



UNIVERSIDADE  
ESTADUAL DE LONDRINA

---

JUNIO TAVARES AMARO

**SELETIVIDADE DE PRODUTOS BIOLÓGICOS AOS  
PARASITOIDES *Trichogramma pretiosum*  
(HYMENOPTERA:  
TRICHOGRAMMATIDAE) E *Telenomus remus*  
(HYMENOPTERA: PLATYGASTRIDAE) EM LABORATÓRIO**

---

Londrina  
2013

JUNIO TAVARES AMARO

**SELETIVIDADE DE PRODUTOS BIOLÓGICOS AOS  
PARASITOIDES *Trichogramma pretiosum*  
(HYMENOPTERA:  
TRICHOGRAMMATIDAE) E *Telenomus remus*  
(HYMENOPTERA: PLATYGASTRIDAE) EM LABORATÓRIO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia, da Universidade Estadual de Londrina.

Orientador: Prof. Dr. Pedro Manuel Oliveira  
Janeiro Neves

Co-Orientador: Dr. Adeney de Freitas Bueno

Londrina  
2013

**Catálogo elaborado pela Divisão de Processos Técnicos da Biblioteca Central da  
Universidade Estadual de Londrina.**

**Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)**

A485s Amaro, Junio Tavares.  
Seletividade de produtos biológicos aos parasitoides *Trichogramma pretiosum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) e *Telenomus remus* (Hymenoptera: Platygasteridae) em laboratório / Junio Tavares Amaro.  
– Londrina, 2013.  
80 f.: il.

Orientador: Prof. Dr. Pedro Manuel Oliveira Janeiro Neves  
Co-Orientador: Dr. Adeney de Freitas Bueno

Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Estadual de Londrina, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Agronomia, 2013. Inclui bibliografia.

1. Produtos biológicos - Teses. 2. Inseticidas biológicos. 3. Parasitoides – Teses – 4. Himenóptero – Teses – Agentes no controle biológico de pragas – Teses. I. Neves, Pedro Manuel Oliveira Janeiro. II Bueno, Adeney de Freitas. III. Universidade Estadual de Londrina, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Agronomia. IV. Título.

CDU 632 937

JUNIO TAVARES AMARO

**SELETIVIDADE DE PRODUTOS BIOLÓGICOS AOS PARASITÓIDES**

***Trichogramma pretiosum* (HYMENOPTERA:**

TRICHOGRAMMATIDAE) E *Telenomus remus* (HYMENOPTERA:

PLATYGASTRIDAE) EM LABORATÓRIO

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia, da Universidade Estadual de Londrina.

**BANCA EXAMINADORA**

---

Dr. Adeney de Freitas Bueno  
EMBRAPA-Soja – Londrina – PR

---

Profa. Dra. Michele Potrich  
UTFPR – Curitiba – PR

---

Prof. Dr. Ayres de Oliveira Menezes Júnior  
UEL – Londrina - PR

---

Profa. Dra. Beatriz Spalding Corrêa Ferreira  
FUNCREDI – Brasília - DF

---

Prof. Dr. Amarildo Pasini  
UEL – Londrina - PR

---

Orientador Prof. Dr. Pedro M. O. J. Neves  
UEL – Londrina - PR

Londrina, 28/02/2013

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço à minha família, pela minha educação, pelo suporte, carinho, pela dedicação que tiveram comigo, principalmente nos momentos mais difíceis.

Aos meus amigos, o que eu chamo de família escolhida por mim, pelos momentos de descontração e alegria e pelo companheirismo.

Ao professor Dr. Pedro Neves por estar me orientando por mais de 6 anos, e pela oportunidade de ingressar na pesquisa agrícola.

Ao Dr. Adeney por ter me dado a oportunidade de executar os experimentos na EMBRAPA, e pela orientação neste trabalho.

Gostaria de agradecer também à Aline que ajudou e muito na execução dos experimentos e na escrita dos artigos.

À Capes pela concessão da bolsa de estudos.

Enfim, gostaria de agradecer à todas as pessoas que direta ou indiretamente ajudaram na execução deste trabalho, sejam técnicos de laboratório, estagiários pelo auxílio na execução dos trabalhos.

Se a um homem é oferecido um fato que vai contra seus instintos, ele o examinará minuciosamente e, a não ser que a evidência seja esmagadora, se recusará a acreditar nele. Se, por outro lado, é oferecido algo que constitui uma razão para agir de acordo com seus instintos, ele o aceitará mesmo sob a mais tênue evidência. A origem dos mitos pode ser assim explicada.

Bertrand Arthur Willian Russell

AMARO, Junio Tavares. **Seletividade de produtos biológicos aos parasitoides *Trichogramma pretiosum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) e *Telenomus remus* (Hymenoptera: Platygasteridae) em laboratório.** 2013. 80f. Dissertação de Mestrado em Agronomia – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2013.

## RESUMO

O objetivo deste trabalho foi avaliar a seletividade de entomopatógenos a duas espécies de parasitoides de ovos, *Trichogramma pretiosum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) e *Telenomus remus* (Hymenoptera: Platygasteridae). Foi utilizada para isso a metodologia proposta pelo Grupo de Trabalho de Pesticidas e Organismos Benéficos da Organização Internacional para o Controle Biológico (IOBC – International Organization for Biological Control) para estudos de seletividade de agrotóxicos a *Trichogramma cacoeciae* (Marchal), com as modificações necessárias. Os entomopatógenos avaliados foram, o baculovirus anticarsia (Baculovirus AEE<sup>®</sup>), *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* (Thuricide<sup>®</sup>), *Bacillus thuringiensis* var. *aizawai* (Agree<sup>®</sup>), *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* (Dipel<sup>®</sup>), *Beauveria bassiana* (Boveril<sup>®</sup>), *Metarhizium anisopliae* (Metarril<sup>®</sup>) e *Trichoderma harzianum* (Trichodermil<sup>®</sup>), ainda houve uma testemunha positiva com inseticida (clorpirifós) e testemunha negativa (água). Para as duas espécies de parasitoide os entomopatógenos foram de forma geral inócuos. Porém para *T. remus*, *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* (Dipel<sup>®</sup>) diminuiu o parasitismo no segundo dia de avaliação em dois experimentos e foi classificado como levemente nocivo, mas se comparado ao inseticida, que foi classificado como nocivo ou moderadamente nocivo em todas as características estudadas, seu efeito negativo ainda pode ser considerado pequeno. Ovos de *Anagasta kuehniella* pulverizados com baculovirus anticarsia (Baculovirus AEE<sup>®</sup>) e oferecidos a *T. pretiosum* tiveram menor viabilidade do que os não pulverizados, mas ainda assim tiveram viabilidade acima de 90%. O clorpirifós causou mortalidade e inviabilidade de ovos em todos os experimentos, contrastando dessa maneira com os entomopatógenos. Podemos então, concluir que é possível utilizar entomopatógenos e esses parasitoides em conjunto no manejo integrado de pragas, e é importante que se evite o uso de clorpirifós em conjunto com esses parasitoides sempre que possível.

**Palavras-chave** *Bacillus thuringiensis*. Baculovirus anticarsia. *Beauveria bassiana*. *Metarhizium anisopliae*. *Trichoderma harzianum*.

AMARO, Junio Tavares. **Biological products selectivity to the parasitoids *Trichogramma pretiosum* (Hymenoptera: trichogrammatidae) and *Telenomus remus* (Hymenoptera: Platygasteridae) in laboratory.** 2013. 80f. Dissertação de Mestrado em Agronomia – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2013.

## ABSTRACT

This work objective was to evaluate the entomopathogen selectivity to two egg parasitoid species, *Trichogramma pretiosum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) and *Telenomus remus* (Hymenoptera: Platygasteridae). In order to assess it we have used the methodology of Pesticides Work Group of the International Organization of Beneficial Organisms for Biological Control (IOBC – International Organization for Biological Control) design to study pesticides selectivity to *Trichogramma cacoeciae* (Marchal), with the needed changes. The entomopathogens assessed were, baculovirus anticarsia (Baculovirus AEE<sup>®</sup>), *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* (Thuricide<sup>®</sup>), *Bacillus thuringiensis* var. *aizawai* (Agree<sup>®</sup>), *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* (Dipel<sup>®</sup>), *Beauveria bassiana* (Boveril<sup>®</sup>), *Metarhizium anisopliae* (Metarril<sup>®</sup>) and *Trichoderma harzianum* (Trichodermil<sup>®</sup>), there were also an insecticide positive control (clorpirifós) and a negative control (water). For both parasitoid species the entomopathogens were generally harmless. But to *T. remus*, *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* (Dipel<sup>®</sup>) made the parasitism lower at the second evaluation day of two bioassays, therefore been classified as slightly harmful. But if compared to the insecticide, which was moderately harmful and harmful in all studied characteristics, its effect is considered very low. Eggs of *Anagasta kuehniella* sprayed with baculovirus anticarsia (Baculovirus AEE<sup>®</sup>) and offered to *T. pretiosum* had less egg viability than the non-sprayed, and yet had viability above 90%. Clorpirifós have caused mortality of parasitoids adults and pupae in all bioassays, this way being very different from the entomopathogens. We can say then that it is possible to use this two control methods, entomopathogens and parasitoids, at the same time in integrated pest management. And it is also important that we avoid using clorpirifós and parasitoids at the same time to insect control as often as possible.

**Key words** *Bacillus thuringiensis*. Baculovirus anticarsia. *Beauveria bassiana*. *Metarhizium anisopliae*. *Trichoderma harzianum*.

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 4.1</b> Tratamentos avaliados para seletividade ao parasitoide de ovos <i>Trichogramma pretiosum</i> em condições controladas de laboratório e dose comercial dos produtos.....	40
<b>Tabela 4.2</b> Efeito de diferentes entomopatógenos sobre pupas de <i>Trichogramma pretiosum</i> (Hymenoptera: Trichogrammatidae), um e cinco dias após a emergência (DAE) dos adultos oriundos de ovos de <i>A. kuehniella</i> tratados quando o parasitoide se encontrava no estágio de pupa (bioensaio com pupas) ou da geração F <sub>1</sub> .....	45
<b>Tabela 4.3</b> Classificação da seletividade dos entomopatógenos a <i>Trichogramma pretiosum</i> (Hymenoptera: Trichogrammatidae) segundo a “International Organisation for Biological Control” (IOBC) em diferentes bioensaios e dias após a emergência do adulto (DAE) ou dias após a pulverização (DAP).....	46
<b>Tabela 4.4</b> Efeito de diferentes entomopatógenos sobre adultos de <i>Trichogramma pretiosum</i> (Hymenoptera: Trichogrammatidae), um e cinco dias após a emergência (DAE) dos adultos oriundos de ovos de <i>A. kuehniella</i> tratados.....	47
<b>Tabela 4.5</b> Parasitismo e viabilidade do parasitismo (Média ± EP) de <i>Trichogramma pretiosum</i> (Hymenoptera: Trichogrammatidae) em ovos de <i>Anagasta kuehniella</i> (Lepidoptera: Noctuidae) pulverizados com diferentes entomopatógenos, com chance de escolha, em dias após a pulverização (DAP).....	48
<b>Tabela 4.6</b> Parasitismo e a viabilidade do parasitismo (Média ± EP) de <i>Trichogramma pretiosum</i> (Hymenoptera: Trichogrammatidae) em ovos de <i>Anagasta kuehniella</i> (Lepidoptera: Noctuidae) pulverizados com diferentes entomopatógenos, sem chance de escolha, em dias após a pulverização (DAP).....	49
<b>Tabela 5.1</b> Tratamentos avaliados para seletividade ao parasitoide de ovos <i>Telenomus remus</i> em condições controladas de laboratório e dose comercial do produto.....	61

