10646-007-0182-9
- Shankarganesh, K., Paul, B., & Gautam, R D. (2013). Studies on Ecological Safety of Insecticides to Egg Parasitoids, *Trichogramma chilonis* Ishii and *Trichogramma brasiliensis* (Ashmead). https://doi.org/10.1007/s40009-013-0172-9
- Sharma, A., Srivastava, A., Ram, B., & Srivastava, P. C. (2007). Dissipation behaviour of spinosad insecticide in soil, cabbage and cauliflower under subtropical conditions. *Pest Management Science*, 63(11), 1141–1145. https://doi.org/10.1002/ps.1437
- Skouras P.J., Brokaki M., Stathas G.J., Demopoulos V., Louloudakis G., Margaritopoulos J.T. (2019) Lethal and sub-lethal effects of imidacloprid on the aphidophagous coccinellid *Hippodamia variegata*. Chemosphere 229:392–400
- Smith, S. M. (1996). Biological Control with *Trichogramma*: Advances, Successes, and Potential of Their Use. *Annual Review of Entomology*, *41*(1), 375–406. https://doi.org/10.1146/annurev.en.41.010196.002111
- Soderlund, D. M. (2010). Toxicology and Mode of Action of Pyrethroid Insecticides. In *Hayes' Handbook of Pesticide Toxicology* (pp. 1665–1686). Elsevier Inc. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-374367-1.00077-X
- Sohail, M., Khan, S. S., Muhammad, R., Soomro, Q. A., Asif, M. U., & Solangi, B. K. (2019). Impact of insect growth regulators on biology and behavior of *Chrysoperla carnea* (Stephens) (Neuroptera: Chrysopidae). *Ecotoxicology*, 28(9), 1115–1125. https://doi.org/10.1007/s10646-019-02114-1
- Souza, Jander R., et al. "Impact of insecticides used to control *Spodoptera frugiperda* (JE Smith) in corn on survival, sex ratio, and reproduction of *Trichogramma pretiosum* Riley offspring." *Chilean journal of agricultural research* 73.2 (2013): 122-127.
- Stark, J. D., Vargas, R., & Banks, J. E. (2007). Incorporating ecologically relevant measures of pesticide effect for estimating the compatibility of pesticides and biocontrol agents. *Journal of Economic Entomology*, 100(4), 1027–1032.
- Stecca, C. S., Bueno, A. F., Pasini, A., Silva, D. M., Andrade, K., & Zirondi Filho, D. M. (2018). Impact of Insecticides Used in Soybean Crops to the Egg Parasitoid *Telenomus podisi* (Hymenoptera: Platygastridae). *Neotropical Entomology*, 47(2), 281–291. https://doi.org/10.1007/s13744-017-0552-9

- Stein, C. P., & Parra, J. R. P. (1987). Uso da radiacao ultravioleta para inviabilizar ovos de *Anagasta kuehniella* (zeller, 1879) visando estudos com *Trichogramma* spp. *Anais Da Sociedade Entomologica Do Brasil*, *16*(1), 229–233. https://bdpi.usp.br/single.php?_id=000762627
- Sterk, G., Hassan, S. A., Baillod, M., Bakker, F., Bigler, F., Blümel, S., Bogenschütz, H., Boller, E., Bromand, B., Brun, J., Calis, J. N. M., Coremans-Pelseneer, J., Duso, C., Garrido, A., Grove, A., Heimbach, U., Hokkanen, H., Jacas, J., Lewis, G., ... Vogt, H. (1999). Results of the seventh joint pesticide testing programme carried out by the IOBC/WPRS-Working Group "Pesticides and Beneficial Organisms." *BioControl*, *44*(1), 99–117. https://doi.org/10.1023/A:1009959009802
- Suh, C. P. C., ORR, D. B., & Van Duyn, J. (2000). Effect of insecticides on *Trichogramma exiguum* (Hymenoptera; Trichogrammatidae) preimaginal development and adult survival. *J. Econ. Entomol*, *93*, 577–583.
- Takada, Y., Kawamura, S., & Tanaka, T. (2000). Biological characteristics. Growth and development of the egg parasitoid *Trichogramma dendrolimi* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) on the cabbage armyworm *Mamestra brassicae* (Lepidoptera: Noctuidae). *Applied Entomology and Zoology*. https://doi.org/10.1303/aez.2000.369
- Theiling, K. M., & Croft, B. A. (1988). Pesticide side-effects on arthropod natural enemies: A database summary. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 21(3–4), 191–218. https://doi.org/10.1016/0167-8809(88)90088-6
- Uma, S., Jacob, S., & Lyla, K. R. (2014). Acute contact toxicity of selected conventional and novel insecticides to *Trichogramma japonicum* Ashmead (Hymenoptera: Trichogrammatidae). In *Hymenopteran egg parasitoid JBiopest* (Vol. 5, Issue 1).
- Vieira, A., Oliveira, L., & Garcia, P. (2001). Effects of conventional pesticides on the preimaginal developmental stages and on adults of *Trichogramma cordubensis* (Hymenoptera: Trichogrammatidae). *Biocontrol Science and Technology*, 11(4), 527–534.
- Wang, Y., Chen, L., An, X., Jiang, J., Wang, Q., Cai, L., & Zhao, X. (2013). Susceptibility to selected insecticides and risk assessment in the insect egg parasitoid *Trichogramma confusum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae). *Journal of Economic Entomology*, *106*(1), 142–149. https://doi.org/10.1603/EC12313
- Wang, Y., Wu, C., Cang, T., Yang, L., Yu, W., Zhao, X., Wang, Q., & Cai, L. (2014). Toxicity risk of insecticides to the insect egg parasitoid *Trichogramma evanescens* Westwood (Hymenoptera: Trichogrammatidae). *Pest Management Science*, 70(3), 398–404. https://doi.org/10.1002/ps.3571
- Wang, Y., Yu, R., Zhao, X., Chen, L., Wu, C., Cang, T., & Wang, Q. (2012). Susceptibility of adult *Trichogramma nubilale* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) to selected insecticides with different modes of action. *Crop Protection*, *34*, 76–82. https://doi.org/10.1016/j.cropro.2011.12.007
- Wanumen, A. C., Carvalho, G. A., Medina, P., Viñuela, E., & Adán, Á. (2016). Residual acute toxicity of some modern insecticides toward two mirid predators of tomato pests. *Journal of Economic Entomology*, 109(3), 1079–1085. https://doi.org/10.1093/jee/tow059
- Wright, D. J., & Verkerk, R. H. J. (1995). Integration of chemical and biological control systems for arthropods: Evaluation in a multitrophic context. *Pesticide Science*, 44(3), 207–218. https://doi.org/10.1002/ps.2780440302