<b>Tabela 5.2</b> Efeito de diferentes entomopatógenos sobre pupas de <i>Telenomus remus</i> (Hymenoptera: Platygasteridae), diferentes dias após a emergência (DAE) dos adultos oriundos de ovos de <i>S. frugiperda</i> tratados quando o parasitoide se encontrava no estágio de pupa (bioensaio com pupas) ou da geração F <sub>1</sub> .....	67
<b>Tabela 5.3</b> Classificação da seletividade dos entomopatógenos a <i>Telenomus remus</i> (Hymenoptera: Platygasteridae) segundo a “International Organization for Biological Control” (IOBC) em diferentes bioensaios e dias após a emergência do adulto (DAE) ou dias após a pulverização (DAP).....	68
<b>Tabela 5.4</b> Efeito de diferentes entomopatógenos sobre adultos de <i>Telenomus remus</i> (Hymenoptera: Platygasteridae), diferentes dias após a emergência (DAE) dos adultos oriundos de ovos de <i>S. frugiperda</i> tratados .....	69
<b>Tabela 5.5</b> Parasitismo e a viabilidade do parasitismo (Média ± EP) de <i>Telenomus remus</i> (Hymenoptera: Platygasteridae) em ovos de <i>Spodoptera frugiperda</i> (Lepidoptera: Noctuidae) pulverizados com diferentes entomopatógenos, com chance de escolha, um e dois dias após a pulverização (DAP).....	71
<b>Tabela 5.6</b> Parasitismo e a viabilidade do parasitismo (Média ± EP) de <i>Telenomus remus</i> (Hymenoptera: Platygasteridae) em ovos de <i>Spodoptera frugiperda</i> (Lepidoptera: Noctuidae) pulverizados com diferentes entomopatógenos, sem chance de escolha, um e dois dias após a pulverização (DAP).....	72

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 4.1</b> Foto das gaiolas propostas pela metodologia proposta por Hassan (1992).....	42
<b>Figura 5.1</b> Foto das gaiolas propostas pela metodologia proposta por Hassan (1992).....	63

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	13
<b>2 REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	14
2.1 PARASITOIDES .....	14
2.1.1 <i>Trichogramma Pretiosum</i> .....	14
2.1.2 <i>Telenomus Remus</i> .....	16
2.2 ENTOMOPATÓGENOS .....	18
2.2.1 <i>Bacillus Thuringiensis</i> .....	18
2.2.2 <i>Beauveria Bassiana</i> .....	20
2.2.3 <i>Metarhizium Anisopliae</i> .....	21
2.2.4 Baculovirus Anticarsia .....	22
2.2.5 <i>Trichoderma Harzianum</i> .....	23
2.3 INTERAÇÃO ENTRE PARASITOIDES E ENTOMOPATÓGENOS .....	24
2.4 IMPORTÂNCIA DOS ESTUDOS DE SELETIVIDADE .....	25
<b>3 REFERÊNCIAS</b> .....	27
<b>4 ARTIGO A: SELETIVIDADE DE PRODUTOS BIOLÓGICOS A</b> <b><i>Trichogramma pretiosum</i> (HYMENOPTERA:</b> <b>TRICHOGRAMMATIDAE) EM LABORATÓRIO</b> .....	36
4.1 INTRODUÇÃO.....	38
4.2 MATERIAL E MÉTODOS.....	39
4.2.1 Criação De Manutenção Do Hospedeiro <i>Anagasta Kuehniella</i> (Zeller, 1879) (Lepidoptera: Pyralidae) E Do Parasitoide De Ovos <i>Trichogramma</i> <i>Pretiosum</i> Riley, 1879 (Hymenoptera: Trichogrammatidae).....	40
4.2.2 Bioensaio 1: Entomopatógenos Pulverizados Sobre Pupas De <i>T. Pretiosum</i> ...	41
4.2.3 Bioensaio 2: Entomopatógenos Pulverizados Sobre A Superfície De Caminhamento Dos Adultos De <i>T. Pretiosum</i> .....	42
4.2.4 Bioensaio 3: Entomopatógenos Pulverizados Sobre Os Ovos Do Hospedeiro Em Testes Com Chance De Escolha Para O Parasitismo De <i>T. Pretiosum</i> .....	43

4.2.5Bioensaio 4: Entomopatógenos Pulverizados Sobre Os Ovos Do Hospedeiro Em Testes Sem Chance De Escolha Para O Parasitismo De <i>T. Pretiosum</i> .....	44
4.3RESULTADOS .....	44
4.3.1Bioensaio 1: Entomopatógenos Pulverizados Sobre Pupas De <i>T. Pretiosum</i> ...	44
4.3.2Bioensaio 2: Entomopatógenos Pulverizados Sobre A Superfície De Caminhamento Dos Adultos De <i>T. Pretiosum</i> .....	46
4.3.3Bioensaio 3: Entomopatógenos Pulverizados Sobre Os Ovos Do Hospedeiro Em Testes Com Chance De Escolha Para O Parasitismo De <i>T. Pretiosum</i> .....	47
4.3.4Bioensaio 4: Entomopatógenos Pulverizados Sobre Os Ovos Do Hospedeiro Em Testes Sem Chance De Escolha Para O Parasitismo De <i>T. Pretiosum</i> .....	48
4.4DISCUSSÃO.....	50
4.5CONCLUSÃO .....	53
4.6REFERÊNCIAS .....	53

**5 ARTIGO B: SELETIVIDADE DE PRODUTOS BIOLÓGICOS AO PARASITOIDE DE OVOS *Telenomus remus* (HYMENOPTERA: PLATYGASTRIDAE) EM LABORATÓRIO.....**

5.1INTRODUÇÃO.....	59
5.2MATERIAL E MÉTODOS.....	60
5.2.1Criação Do Hospedeiro <i>S. Spodoptera</i> E Do Parasitoide <i>T. Remus</i> .....	61
5.2.2Bioensaio 1: Entomopatógenos Pulverizados Sobre Pupas De <i>T. Remus</i> .....	62
5.2.3Bioensaio 2: Entomopatógenos Pulverizados Sobre A Superfície De Caminhamento Dos Adultos De <i>T. Remus</i> .....	63
5.2.4Bioensaio 3: Entomopatógenos Pulverizados Sobre Ovos Do Hospedeiro Em Testes Com Chance De Escolha Para O Parasitismo De <i>T. Remus</i> .....	64
5.2.5Bioensaio 4: Entomopatógenos Pulverizados Sobre Ovos Do Hospedeiro Em Testes Sem Chance De Escolha Para O Parasitismo De <i>T. Remus</i> .....	65
5.3RESULTADOS .....	65
5.3.1Bioensaio 1: Entomopatógenos Pulverizados Sobre Pupas De <i>T. Remus</i> .....	65

5.3.2Bioensaio 2: Entomopatógenos Pulverizados Sobre A Superfície De Caminhamento Dos Adultos De <i>T. Remus</i> .....	68
5.3.3Bioensaio 3: Entomopatógenos Pulverizados Sobre Ovos Do Hospedeiro Em Testes Com Chance De Escolha Para O Parasitismo De <i>T. Remus</i> .....	69
5.3.4Bioensaio 4: Entomopatógenos Pulverizados Sobre Os Ovos Do Hospedeiro Em Testes Sem Chance De Escolha Para O Parasitismo De <i>T. Remus</i> .....	71
5.4DISCUSSÃO.....	73
5.5CONCLUSÃO .....	76
5.6REFERÊNCIAS .....	77
<b>6 CONSIDERAÇÕES FINAIS .....</b>	<b>80</b>

## 1 INTRODUÇÃO

O controle de pragas na agricultura brasileira é feito, na maioria dos casos, com o uso exclusivo de inseticidas químicos, muitas vezes utilizados de forma abusiva, o que traz efeitos negativos em relação à saúde humana, eliminação de agentes de controle biológico, aumento do custo de produção, entre outros (LOGUERCIO et al., 2002). Nesse sentido o manejo integrado de pragas (MIP) é uma alternativa viável, pois propõe o uso conjunto de várias formas de controle incluindo, o controle biológico (VAN LENTEREN; BUENO, 2003), com o objetivo de manter a população da praga abaixo do nível de dano econômico e causar o menor dano possível aos inimigos naturais de insetos-praga e ao ambiente. Assim, o controle biológico é de grande valia, para a sustentabilidade do sistema produtivo agrícola (MAGALHÃES; MONNERAT; ALVES, 1998).

Entre os diferentes agentes de controle biológico, estão os entomopatógenos e os parasitoides. Eles têm vantagens, quando comparados aos inseticidas, causam menos danos aos seres humanos ou ao meio-ambiente. Os entomopatógenos como vírus e bactérias são muito específicos, causam doenças em poucas espécies de insetos (ALVES, 1998). Os parasitoides de ovos parasitam e matam o hospedeiro antes deles causarem qualquer dano a planta (FIGUEIREDO, 1998). Apesar da eficiência comprovada desses agentes quando utilizados isoladamente, em programas de controle biológico aplicado, muitas vezes, a utilização conjunta de dois ou mais inimigos naturais, como entomopatógenos e parasitoides, por exemplo, pode ser necessária (MAGALHÃES; MONNERAT; ALVES, 1998), até mesmo devido a ocorrência conjunta de mais de uma espécie de praga alvo.

Nesse contexto, a utilização de entomopatógenos e parasitoides em conjunto para controlar uma determinada praga ou pragas de uma determinada cultura, fazendo com que os efeitos dessas táticas de controle biológico se somem, tem importante valor prático (MAGALHÃES; MONNERAT; ALVES, 1998). Porém, há a possibilidade de que os entomopatógenos interfiram negativamente no comportamento e eficiência dos parasitoides de ovos, ou até mesmo os infectando diretamente (MAGALHÃES; MONNERAT; ALVES, 1998). Assim, esse trabalho teve por objetivo avaliar a seletividade de entomopatógenos aos parasitoides, e a influência dos entomopatógenos no comportamento desses.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 PARASITOIDES

Os parasitoides são agentes de controle biológico que têm pelo menos uma fase de seu desenvolvimento associada ao hospedeiro, do qual se alimenta, completando o seu ciclo de vida (BUENO et al., 2012). Esses insetos podem ser himenópteros ou dípteros e parasitam ovos, larvas, pupas e adultos de outros insetos, necessitando de um único hospedeiro para completar seu desenvolvimento juvenil. Quando adultos, de vida livre, têm capacidade de se adaptarem ao meio-ambiente e, geralmente, parasitam poucas espécies hospedeiras. Os parasitoides aumentam a sua população em função da população hospedeira, tem capacidade de encontrar os hospedeiros por si mesmos, e de sobreviver em períodos de entressafra (PARRA et al., 2002).

#### 2.1.1 *Trichogramma Pretiosum*

Os microhimenópteros do gênero *Trichogramma* (Hymenoptera: Trichogrammatidae), quando na fase jovem, desenvolvem-se dentro do ovo do hospedeiro, utilizando-o também como alimento além de abrigo. Na fase adulta, de vida livre, esses insetos tem tamanho entre 0,2 e 1,5 mm se alimentando de néctar e exsudatos do hospedeiro e da planta. Cada fêmea adulta, oviposita normalmente um ovo no interior do ovo hospedeiro, podendo ovipositar de 20 a 120 ovos ao longo de sua vida. Esses ovos recém ovipositados demoram para chegar a fase adulta, de seis a 10 dias dependendo de temperatura, ambiente e hospedeiro (PINTO, 1997; BUENO; PARRA; BUENO, 2009; BUENO; PARRA; BUENO, 2012b). É possível saber se um ovo foi parasitado por *Trichogramma* spp. quando o parasitoide está na fase de pré-pupa, pois os sais de urato depositados no córion do ovo o torna enegrecido (CÔNSOLI; ROSSI; PARRA, 1999). O macho e a fêmea de *Trichogramma* spp. recém emergidos dos ovos hospedeiros podem ser diferenciados pela morfologia das antenas. A antena da fêmea tem clava simples (clavada) e a do macho tem os segmentos do funículo e da clava fundidos numa única estrutura alongada (alongada com cerdas) (PINTO, 1997).

As fêmeas encontram os ovos dos hospedeiros devido a odores de seus ovos, e feromônio do adulto e por químicos voláteis que a planta emite. Após encontrar o ovo a fêmea o inspeciona caminhando para frente e para trás tocando-o constantemente com as suas antenas, assim percebe o seu formato, textura e substâncias químicas e determina sua condição e seu valor nutricional (VINSON, 1997; CÔNSOLI; VINSON, 2009). Após concluir essa inspeção externa a fêmea começa o processo de oviposição, fazendo movimentos para baixo e para cima com o ovipositor. Nesse instante ela avalia a qualidade nutricional interna do ovo do hospedeiro (VINSON, 1997; MAGALHÃES; MONNERAT; ALVES, 1998). Isso torna a fêmea importante no que diz respeito ao sucesso de sua prole, pois uma vez dentro do ovo o parasitoide não poderá mudar de hospedeiro, caso não haja condições satisfatórias para completar o ciclo.

Outra característica importante que decorre dessa determinação da qualidade do ovo hospedeiro feito pela fêmea é que dependendo do tamanho, volume e valor nutricional do ovo ela coloca mais ou menos ovos nesse hospedeiro. Em ovos pequenos como os de *Anagasta kuehniella* Zeller, 1879 (Lepidoptera: Pyralidae) é ovipositado, normalmente, um ovo de *Trichogramma* spp., mas pode ser encontrando, em baixa frequência, dois ovos (VINSON, 1997). O sexo também é determinado pela fêmea dependendo das condições dos ovos que serão parasitados. Sendo assim, em ovos maiores e com maior disponibilidade de nutrientes, são ovipositados os ovos de *Trichogramma* spp. que darão origem a fêmea do parasitoide, que são mais exigentes nutricionalmente para seu desenvolvimento, e nos ovos hospedeiros com menos nutrientes, ou que já estejam parasitados, ou com substâncias tóxicas ou repelentes, são ovipositados os ovos de *Trichogramma* spp. que darão origem ao macho do parasitoide. A determinação da razão sexual se dá de duas maneiras. Primeira, pela escolha da fêmea em colocar ovos que darão origem à machos ou fêmeas. Segunda, nos casos onde a fêmea oviposita dois ovos em apenas um ovo hospedeiro, caso haja um ovo que dará origem ao macho e outro que dará origem a fêmea, a competição entre eles é que determinará a razão sexual (VINSON, 1997).

Há um interesse na utilização de espécies do gênero *Trichogramma* para controlar insetos-praga, visto que estes agentes de controle biológico podem parasitar diversas ordens de insetos como Lepidoptera, Hemiptera e Coleoptera. Existem descritas na América do Sul aproximadamente 30 espécies de

*Trichogramma*, sendo que no Brasil, *Trichogramma pretiosum* Riley, 1879 (Hymenoptera: Trichogrammatidae) é uma das espécies mais encontradas, é amplamente distribuída no país, estando associada a 26 espécies de hospedeiros (PINTO, 1997; ZUCCHI; MONTEIRO, 1997; HAJI et al., 2002; PARRA et al., 2002). Além disso, é importante destacar que *T. pretiosum* é uma espécie utilizada em programa de controle biológico aplicado, como o controle de *Tuta absoluta* Meyrick, 1917 (Lepidoptera: Gelechiidae) na cultura do tomateiro (HAJI, 1997; HAJI et al., 2002; PARRA; ZUCCHI, 2004; COSTA; PERIOTO, 2006), e há pesquisas para controle de *Anticarsia gemmatalis* Hübner, 1818 (Lepidoptera: Noctuidae) e *Chrysodeixis includens* Walker, 1858 (Lepidoptera: Noctuidae) na soja (BUENO; PARRA; BUENO, 2012a; BUENO; PARRA; BUENO, 2012b).

### 2.1.2 *Telenomus Remus*

O parasitoide de ovos *Telenomus remus* Nixon, 1937 (Hymenoptera: Platygasteridae) começa a oviposição após a fêmea fazer uma inspeção nos ovos do hospedeiro que inclui o caminhamento sobre esses ovos e a tamborilar com suas antenas (BUENO et al., 2008). Esta espécie é capaz de parasitar ovos de hospedeiros com até 72 horas de idade (DASS; PARSHAD, 1984), no entanto, este período suscetível pode variar em função da temperatura. Cerca de quatro dias após o parasitismo, os ovos hospedeiros tornam-se enegrecidos, coloração essa que permanece após a emergência do parasitoide adulto (GÓMEZ DE PICHÓ, 1987; HERNÁNDEZ; DÍAZ, 1996). Cada fêmea de *T. remus* deposita apenas um ovo por ovo do hospedeiro, sendo o superparasitismo raro (CAVE, 2000). O superparasitismo já foi observado para essa espécie em laboratório, porém a competição larval e/ou limitação nutricional do ovo permite que somente uma larva de *T. remus* complete o ciclo até adulto (CAVE, 2000). Além disso, esse parasitoide pode parasitar cerca de 270 ovos hospedeiros durante sua vida adulta (MORALES et al., 2000).

A duração do período ovo-adulto depende da temperatura podendo variar de 7 dias a 34°C a 13,5 dias a 25°C (GAUTUM, 1986; BUENO et al., 2008). Após emergido, o adulto tem longevidade média de 8,7 e 11,2 dias para fêmeas e machos, respectivamente, quando criados em ovos de *Spodoptera frugiperda* Smith,

1797 (Lepidoptera: Noctuidae), podendo chegar a 36 dias a 19°C (POMARI et al., 2012).

*Telenomus remus* prefere parasitar ovos de noctuídeos, no entanto, pode parasitar também ovos de outras famílias como Pyralidae e Arctiidae (CAVE, 2000). Esse parasitoide foi observado em associação com algumas espécies de *Spodoptera*. Em condições de laboratório ele pode parasitar de 80 a 100% dos ovos de *S. frugiperda*, *S. latifascia* Walker, 1856 (Lepidoptera: Noctuidae), *S. exigua* Hübner, 1808 (Lepidoptera: Noctuidae) e *S. eridania* Cramer, 1782 (Lepidoptera: Noctuidae) (WOJCIK et al., 1976; GOULART et al., 2011). Além dos resultados promissores de laboratório, resultados com *T. remus* também vêm sendo obtidos em condições de campo. Em regiões de clima tropical como em Barbados e Monserrat na América Central ele é encontrado parasitando ovos de *S. frugiperda*. Liberações inundativas são feitas em áreas de milho na Venezuela, com o intuito de controlar *S. frugiperda*, com um índice de até 90% de parasitismo (HERNÁNDEZ et al., 1989; GONZÁLEZ e ZOCCO, 1996; FERRER, 2001).

A eficiência de parasitismo de *T. remus* é estudada para controle de *S. frugiperda* mundialmente (JOSHI et al., 1976; GUPTA e PAWAR, 1985; MORALES et al., 2000). Quando foram liberados 5000 parasitoides em lavouras de milho, foram observados de 60 a 80% de parasitismo a 100 metros do ponto de liberação. Ainda, o uso combinado de *T. remus* e *Trichogramma pretiosum* foi eficiente em 1600 ha de milho para controle de *S. frugiperda* (FERRER, 2001). Neste cenário, a associação de dois agentes de controle biológico se mostrou uma estratégia de manejo muito promissora. A associação de *T. remus* com duas espécies do gênero *Trichogramma* para controle de *S. frugiperda* alcançou parasitismo de 71%, porém *T. remus* é mais agressivo e tem maior capacidade de busca, apresentando maior redução na população da praga, quando liberado sozinho em comparação com *Trichogramma* spp. (ROA, 1999). Com a liberação de 15 milhões de parasitoides para controles de pragas do gênero *Spodoptera* na Colômbia, alcançou-se de 50 a 80% de parasitismo, liberações essas feitas nas culturas do arroz, milho, algodão, soja e sorgo (SIABATO, 1995).

## 2.2 ENTOMOPATÓGENOS

Entomopatógenos são agentes de controle biológico que causam doenças em insetos. São em sua maioria micro-organismos, sendo os mais comuns na agricultura os fungos e bactérias, além de vírus e nematoides. Esses agentes de controle biológico têm baixo impacto no agroecossistema, se comparados aos inseticidas químicos, e também são mais específicos sendo mais seletivos a artropodofauna benéfica. Podem se manter e dispersar pelo ambiente, pois se multiplicam nos insetos mortos e permanecem nos insetos remanescentes, no solo, e em alguns casos como vírus, podem passar de uma geração para outra através dos ovos dos hospedeiros (ALVES, 1998).

### 2.2.1 *Bacillus Thuringiensis*

Dentre os entomopatógenos, desde a sua descoberta, em 1900, a bactéria entomopatogênica *Bacillus thuringiensis* Berliner, 1915 (Bt) lidera os estudos de patologia e controle microbiano e é um dos principais patógenos de insetos utilizados no controle biológico de pragas agrícolas (LORD, 2005; BRAR; TYAGI; VALÉRIO, 2006). Cerca de 200 produtos a base de *Bt* são responsáveis por 97% do mercado mundial de bioinseticidas (BRAR; TYAGI; VALÉRIO, 2006). Estes produtos são usados principalmente em países desenvolvidos como os Estados Unidos, por exemplo (POLANCZYK; ALVES 2003).

*Bacillus thuringiensis* é uma bactéria em forma de bastonete, formadora de esporos e capaz de produzir inclusões cristalinas durante a esporulação, que são responsáveis pela atividade tóxica (GLARE; O'CALLAGHAM, 2000). Tem atraído o interesse mundial no que se refere a aplicações em manejo de pragas devido à sua atividade inseticida específica (SCHNEPF et al., 1998). Cepas dessa espécie foram isoladas ao redor do mundo em diferentes habitats, incluindo solo, insetos, plantas e grãos estocados (SCHNEPF et al., 1998). *Bacillus thuringiensis* desenvolve-se, em condições aeróbicas, em meios artificiais bastante simples. Entretanto, em certas condições, como a ausência de nutrientes ou acúmulo de metabólitos indesejáveis, entra em processo de esporulação durante a fase estacionária (YAMAMOTO; DEAN, 2000).