Youssef, A. I., Nasr, F. N., Stefanos, S. S., Elkhair, S. S. A., Shehata, W. A., Agamy, E., Herz, A., & Hassan, S. A. (2004). The side-effects of plant protection products used in olive cultivation on the hymenopterous egg parasitoid *Trichogramma cacoeciae* Marchal. *Journal of Applied Entomology*, 128(9–10), 593–599. https://doi.org/10.1111/j.1439-0418.2004.00892.x

Zhang, W., & Swinton, S. M. (2009). Incorporating natural enemies in an economic threshold for dynamically optimal pest management. *Ecological Modelling*, 220(9–10), 1315–1324. https://doi.org/10.1016/j.ecolmodel.2009.01.027

4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os testes de seletividade realizados demonstraram que os inseticidas testados, com exceção de diflubenzuron e tebufenozida, ocasionaram efeitos nocivos em algum estádio de desenvolvimento dos insetos. As classes propostas pela IOBC/WPRS nos diferentes testes, demonstraram não serem capazes de, isoladamente, determinar a seletividade de um inseticida, pois com base nas classificações, um mesmo inseticida pode ter diferentes classificações que variam de acordo com o teste realizado e o parâmetro avaliado.

Nos testes com fêmeas adultas, quando avaliada a capacidade de parasitismo, mortalidade nas 24 horas e nas 120 horas, malationa foi classificado como classe 2, classe 2 e classe 4, respectivamente; bifentrina, classe 4, classe 2 e classe 3; beta ciflutrina, classe 3, classe 2, e classe 3, e os inseticidas diflubenzuron e tebufenozida como classe (inócuo) em todos os experimentos.

O inseticida bifentrina, no experimento com pupas foi o único que ocasionou a redução de emergência, e de acordo com a classificação, foi considerado moderadamente nocivo, enquanto os demais produtos foram classificados como inócuos. No entanto, neste mesmo teste, o inseticida malationa, apesar de não reduzir a emergência de insetos, provocou a mortalidade de indivíduos assim que estes emergiram, fato que impossibilitou o estabelecimento da geração F₁. Apesar disso, este produto foi classificado como classe 1 (inócuo) neste estádio de desenvolvimento.

No experimento de efeito letal, resultados semelhantes aos anteriores foram encontrados, onde os inseticidas malationa, bifentrina e beta-ciflutrina foram classificados como nocivo (classe 4), moderadamente nocivo (classe 3) e levemente nocivo (classe 2), respectivamente. Diflubenzuron e tebufenozida foram classificados como inócuo (classe 1).

Apesar disso, nenhum dos inseticidas ocasionou efeitos deletérios após cinco dias da aplicação dos produtos, e assim, todos os inseticidas testados foram considerados como de vida curta. Deste modo, a liberação de insetos em campo, de acordo com estratégias de programas de MIP, é indicada aos cinco dias subsequentes da pulverização, especialmente para os inseticidas considerados nocivos em algum dos parâmetros avaliados.