No início da esporulação, sintetiza uma grande quantidade de proteínas com atividade inseticida. As proteínas acumuladas formam um corpo de inclusão cristalina, razão pela qual elas são denominadas Cry (YAMAMOTO; DEAN, 2000). Estas toxinas são codificadas por genes *cry* e sua toxicidade está ligada à região N-terminal das cadeias polipeptídicas, enquanto que a porção C-terminal determina a forma da estrutura do cristal (LI et al., 1991).

O mecanismo de ação das proteínas Cry de *B. thuringiensis* envolve a solubilização do cristal no intestino médio do inseto, processamento proteolítico da protoxina por proteases presentes no intestino médio, ligação da toxina Cry a receptores no intestino médio e inserção da toxina na membrana apical para criar canais ou poros (SCHNEPF et al., 1998). Um inseto suscetível deve ingerir esporos mais cristais para que esses se tornem ativos. Os cristais são solubilizados em pH alcalino, originando as protoxinas que em presença de enzimas digestivas (proteínases) são convertidas em quatro ou mais polipeptídeos tóxicos ( $\delta$ -endotoxinas). As toxinas hidrolisadas cruzam a membrana peritrófica e ligam-se a receptores específicos localizados na membrana apical das células colunares do intestino médio, interferindo no gradiente iônico e balanço osmótico da membrana apical, formando poros que aumentam a permeabilidade da membrana. O aumento na absorção de água causa lise celular e eventual ruptura e desintegração das células do intestino médio. O inseto também pode morrer por inanição, uma vez que pouco tempo após a infecção o mesmo cessa a alimentação (COPPING; MENN, 2000).

Embora os produtos comerciais disponíveis restrinjam-se ao controle de lepidópteros ou dípteros, mais de 1.000 espécies de insetos, pertencentes a diversas ordens, são suscetíveis a este patógeno (GLARE; O'CALLAGHAM, 2000). A eficácia e especificidade das cepas de Bt e suas toxinas no controle de insetos praga, favoreceu a formulação de bioinseticida à base deste patógeno e assim mais de 100 formulações foram colocados no mercado mundial, desde o primeiro produto lançado na França em 1938, sendo que até 2000 foram responsáveis por mais de 90% do faturamento com bioinseticidas. E naquela época o continente americano era responsável por 50% deste mercado, principalmente os Estados Unidos e Canadá sendo que a América Latina representava apenas 8 a 10% do total (TAMEZ-GUERRA et al., 2000).

### 2.2.2 *Beauveria Bassiana*

Os fungos do gênero *Beauveria* compreendem diversas espécies, sendo *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. 1912, a mais empregada como agente de controle microbiano (BUTT; JACKSON; MAGAN, 2001). *Beauveria bassiana* pertence a divisão Ascomycota, ordem Hypocreales (CHO; FARMERIE; KEYHANI, 2006). Esta espécie apresenta forma de vida única, sendo saprófita facultativa, ou ainda ocorrendo na forma endofítica em milho (BING; LEWIS, 1992). Esse fungo produz pelo menos três estruturas infecciosas, que são os conídios aéreos, os blastósporos e os conídios submersos. Essas estruturas apresentam diferentes propriedades morfológicas e bioquímicas (CHO; FARMERIE; KEYHANI, 2006).

Os conídios aéreos são relativamente mais resistentes às condições ambientais e são as estruturas mais utilizadas no controle biológico (HOLDER; KEYHANI, 2005). O processo de infecção do hospedeiro ocorre normalmente via tegumento, onde o fungo germina de 12 a 18 horas. A penetração acontece por meio de uma ação mecânica e química (enzimática), que leva aproximadamente 12 h. Decorridas 72 h da inoculação, o inseto apresenta-se totalmente colonizado. A morte ocorre em função da falta de nutrientes e do acúmulo de substâncias tóxicas. Sobre o inseto morto ocorre a formação de grande quantidade de conidióforos e conídios, dando início a um novo ciclo do fungo (ALVES, 1998).

O gênero *Beauveria* causa doença em um grande número de artrópodos, desenvolvendo-se em mais de 200 espécies de insetos e ácaros, incluindo carrapatos (ALVES, 1998). No Brasil, *B. bassiana* é utilizada para o controle de diversas pragas, como o ácaro rajado [*Tetranychus urticae* Koch, 1836 (Acari: Tetranychidae)], cochonilhas [*Orthezia praelonga* Douglas, 1891 (Hemiptera: Ortheziidae)], broca-do-café [*Hypothenemus hampei* Ferrari, 1867 (Coleoptera: Scolytidae)] (FARIA; MAGALHÃES, 2001). Existem também vários estudos visando o controle de outras pragas como, broca da cana-de-açúcar [*Diatraea saccharalis* Fabricius, 1794 (Lepidoptera: Crambidae)] (OLIVEIRA, 2006), e *Alphitobius diaperinus* Panzer, 1797 (Coleoptera: Tenebrionidae) (ROHDE et al., 2006).

### 2.2.3 *Metarhizium Anisopliae*

Pertencente à família Moniliaceae os fungos do gênero *Metarhizium* são amplamente distribuídos, encontrando-se no solo, onde sobrevivem por longos períodos. Quando causam doença em insetos os deixam duros e cobertos por uma camada pulverulenta de conídios, que no final da conidiogênese ficam verdes, acinzentados ou ainda esbranquiçados com pontos verdes (ALVES, 1998). O entomopatógeno *M. anisopliae*, foi identificado pela primeira vez na Rússia em 1879, Metchnikoff que o classificou como *Entomophthora anisopliae* sendo por volta de 1883, reclassificado por Sorokin como *Metarhizium anisopliae* (ALVES, 1998). Porém, através de caracterização molecular, tem-se o conhecimento da existência de várias espécies e variedades do gênero *Metarhizium* (DRIVER; MILNER; TRUEMAN, 2000).

Na presença de alta umidade e substrato adequado, os conídios iniciam a germinação em aproximadamente 16-20 horas (LOMER et al., 2001). Em condições laboratoriais, o crescimento ótimo ocorre em pH 6,9 e temperatura entre 24 e 30°C (ALVES, 1998). O desenvolvimento da patogenia nos insetos é caracterizado por várias etapas, sendo elas: adesão à cutícula do hospedeiro, germinação do conídio, formação do apressório e grampo de penetração, penetração através da cutícula por ação mecânico-enzimática, colonização do corpo do inseto, produção de toxinas, exteriorização, conidiogênese e disseminação (ST. LEGER et al., 1991; ALVES, 1998; CLARKSON et al., 1998).

O gênero *Metarhizium* é capaz de infectar mais de 300 espécies de insetos, incluindo 43 famílias dentre as ordens Orthoptera, Dermaptera, Hemiptera, Lepidoptera, Diptera, Hymenoptera, e Coleoptera. O controle desses insetos-pragas por *Metarhizium* vem sendo analisado em vários países (FARGUES et al., 1975; ALVES, 1998). A espécie *M. anisopliae* var. *anisopliae* tem sido a mais estudada, sendo considerada um modelo dentro do gênero. Isolados desta espécie têm sido testados com sucesso em ensaios de campo em vários países da América, Europa, Ásia, África e Oceania (LOMER et al., 2001). No Brasil, esta espécie é utilizada no controle da cigarrinha da cana-de-açúcar e pastagens e tem potencial para o controle de pragas do arroz, soja e alface (LOPES; ALVES; TAMAI, 2000; FARIA; MAGALHÃES, 2001).

#### 2.2.4 Baculovirus Anticarsia

O vírus da poliedrose nuclear *Anticarsia gemmatalis* (AgMNPV), pertencente ao gênero Nucleopolyedrovirus (NPV), família Baculoviridae, é utilizado como bioinseticida no Brasil e é específico para lagarta-da-soja *Anticarsia gemmatalis* Hübner, 1818 (Lepidoptera: Noctuidae). Porém em sistemas *in vitro*, em células de *A. gemmatalis* e de *Trichoplusia ni* Hübner, 1803 (Lepidoptera: Noctuidae), esse vírus replica-se gerando uma infecção virulenta. O efeito do baculovírus atinge principalmente os estágios larvais do inseto e sua principal rota de infecção é pela ingestão de poliedros, que atravessam o epitélio intestinal e se multiplicam nas células progredindo por todo o corpo do inseto resultando numa infecção sistêmica (CASTRO et al., 1999).

O ciclo de infecção do vírus no inseto inicia-se quando as larvas se alimentam de planta contaminada com corpos proteicos de inclusão (CPI). Os CPIs quando atingem o lúmen do intestino médio do inseto são submetidos ao pH alcalino, que dissolve a poliedrina, liberando os vírions (nucleocapsídeo + envelope) para o lúmen intestinal (GRANADOS; LAWLER, 1981; CASTRO et al., 1999). Os vírions atravessam a membrana peritrófica, considerada a primeira barreira de proteção contra a ação de patógenos, se fundem às membranas epiteliais do intestino médio, replicando-se nas células colunares e transmitindo a infecção para outros tecidos (FLIPSEN et al., 1995; VOLKMAN, 1997; CASTRO et al., 1999; MOSCARDI; SOUZA, 2002). Geralmente em um período de quatro dias após a ingestão e infecção pelos poliedros, as larvas cessam a sua alimentação e reduzem a movimentação, e entorno de sete ou dez dias, elas escurecem e se rompem liberando o vírus no ambiente que servirá de inóculo para outras gerações (GAZZONI; YORINI, 1995; CASTRO et al., 1999).

O AgMNPV é encontrado naturalmente no ambiente e pertence ao maior grupo de vírus de artrópodes, podendo infectar cerca de 700 espécies de artrópodes (TANADA; KAYA, 1993), apesar de controlar eficientemente apenas *A. gemmatalis*. A maioria foi isolada da ordem Lepidoptera, entretanto, pode ser detectado em outras ordens como: Hymenoptera, Diptera, Coleoptera, Orthoptera, Neuroptera, Trichoptera (BILIMORIA, 1991; O'REILLY; MILLER; LUCKOW, 1992). Apresenta potencial como agente de controle biológico dessas ordens, tanto na

agricultura, como em áreas florestais (MARTIGNONI, 1984; MOSCARDI; SOSA-GÓMEZ, 1992).

#### 2.2.5 *Trichoderma Harzianum*

O gênero *Trichoderma* é classificado como imperfeito (HARMAN et al., 2004), pertence à Subdivisão Deuteromycotina, ordem Hifomicetes e família Moniliaceae (MELO, 1991). Na sua fase teleomórfica, é classificado como ascomiceto da ordem Hypocreales, constituída pelo gênero *Hypocrea*, sendo encontrado colonizando restos de plantas lenhosas e herbáceas (KRUGNER; BACCHI, 1995). Tem ampla distribuição no mundo, em praticamente todos os tipos de solos e habitats naturais, especialmente, naqueles que contém ou são formados de matéria orgânica. Trata-se de um micro-organismo necrotrófico que tem apresentado grande eficácia no controle de inúmeros fungos fitopatogênicos (MELO, 1998). *Trichoderma harzianum* Rifai, 1969 controla fungos fitopatogênicos porque atua como antagonista, por meio de mecanismos de antibiose produzindo metabólitos voláteis ou não, de micoparasitismo e competição por espaço, nutrientes e oxigênio (HJELJORD; TRONSMO, 2005). Segundo Martins-Corder e Melo (1998), a capacidade para produzir tais metabólitos e o seu efeito fungistático pode variar entre espécies e entre isolados da mesma espécie.

Os fungos do gênero *Trichoderma* são mais conhecidos e utilizados no controle biológico de doenças, mas *T. harzianum* pode ter também efeito nocivo sobre insetos, como já relatado para *Myzus persicae* Sulzer, 1778 (Hemiptera: Aphididae) (GANASSI; ALTOMARE; SABATINI, 2009), *Spodoptera littoralis* Boisduval, 1833 (Lepidoptera: Noctuidae) (EL-KATATNY, 2010), e *Gryllotalpa gryllotalpa* Linnaeus, 1758 (Orthoptera: Gryllotalpidae) (VEENA-BHAMRAH, 2007). Esse fungo pode ainda atuar como promotor de crescimento e florescimento de plantas, melhorando o rendimento de grãos (BECKER; COOK, 1988; MELO, 1996). Também pode conferir maior velocidade e maior porcentagem de germinação de sementes, aumento do peso seco e da altura das plantas (OKLEIFELD; CHET, 1992; LYNCH et al., 1991; MELO, 1996).

### 2.3 INTERAÇÃO ENTRE PARASITÓIDES E ENTOMOPATÓGENOS

O manejo integrado de pragas requer a utilização de vários métodos de controle, e é nesse sentido que a utilização conjunta de parasitoides e entomopatógenos é de importância. Em algumas culturas pode ser necessária a utilização dessas formas de controle simultaneamente. Porém, a ocorrência de incompatibilidades pode gerar problemas. Essas interações podem ser prejudiciais aos parasitoides, por causa de infecções diretas, toxinas, morte antecipada e alterações fisiológicas e nutricionais ou prejudiciais ao hospedeiro, por aumento da suscetibilidade a infecções, transmissão de patógeno pelo parasitoide, dificuldade na discriminação entre hospedeiro parasitado e não-parasitado, atraso no ciclo biológico e supressão do hospedeiro (ALVES, 1998).

Nesse sentido, alguns trabalhos foram realizados a fim de conhecer a interação entre esses micro-organismos e parasitoides. *Bacillus thuringiensis* foi aplicado sobre as fases de desenvolvimento de *T. pretiosum* e foi verificado que não houve interferência quando na emergência e no número de ovos parasitados (CARVALHO; PARRA; BAPTISTA, 2001). Da mesma forma, Haji et al., (2002), não relataram nenhum impacto desse micro-organismo sobre o parasitoide *Trichogramma* sp. Assim, também para Dipel® DF (100g.100L<sup>-1</sup>), que foi considerado seletivo (<30% de redução no parasitismo) a *T. pretiosum* (MORANDI FILHO et al., 2006). Mesmo quando *B. thuringiensis* foi misturado ao mel e oferecido a *Trichogramma pratissolii* Querino e Zucchi (Hymenoptera: Trichogrammatidae) e *T. pretiosum*, como alimento, não foi observado nenhuma redução em relação ao número de ovos parasitados. Além disso, para alguns isolados o tempo necessário para parasitar 80% dos ovos foi menor que o da testemunha (POLANCZYK et al., 2006).

É importante salientar que, diferentemente das bactérias, os fungos têm geralmente grande espectro de ação, podendo assim causar doenças em organismos não alvo. Porém os parasitoides em sua maioria não são infectados, mas como não há somente a possibilidade de infecção direta do adulto, mas também efeitos de competição ou repelência há a necessidade de se conhecer melhor essas possíveis interações (MAGALHÃES; MONNERAT; ALVES, 1998; SOSA-GÓMEZ; PEREIRA; ALVES, 1998).

O efeito dos fungos *M. anisopliae* e *B. bassiana*, aplicados separadamente, sobre as características reprodutivas e de sobrevivência de *T. pretiosum* e *Trichogramma atopovirilia* Oatman e Platner, 1983 (Hymenoptera: Trichogrammatidae) foi estudada por Polanczyck et al. (2009 e 2010), sendo que esses autores não observaram interferências em ambos os estudos. Os mesmo autores propõem a possibilidade de realizar, em campo, a liberação de *T. pretiosum* e *T. atopovirilia* após a pulverização de fungos entomopatogênicos, visto que estes não afetaram a longevidade, porcentagem de parasitismo, viabilidade e reprodução dos parasitoides.

Contudo, em experimentos realizados por Potrich et al. (2009), com o objetivo de analisar a seletividade de fungos entomopatogênicos a *T. pretiosum*, foi verificado que *M. anisopliae* provocou diminuição na emergência de *T. pretiosum* e provocou mortalidade confirmada nas fêmeas que realizaram o parasitismo, mostrando assim a possibilidade infecção direta, entretanto, *B. bassiana* não interferiu em nenhum dos parâmetros biológicos testados. Apesar das alterações provocadas por *M. anisopliae*, esses autores destacam que as alterações são menores que as provocadas por inseticidas químicos. Em outros estudos também foi verificada a interferência no desempenho de *Trichogramma galloi* Zucchi, 1988 (Hymenoptera: Trichogrammatidae) quando havia *M. anisopliae* sobre ovos de *Diatrea saccharalis*, reduzindo o número de ovos parasitados, e também a emergência e a longevidade da segunda geração (BROGLIO-MICHELETTI; SANTOS; PEREIRA-BARROS, 2006).

#### 2.4 IMPORTÂNCIA DOS ESTUDOS DE SELETIVIDADE

Na avaliação da compatibilidade de duas ou mais táticas de controle o estudo de seletividade assume importância (DEGRANDE; GOMEZ, 1990; FALEIROS et al., 1995; REIS et al., 1998). Sendo assim, na classificação de um bioinseticida, como os entomopatógenos, por exemplo, como seletivos ou não seletivos a outros agentes de controle biológico, como os parasitoides de ovos, considerar os aspectos bioecológicos envolvidos em uma metodologia de avaliação consolidada e confiável é de importância (SANTOS et al., 2006). Neste cenário, os estudos de seletividade vêm ganhando impulso nos últimos anos e especial atenção tem sido dedicada aos parasitoides de ovos, principalmente ao gênero

*Trichogramma*, existindo um volume satisfatório de estudos sobre o impacto de inseticidas químicos sobre esse gênero (JACOBS et al., 1984; SUH et al., 2000; HOHMANN, 1991, 1993; CARVALHO; PARRA; BATISTA, 2001a; CAÑETE, 2005; GIOLO et al., 2005). Entretanto, pouco ainda se conhece sobre o impacto dos entomopatógenos nesse grupo e uma menor quantidade de informações ainda se tem ao considerar, por exemplo, outros parasitoides de ovos menos estudados como *T. remus*, por exemplo. Em geral, faltam dados padronizados de seletividade, já que muitos desses ensaios foram conduzidos com diferentes metodologias, impossibilitando a comparação dos resultados (GRAVENA et al., 1988; GRAVENA et al., 1992; SANTOS; GRAVENA, 1995; SANTOS; GRAVENA, 1997).

Na tentativa de solucionar esse problema, em 1974, foi formado o grupo de trabalho para cooperação científica internacional no estudo da seletividade de agrotóxicos a organismos benéficos, a *International Organization of Biological Control* (IOBC), que tem como um de seus objetivos, o fomento de testes de seletividade no mundo, baseados numa metodologia confiável e padrão. Segundo essa organização, inicialmente deve-se submeter o inseto a condições extremas de contaminação em laboratório e se um alto percentual da população não morrer, então o produto pode ser considerado inócuo. Caso contrário, passa-se ao teste de semi-campo e posteriormente de campo (SANTOS et al., 2006). Sendo assim, os testes padronizados de seletividade, com base nas normas da IOBC (HASSAN, 1992) são essenciais e devem comparar a seletividade de diferentes agentes de controle com vistas à indicação daqueles mais seletivos aos inimigos naturais e que, eventualmente, possam ser utilizados para manejo após a liberação inundativa de um inimigo natural (HASSAN et al., 1998; LI et al., 1993; DEGRANDE et al., 2002; FOERSTER, 2002).

### 3 REFERÊNCIAS

- ALVES, S.B. Fungos entomopatogênicos. In: ALVES, S.B. (ed.) **Controle Microbiano de Insetos**. Piracicaba: FEALQ, 1998. p. 289-382.
- BECKER, J.O.; COOK, R.J. Role of siderophores in suppression of *Pythium* species and production of increase growth response of wheat by fluorescent *Pseudomonas*. **Phytopathology**. v. 59, n.8, p. 1147-1151, 1988.
- BILIMORIA, S.L. The biology of nuclear polyhedrosis viruses. In: KURSTAK, E. (ed.). **Viruses of invertebrates**. New York: Marcel Dekker, p. 1-72, 1991.
- BING, L.A.E.; LEWIS, L.C. Endophytic *Beauveria bassiana* (balsamo) Vuillmin in corn: the influence of the plant growth stage and *Ostrinia nubilalis* (Huebner). **Biocontrol Science and Technology**. v. 2, p. 39-47, 1992.
- BRAR, S. K.; TYAGI, V. R. D.; VALÉRIO, J. R. Recent advances in downstream processes and formulations of *Bacillus thuringiensis* based biopesticides. **Process Biochemistry**. v. 41, p. 323-42, 2006.
- BROGLIO-MICHELETTI, S.M.F.; SANTOS, A.J.N.; PEREIRA-BARROS, J.L. Ação de alguns produtos fitossanitários para adultos de *Trichogramma galloi* Zucchi, 1988 (Hymenoptera: Trichogrammatidae). **Ciência e agrotecnologia**. v.30, n.6, p.1051-1055, 2006.
- BUENO, R.C.O.F.; CARNEIRO, T.R.; PRATISSOLI, D.; BUENO, A.F.; FERNANDEZ, O.A. Biology and thermal requirements of *Telenomus remus* reared on fall armyworm *Spodoptera frugiperda* eggs. **Ciência Rural**. v.38, n.1, p. 1-6, 2008.
- BUENO, A. F.; SOSA-GÓMEZ, D. R.; CORRÊA-FERREIRA, B. S.; MOSCARDI, F.; BUENO, R. C. O. Inimigos naturais das pragas da soja. In: HOFFMANN-CAMPO, C. B.; CORRÊA-FERREIRA B. S.; MOSCARDI, F (Eds.) **SOJA: Manejo Integrado de Insetos e Outros Artrópodes-Praga**, p. 493-630, 2012.
- BUENO, R.C.O.F.; PARRA, J.R.P.; BUENO, A.F. Biological characteristics and thermal requirements of a Brazilian strain of the parasitoid *Trichogramma pretiosum* reared on eggs of *Pseudoplusia includes* and *Anticarsia gemmatalis*. **Biological Control**. v. 51, p. 355-361, 2009.
- BUENO, R.C.O.F.; PARRA, J.R.P.; BUENO, A.F. *Trichogramma pretiosum* parasitism of *Pseudoplusia includens* and *Anticarsia gemmatalis* eggs at diferents temperatures. **Biological Control**. v. 60, p. 154-162, 2012a.
- BUENO, R.C.O.F.; PARRA, J.R.P.; BUENO, A.F. *Trichogramma pretiosum* parasitism and dispersal capacity: a basis for developing biological control programs for soybean caterpillars. **Bulletin of Entomological Research**. v. 102, p. 1-8, 2012b.
- BUTT, T.M.; JACKSON, C.; MAGAN, N. Fungal biological control agent: progress, problems and potential. In: BUTT, T.M.; JACKSON, C.;MAGAN, N(Ed.). **Fungi as biocontrol agents**. Wallingfors, Oxford, USA: CABI Publishing, 2001.

CAÑETE, C.L. **Seletividade de inseticidas a espécies de *Trichogramma* (Hymenoptera: Trichogrammatidae)**. 2005. 106f. Dissertação (Mestrado em Zoologia) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2005.

CARVALHO, G.A.; PARRA, J.R.P.; BATISTA, G.C. Seletividade de alguns produtos fitossanitários a duas linhagens de *Trichogramma pretiosum* Riley, 1879 (Hymenoptera: Trichogrammatidae) em casa de vegetação. **Ciência e Agrotecnologia**. v. 25, n.3, p. 583-591, 2001.

CASTRO, M.E.B.; SOUZA, M.L.; SIHLER, W.; RODRIGUES, J.C.M.; RIBEIRO, B.M. Biologia molecular de baculovírus e seu uso no controle de pragas no Brasil. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. v. 34, n. 10, p. 1733-1761, 1999.

CAVE, R.D. Biology, ecology and use in pest management of *Telenomus remus*. **Biocontrol News and Information**. v.21, n.1, p. 21-26, 2000.

CHO, E.M.; LIU, L.; FARMERIE, W.; KEYHANI, N.O. EST analysis of cDNA libraries from the entomopathogenic fungus *Beauveria (Cordyceps) bassiana*. Evidence for stage-specific gene expression in aerial conidia, *in vitro* blastospores and submerged conidia. **Microbiology**. v. 152, p. 2843-2854, 2006.

CLARKSON, J.M.; SCREEN, S.; BAILEY, A.; COB, B.; CHARNLEY, K. Fungal pathogenesis in insects. In: **Molecular variability of fungal pathogens**. CAB International, 1998.

CÔNSOLI, F.L.; ROSSI, M.M.; PARRA, J.R.P. Developmental time and characteristics of the immature stages of *Trichogramma galoi* and *T. pretiosum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae). **Revista Brasileira de Entomologia**. v. 43, n. 3,4, p. 271-275, 1999.

CÔNSOLI, F.L.; VINSON, S.B. Parasitoides (Hymenoptera). In: PANIZZI, A.R.; PARRA, J.R.P. (Ed.). **Bioecologia e Nutrição de Insetos. Base para o manejo integrado de pragas**. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, 2009.

COPPING, L. G.; MENN, J.J. Review biopesticides: a review of their action, applications and efficacy. **Pest Management Science**. v.56, n.5, p.651-676, 2000.

COSTA, V.A.; PERIOTO, N.W. Insetos Parasitoides. In: BATISTA FILHO, A. (Ed.). **Controle Biológico de Insetos e Ácaros. Boletim Técnico**. Instituto Biológico. n.15. São Paulo: Instituto Biológico, 2006.

DASS, R.; PARSHAD, B. Influence of age of *Spodoptera litura* (Fabricius) egg on parasitism by *Telenomus remus* Nixon (Hymenoptera: Scelionidae). **Journal of Entomological Research**. v.7, p.18-20, 1984.

DEGRANDE, P.E.; REIS, P.R.; CARVALHO, A.; BELARMINO, L. Metodologia para avaliar o impacto de pesticidas sobre inimigos naturais. In: PARRA, J.R.P.; BOTELHO, P.S.M.; CORRÊA-FERREIRA, B.S.; BENTO, J.M.S. **Controle biológico no Brasil: parasitoides e predadores**. São Paulo: Manole, p. 71-86, 2002.

DEGRANDE, P.E.; GOMEZ, D.R.S. Seletividade de produtos químicos no controle de pragas. **Agropecuária**. v. 7, p.8-13, 1990.

DRIVER, F.; MILNER, R.J.; TRUEMAN, J.W.H. A taxonomic revision of *Metarhizium* based on a phylogenetic analysis of rDNA sequence data. **Mycological Research**, v. 104, p. 134-150, 2000.

EL-KATATNY, M. H. Virulence potencial of some fungal isolates and their control-promise against the Egyptian cotton leaf worm, *spodoptera littoralis*. **Archives of Phytopathology and Plant Protection**. v. 43, p. 332-356, 2010.

FALEIRO, F.G.; PICANÇO, M.C.; PAULA, S.U.; BATALHA, V.C. Seletividade de inseticidas a *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) e ao predador *Doru luteipes* (Scudder) (Dermaptera: Forficulidae). **Anais da sociedade entomológica do Brasil**. v. 24, n. 2, p. 247-252, 1995.

FARGUES, J.; DURIEZ, T.; ANDRIEV, S.; POPEYE, R.; ROBERT, P. Étude immunologique compare de souches de *Metharizium anisopliae* (DELACR.) sien champignon hyphomycète entomopathogène. **Comptes Rendus Hebdomadaires de Séances Del'Academie dès Sciences**. v. 281, p. 1781-1784, 1975.

FARIA, M.R.; MAGALHÃES, B.P. O uso de fungos entomopatogênicos no Brasil: situação atual e perspectivas. **Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento**. v. 22, p. 18-21, 2001.

FERRER, F. Biological control of agricultural insects in Venezuela: advances, achievements, and future perspectives. **Biocontrol News and Information**. v. 22, n. 3, p. 67-74, 2001.

FIGUEIREDO, M.L.C. Potencial de controle de *Spodoptera frugiperda* (Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) na cultura do milho com *Telenomus remus* Nixon (Hymenoptera: Scelionidae). 1998. 76p. **Dissertação (Mestrado em Entomologia)** - Programa de Pós-Graduação em Entomologia, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 1998.

FIGUEIREDO, M.L.C.; DELLA LUCIA, T.M.C.; CRUZ, I. Controle integrado de *Spodoptera frugiperda* (Smith & Aboth) utilizando-se do parasitoide *Telenomus remus* Nixon. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. v. 34, n. 11, p. 1975-1982, 1999.

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

FLIPSEN, J.T.M.; MARTENS, J.W.M.; VAN OERS, M.M.; VLAK, J.M.; VAN LENT, W.M. Passage of *Autografa californica* nuclear polyhedrosis vírus through the midgut epithelium of *Spodoptera exigua* larvae. **Virology**. v. 208, p. 328-335, 1995.

GAUTUM, R.D. Effect of different temperatures and relative humidities on the efficiency of parasitoid, *Telenomus remus* Nixon (Scelionidae: Hymenoptera) in the laboratory. **Journal of Entomological Research**. v.8, p.89-92, 1986.

GANASSI, S. ALTOMARE, C. SABATINI, M. A. Interactions between fungi belonging to the genus *Trichoderma* and *Myzus persicae* (Hemiptera: Aphidoidea) to open new perspectives of biological control. **Micologia Italiana**. v.38, p. 3-9, 2009.

GAZZONI, D.L.; YORINIORI, J.T. **Manual de identificação de pragas e doenças da soja**. Brasília: EMBRAPA, 1995.

GIOLO, F.P.; GRÜTZMACHER, A.D.; PROCÓPIO, S.O.; MANZONI, C.G.; LIMA, C.A.B.; NÖRNBERG, S.D. Seletividade de formulações de glyphosate a *Trichogramma pretiosum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae). **Planta Daninha**. v. 23, n. 3, p. 457-462, 2005.

GLARE, T. R.; O'CALLAGHAN, M. *Bacillus thuringiensis: biology, ecology and safety*. Chichester: John Wiley, 350 p. 2000.

GÓMEZ DE PICO, H. Biología de *Telenomus remus* Nixon (Hymenoptera: Scelionidae). **Revista Peruana de Entomología**. v. 30, p. 29-32, 1987.

GONZÁLEZ, C.E.; ZOCCO, J.L. Control integrado de *Spodoptera frugiperda* (Smith) utilizando *Telenomus remus* (Nixon) em *Zea mays* L. **Revista de Investigación Agrícola –DANAC**. v. 1, n. 1, p. 201-219, 1996.

GOULART, M.M.P.; BUENO, A.F.; BUENO, R.C.O.F.; VIEIRA, S.S. Interaction between *Telenomus remus* and *Trichogramma pretiosum* in the management of *Spodoptera* spp. **Revista Brasileira de Entomologia**. v. 55, p. 121-124, 2011.

GRANADOS, R.R.; LAWLER, K.A. *In vitro* pathway of *Autografa californica* baculovirus invasion and infection. **Virology**. v. 108, n. 30, p. 297-308, 1981.

GRAVENA, S.; FERNANDES, O.D.; SANROS, A.C.; PINTO, A.S.; PAIVA, P.S.B. Efeito de buprofezin e abamectin sobre *Pentilia egena* (Muls.) (Coleoptera: Coccinelidae) e crisopídeos em citros. **Anais da sociedade entomológica do Brasil**. v. 21, p. 215-217, 1992.

GRAVENA, S.; LEÃO NETO, R.R.; MORETTI, F.C.; TOZATTI, G. Eficiência de inseticidas sobre *Selenaspidus articulatus* (Morgan) (Homoptera: Diaspididae) e efeito sobre inimigos naturais em pomar cítrico. **Científica**. v. 16, p. 209-217, 1988.

GUPTA, M.; PAWAR, A.D. Multiplicatin of *Telenomus remus* Nixon on *Spodoptera litura* (Fabricius) reared on artificial diet. **Journal of Advanced Zoology**. v. 6, p. 13-17, 1985.

Haji, F.N.P. Controle da traça do tomateiro com *Trichogramma*. In: PARRA, J.R.P.; ZUCCHI, R.A. (ed.) **Trichogramma e Controle Biológico Aplicado**. Piracicaba: FEALQ, 1997.

Haji, F.N.P.; PREZZOTI, L.; CARNEIRO, J.S.; ALENCAR, J.A. *Trichogramma pretiosum* para o controle de pragas no tomateiro. In: PARRA, J.R.P.; BOTELHO, O.S.M.; CORRÊA-FERREIRA, B.S.; BENTO, J.M. (Ed.). **Controle Biológico no Brasil: parasitóides e predadores**. São Paulo: Manole, 2002.

HASSAN, S.A.; HAFEZ, M.B.; DEGRANDE, P.E.; HIRAI, K. The side-effects of pesticides on the egg parasitoid *Trichogramma cacoeciae* Marchal (Hymenoptera: Trichogrammatidae) acute dose-response and persistence tests. **Journal of Applied Entomology**. v. 122, p. 569-573, 1998.

HASSAN, S.A. Guideline for the evaluation of side-effects of plant protection product on *Trichogramma cacoeciae*. In: HASSAN, S.A. (ed) **Guidelines for testing the effects of pesticides on beneficial organisms: description of test methods**. IOBC/WPRS Bulletin. v.15, p. 18–39, 1992.

HARMAN, G.E.; PETZOLDT, R.; COMIS, A.; CHEN, J. Interactions between *Trichoderma harzianum* strain T22 and maize inbred line Mo17 and effects of these interactions on diseases caused by *Pythium ultimum* and *Colletotrichum graminicola*. **Phytopathology**. v. 94, n. 2, p. 147-153, 2004.

HERNÁNDEZ, D.; FERRER, F.; LINARES, B. Introducción de *Telenomus remus* Nixon (Hym.: Scelionidae) para controlar *Spodoptera frugiperda* (Lep.: Noctuidae) em Yaritagua, Venezuela. **Agronomia Tropical**. v. 39, p. 199-205, 1989.

HERNÁNDEZ, D.; DÍAZ, F. Efecto de La temperatura sobre El desarrollo de *Telenomus remus* Nixon (Hymenoptera: Scelionidae) parasitoide de *Spodoptera frugiperda* (Smith) (Lep.: Noctuidae). **Boletín de Entomología Venezolana**. v. 11, p. 149-153, 1996.

HJELJORD, L.; TRONSMO, A. *Trichoderma* and *Gliocladium* in biological control: an overview. In: HARMAN, G.E.; KUBICEK, C.P. *Trichoderma* and *Gliocladium*: **Enzymes, biological control and commercial application**. p. 115-133, 2005.

HOHMANN, C.L. Efeitos de alguns inseticidas sobre adultos de *Trichogramma pretiosum* Riley. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**. v. 22, p. 563-567, 1993.

HOHMANN, C.L. Efeito de diferentes inseticidas sobre adultos de *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae). **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**. v. 20, n. 1, p. 59-65, 1991.

HOLDER, D.J.; KEYHANI, N.O. Adhesion of the entomopathogenic fungus *Beauveria (Cordyceps) bassiana* to substrata. **Applied and Environmental Microbiology**. v. 17, p. 5260-5266, 2005.

JACOBS, R.J.; KOUSKOLEKAS, C.A.; GROSS JUNIOR, H.R. Responses of *Trichogramma pretiosum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) to residues of permethrin and endosulfan. **Environmental Entomology**. v. 13, p. 355-358, 1984.

JOSHI, B.G.; RAMAPRASAD, G.; SITARAMAIAH, S.; SATHYANARAYANA, C.V.V. Some observations of *Telenomus remus* Nixon, an egg parasite of the tobacco caterpillar, *Spodoptera litura* (F.). **Tobacco Research**. v.2, p.236-238, 1976.

KRUGNER, T.L.; BACCHI, L.M.A. Fungos. In: BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIN, L. (eds) **Manual de Fitopatologia: Princípios e conceitos**. 3ed. São Paulo: Agronômica Ceres. p. 919, 1995.

LI, J.; CARREL, J.; ELLAR, D. J. Cristal structure of insecticide delta-endotoxina from *Bacillus thuringiensis* at 2,5 Å resolution. **Nature**. v. 353, n. 7, p. 815-821, 1991.

LI, S.Y.; SIROIS, G.M.; LUCZYNSKI, A.; HENDERSON, D.E. Indigenous *Trichogramma* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) parasiting eggs of *Rhopobota*

*naevana* (Lepidoptera: Tortricidae) on cranberries in British Columbia. **Entomophaga**. v. 38, p. 313-135, 1993.

LORD, J. C. From Metchnikoff to Monsanto and beyond: the path of microbial control. **Journal of Invertebrate Pathology**. v. 89, p. 19-29, 2005.

LOMER, C.J.; BATEMAN, R.P.; JONHSON, D.L.; LABGEWALD, J. THOMAS, M.B. Biological control of locusts and grasshoppers. **Annual review of Entomology**. v. 46, p. 667-702, 2001.

LOPES, R.B.; ALVES, S.B.; TAMAI, M.A. Fungo *Metarhizium anisopliae* e o controle de *Frankliniella accidentalis* em alface hidropônico. **Scientia Agrícola**. v. 57, p. 239-243, 2000.

LOUGUERCIO, L. L.; CARNEIRO, N. P.; CARNEIRO, A.A. Milho Bt. **Revista Biotecnologia**. v. 4, p. 46-52, 2002.

LYNCH, J.M.; WILSON, K.L.; OUSLEY, .M.A.; WHIPPS, J.M. Response of lettuce to *Trichoderma* treatment. **Letters in Applied Microbiology**. v. 12, n. 2, p. 59-61, 1991.

MAGALHÃES, B.P.; MONNERAT, R.; ALVES, S.B. Interações entre Entomopatógenos, Parasitoides e Predadores. In: ALVES, S.B. (ed) **Controle Microbiano de Insetos**. 2 ed. Piracicaba: FEALQ, p. 195-216, 1998.

MARTIGNONI, M.E. Baculovirus: an attractive biological alternative. In: GARNER, W.Y.; HARVEY JUNIOR, J. (eds). **Chemical and biological controls in forestry**. Washington, D.C.: American Chemical Society. p. 5-67, 1984.

MARTINS-CORDER, M.P.; MELO, I.S. Antagonismo *in vitro* de *Trichoderma* spp. a *Verticillium dahliae* KLEB. **Scientia Agrícola**. v. 55, n. 1, p. 1-7, 1998.

MELO, I.S. Potencialidades de utilização de *Trichoderma* spp. No controle biológico de doenças de plantas. In: BETTIOL, W. **Controle biológico de doenças de plantas**. Jaguariúna: EMBRAPA-CNPDA, p. 135-156, 1991.

MELO, I.S. *Trichoderma* e *Gliocladium* como bioprotetores de plantas. In: LUZ, W.C. **Revisão anual de patologia de plantas**. v. 4, p. 261-295, 1996.

MELO, I.S. Agentes microbianos de controle de fungos fitopatogênicos. In: MELO, I.S.; AZEVEDO, J.L. **Controle Biológico**. 1ed., v. 1. Jaguariúna: EMBRAPA, p. 17-67, 1998.

MORALES, J.; GALLARDO, J.S.; VÁSQUEZ, C.; RÍOS, Y. Padrón de emergencia, longevidad, parasitismo y proporción sexual de *Telenomus remus* (Hymenoptera: Scelionidae) com relación al cogollero del maíz. **Bioagro**. v.12, n.2, p.47-54, 2000.

MORANDI FILHO, W.J.; BOTTON, M. GRÜTZMACHER, A.D.; GIOLO, F.P.; MANZONI, C.G. Ação de produtos naturais sobre a sobrevivência de *Argyrotaenia sphaleropa* (Meyrick)(Lepidoptera: Tortriciadae) e seletividade de inseticidas utilizados na produção orgânica de videira sobre *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae). **Ciência Rural**. v. 36, n.4, p. 1072-1078, 2006.

MOSCARDI, F.; SOUZA, M.L. **Baculovirus para o controle de pragas. Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento.** Londrina, n. 24, p. 22-29, 2002.

MOSCARDI, F.; SOSA-GÓMEZ, D.R. A case study in biological control: soybean defoliating caterpillars in Brazil. In: International crop science congress, 1., 1992, Ames, Iowa. **Anais ...Ames: Crop Science Society of America**, p. 115-119, 1992.

OKLEIFELD, O.; CHET, I. *Trichoderma harzianum*: interaction with plants and effect on growth. **Plant soil.** v. 144, n.2, p. 267-272, 1992.

OLIVEIRA, M.A.P. de. Efeitos de *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. e *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok. sobre parâmetros biológicos e fisiológicos de *Diatraea saccharalis* F. (Lepidoptera: Crambidae). 2006. 57 p. **Dissertação (Mestrado em Entomologia Agrícola)** - Programa de Pós- Graduação em Entomologia Agrícola, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 2006.

O'REILLY, D.R.; MILLER, L.K.; LUCKOW, V.A. **Baculovirus expression vectors: a laboratory manual.** Salt Lake City, UT: W.H. Freeman, 1992.

PARRA, J.R.P.; BOTELHO, P.S.M.; CORRÊA-FERREIRA, B.S.; BENTO, J.M.S. Controle Biológico: uma visão inter e multidisciplinar. In: PARRA, J.R.P.; BOTELHO, P.S.M.; CORRÊA-FERREIRA, B.S.; BENTO, J.M. (Ed.). **Controle Biológico no Brasil: parasitóides e predadores.** São Paulo: Manole, p. 125-142, 2002.

PARRA, J.R.P.; ZUCCHI, R.A. *Trichogramma* in Brazil: Feasibility of Use after Twenty Years of Research. **Neotropical Entomology.** v.33, n.3, p. 271-281, 2004.

PINTO, J.D. Taxonomia de *Trichogrammatidae* (Hymenoptera) com ênfase nos gêneros que parasitam Lepidoptera. In: PARRA, J.R.P.; ZUCCHI, R.A. (Ed.) **Trichogramma e o Controle Biológico Aplicado.** Piracicaba: FEALQ, 1997.

POLANCZYK, R.A.; ALVES, S. B. *Bacillus thuringiensis*: Uma breve revisão. **Agrociência.** v. 7, p. 1-10. 2003.

POLANCZYK, R.A.; PRATISSOLI, D.; VIANNA, U.R.; OLIVERIA, R.G.DOS S.; ANDRADE, G.S. Interação entre inimigos naturais: *Trichogramma* e *Bacillus thuringiensis* no controle biológico de pragas agrícolas. **Acta Scientiarum Agronomia.** v. 28, n. 2, p. 233-239, 2006.

POLANCZYK, R.A.; GRECCO, E.D.; ANDRADE, G.S.; CELESTINO, F.N.; BARBOSA, W.F.; FRANCO, C.R.; PRATISSOLI, D. Desempenho de *Trichogramma* spp. (Hymenoptera: Trichogrammatidae) em ovos de *Diaphania hyalinata* (L.) (Lepidoptera: Pyralidae) tratados com *Metarhizium anisopliae* e *Beauveria bassiana*. **Arquivos do Instituto Biológico.** v. 76, n. 3, p. 495-499, 2009.

POLANCZYK, R.A.; PRATISSOLI, D.; DALVI, L.P.; GRECCO, E.D.; FRANCO, C.R. Efeito de *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuillemin e *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorokin nos parâmetros biológicos de *Trichogramma atopovirilia* Oatman & Platner, 1983 (Hymenoptera: Trichogrammatidae). **Ciência e agrotecnologia.** v. 34, n. 6, p. 1412-1416, 2010.

- POMARI, A. F.; BUENO, A. F.; BUENO, R. C. O. F., MENEZES, A. O. J. Biological Characteristics and Thermal Requirements of the Biological Control Agent *Telenomus remus* (Hymenoptera: Platygasteridae) Reared on Eggs of Different Species of the Genus *Spodoptera* (Lepidoptera: Noctuidae). **Annals of the Entomological Society of America**. v. 105, n. 1, p. 73-81. 2012.
- POTRICH, M.; ALVES, L.F.A.; HAAS, J.; SILVA, E.R.L.; DAROS, A.; PIETROWSKI, V. NEVES, P.M.O.J. Seletividade de *Beauveria bassiana* e *Metarhizium anisopliae* a *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae). **Neotropical Entomology**. v. 38, n. 6, p. 822-826, 2009.
- REIS, P.R.; CHIAVEGATO, L.G.; MORAES, G.J.; ALVES, E.B.; SOUSA, E.O. Seletividade de agroquímicos ao ácaro predador *Iphiseiodes zuluagai* Denmark e Muma (Acari: Phytoseiidae). **Anais da sociedade entomológica do Brasil**. v. 27, n. 2, p. 65-274, 1998.
- ROA, F.G. **Control biológico, microbiológico y físico de *Spodoptera frugiperda*, plaga de maíz e otros cultivos em Colombia**. Colômbia: Corpoica – Relatório Técnico Final, 1999.
- ROHDE, C.; ALVESI, L.F.; NEVES, P. M.; ALVES, S. B.; SILVA, E.R. da; ALMEIDA, J.E de Seleção de isolados de *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. e *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok. contra o cascudinho *Alphitobius diaperinus* (Panzer) (Coleoptera: Tenebrionidae). **Neotropical Entomology**. v. 35, n. 2, p. 231-40, 2006.
- SANTOS, A.C.; BUENO, A.F.; BUENO, R.C.O.F. Seletividade de defensivos agrícolas aos inimigos naturais. In: PINTO, A.S.; NAVA, D.E.; ROSSI, M.M.; MALERBO-SOUZA, D.T. (Ed.). **Controle biológico de pragas na prática**. Piracicaba: Prol, p. 221-227, 2006.
- SANTOS, A.C.; GRAVENA, S. Seletividade de acaricidas a insetos e ácaros predadores em citros. **Anais da sociedade entomológica do Brasil**. v. 26, p. 99-105, 1997.
- SANTOS, A.C.; GRAVENA, S. Eficiência de diflubenzuron para ácaro da falsa ferrugem *Phyllocoptruta oleivora* (Ash.) (Acari: Eriophyidae) e seletividade à *Penttilia egena* (Muls.) (Coleoptera: Coccinelidae) e ácaros predadores (Acari: Phytoseiidae). **Anais da sociedade entomológica do Brasil**. v. 24, p. 345-351, 1995.
- SCHNEPF, E.; CRICKMORE, N.; VAN RIE, J.; LERECLUS, D.; BAUM, J.; FEITELSON, J.; ZEIGLER, D. R. AND DEAN D. H.; *Bacillus thuringiensis* and Its Pesticidal Crystal Proteins. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**. p. 775–806. 1998.
- SIABATO, J.A. Manejo biológico aplicado del complejo *Spodoptera* (Lep.: Noctuidae) com el parásito *Telenomus remus* Nixon (Hym.: Scelionidae). In: Congresso Sociedad Colombiana de Entomología, 22, Santa Fé de Bogota. **Resúmenes**, p. 11, 1995.
- SOSA-GÓMES, D.R.; PEREIRA, R.M.; ALVES, S.B. Impacto ambiental de entomopatógenos. In: ALVES, S.B. (ed.), **Controle Microbiano de Insetos**. 2 ed. Piracicaba: FEALQ, 1998.

ST. LEGER, R.J.; GOETTEL, M.; ROBERTS, D.W.; STAPLES, R.C. Penetration events during infection of host cuticle by *Metharizium anisopliae*. **Journal of Invertebrate Pathology**. v. 58, p. 168-179, 1991.

SUH, C.P.C.; ORR, D.B.; VAN DUYN, J.W. Effect of insecticides on *Trichogramma exiguum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) preimaginal development and adult survival. **Journal of Economic Entomology**. v. 93, p. 577-583, 2000.

TAMEZ-GUERRA, P.; MCGUIRE, M. R.; BEHLE, R. W.; SHASHA, B. S.; WONG, L.J. G. Assessment of microencapsulated formulations for improved residual activity of *Bacillus thuringiensis*. **Journal of Economic Entomology**. v. 93, n. 2, p. 219-225, 2000.

TANADA, Y.; KAYA, H.K. **Insect pathology**. New York: Academic, 1993.

VAN LENTEREN, J.C.; BUENO, V.H.P. Augmentative biological control of arthropods in Latin America. **Biocontrol**. v. 48, p. 123-139, 2003.

VEENA-BHAMRAH, H. S. Studies on pathogenicity and management of mole cricket, *Gryllotalpa gryllotalpa*. **Annals of Plant Protection Sciences**. v. 15, p. 381-383, 2007.

VINSON, S.B. Comportamento de seleção hospedeira de parasitoides de ovos, com ênfase na família Trichogrammatidae. In: PARRA, J.R.P. ZUCCHI, R.A. (ed.) **Trichogramma e Controle Biológico Aplicado**. Piracicaba: FEALQ, 1997.

VOLKMAN, L.E. Nucleopolyhedrovirus interactions with their insects hosts. **Advances in virus Research**. v. 48, p. 313-348, 1997.

WOJCIK, B.; WHITCOMB, W.H.; HABECH, O.H. Host range testing of *Telenomus remus* (Hymenoptera: Scelionidae). **Florida Entomologist**. v. 59, n. 2, p. 195-198, 1976.

YAMAMOTO, T.; DEAN, D. H. Insecticidal proteins produced by bacteria pathogenic to agricultural pests. In: CHARLES, J.F.; DELÉCLUSE, A.; NIELSEN-LEROUX, C. (Ed.). **Entomopathogenic bacteria: from laboratory to field application**. Netherlands: Kluwer Academic Publishers, p. 81-100. 2000.

ZUCCHI, R.A.; MONTEIRO, R.C. O gênero *Trichogramma* na América do Sul. In: Parra, J.R.P.; ZUCCHI, R.A. (ed.) **Trichogramma e o Controle Biológico Aplicado**. Piracicaba: FEALQ, 1997.

#### 4 ARTIGO A

### SELETIVIDADE DE PRODUTOS BIOLÓGICOS A *Trichogramma pretiosum* (HYMENOPTERA: TRICHOGRAMMATIDAE) EM LABORATÓRIO

#### RESUMO

Utilizando a metodologia proposta pelo Grupo de Trabalho de Pesticidas e Organismos Benéficos da Organização Internacional para o Controle Biológico (IOBC – International Organization for Biological Control) para estudos de seletividade de agrotóxicos a *Trichogramma cacoeciae* (Marchal), a seletividade de diferentes entomopatógenos e um inseticida químico (testemunha positiva) a pupas e adultos do parasitoide de ovos *Trichogramma pretiosum* Riley foi avaliada em laboratório ( $25\pm 2^{\circ}\text{C}$ ;  $70\pm 10\%$  UR; fotoperíodo 14/10). Todos os entomopatógenos estudados, Baculovirus anticarsia (Baculovirus AEE<sup>®</sup>), *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* (Thuricide<sup>®</sup>), *Bacillus thuringiensis* var. *aizawai* (Agree<sup>®</sup>), *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* (Dipel<sup>®</sup>), *Beauveria bassiana* (Boveril<sup>®</sup>), *Metarhizium anisopliae* (Metarril<sup>®</sup>) e *Trichoderma harzianum* (Trichodermil<sup>®</sup>), não apresentaram efeitos nocivos sobre os parâmetros biológicos avaliados e foram, portanto, classificados como inócuos (classe 1) para *T. pretiosum*. Baculovirus anticarsia (Baculovirus AEE<sup>®</sup>) diferiu estatisticamente da testemunha com relação a emergência de *T. pretiosum* de ovos de *Anagasta kuehniella* (Zeller) pulverizados antes do parasitismo na avaliação com chance de escolha (entre ovos do hospedeiro pulverizados com o entomopatógeno ou com água), mas que ainda apresentou viabilidade acima de 90%. Diferentemente dos entomopatógenos, o inseticida Clorpirifós causou mortalidade e inviabilidade de ovos e adultos em todos os bioensaios. Portanto, que *T. pretiosum* e os entomopatógenos podem ser empregados simultaneamente em programas de manejo integrado de pragas (MIP). O uso de clorpirifós, ao contrário, deve ser evitado e o produto substituído por outro mais seletivo aos inimigos naturais sempre que possível.

**Palavras-chave** *Bacillus thuringiensis*. Baculovirus anticarsia. *Beauveria bassiana*. *Metarhizium anisopliae*. *Trichoderma harzianum*.

**BIOLOGICAL PRODUCTS SELECTIVITY TO *Trichogramma pretiosum*  
(HYMENOPTERA: TRICHOGRAMMATIDAE) IN LABORATORY**

**ABSTRACT**

Using the methodology given by the Pesticides Work Group of the International Organization of Beneficial Organisms for Biological Control (IOBC – International Organization for Biological Control) to selectivity studies of pesticides to *Trichogramma cacoeciae* (Marchal), the selectivity of several entomopathogens and an insecticide (positive control) to pupae and adults of the egg parasitoid *Trichogramma pretiosum* Riley was evaluated in laboratory ( $25\pm 2^{\circ}\text{C}$ ;  $70\pm 10\%$  RH; photoperiod 14/10). All entomopathogen evaluated, Baculovirus anticarsia (Baculovirus AEE<sup>®</sup>), *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* (Thuricide<sup>®</sup>), *Bacillus thuringiensis* var. *aizawai* (Agree<sup>®</sup>), *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* (Dipel<sup>®</sup>), *Beauveria bassiana* (Boveril<sup>®</sup>), *Metarhizium anisopliae* (Metarril<sup>®</sup>) and *Trichoderma harzianum* (Trichodermil<sup>®</sup>), did not show harmful effects to any biological characteristics evaluated, and therefore were classified as harmless to *T. pretiosum*. Baculovirus anticarsia (Baculovirus AEE<sup>®</sup>) sprayed over *Anagasta kuehniella* (Zeller) eggs before they have been parasitized, made the emergence of *T. pretiosum* smaller than they were non-sprayed, in the experiment with freedom of choice, but the sprayed eggs still had emergence above 90%. The insecticide, clorpirifós, was harmful to every aspect and all bioassays. Therefore *T. pretiosum* and entomopathogens can be used simultaneously in integrated pest management (IPM). In the other hand, clorpirifós, must be avoided and replaced by others less harmful to the natural enemies.

**Key-words** *Bacillus thuringiensis*, Baculovirus anticarsia, *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae*, *Trichoderma harzianum*.

#### 4.1 INTRODUÇÃO

Entre os diversos agentes de controle biológico, os parasitoides de ovos do gênero *Trichogramma* têm sido usados na agricultura mundial, principalmente devido a facilidade de criação e eficiência no controle das pragas (PARRA; ZUCCHI, 2004). Em 1996 estudos com *Trichogramma* spp. já eram conduzidos em mais de 50 países e liberações eram realizadas comercialmente em mais de 32 milhões de hectares todo ano (SMITH, 1996). Apesar da importância dos parasitoides de ovos do gênero *Trichogramma*, estes agentes de controle biológico são específicos para controle de ovos de lepidópteros, sendo assim, outras ferramentas de controle podem vir a ser necessárias no manejo de pragas das diferentes culturas quando outras fases de desenvolvimento dos insetos-pragas estiverem presentes, como por exemplo, as lagartas (MONNERAT et al., 2007).

Para manejo dessas pragas, a forma de controle mais usada na agricultura mundial é o uso de inseticidas sintéticos que podem trazer várias consequências indesejáveis ao agroecossistema e que podem reduzir ou inviabilizar o controle biológico realizado pelos parasitoides de ovos (LOGUERCIO et al., 2002). Entretanto, dentro do manejo integrado de pragas, a integração de diversas táticas de controle de forma harmônica vem sendo preconizada. Com essa integração de meios de controle que visam a sustentabilidade da agricultura é possível manter as populações de pragas agrícolas abaixo do nível de dano econômico, conservando o ambiente e os artrópodes benéficos (VAN LENTEREN; BUENO, 2003).

Neste contexto, outra tática de controle que pode ser utilizada no manejo de diversas populações de pragas agrícolas, além dos parasitoides, são os entomopatógenos (MAGALHÃES; MONNERAT; ALVES, 1998). Entre os principais entomopatógenos de importância agrícola estão baculovirus anticarsia (AgMNPV) em soja (HOFFMANN-CAMPO et al., 2003), *Bacillus thuringiensis* que causa mortalidade em mais de 1.000 espécies de insetos pertencentes a várias ordens (GLARE; O'CALLAGHAM, 2000), o fungo *Beauveria bassiana* (Balsamo, 1835) Vuillemin que tem ampla distribuição geográfica e causa doença em ordens como Lepidoptera, Coleoptera, Hemiptera, Diptera, Hymenoptera e Orthoptera (ALVES, 1998), *Metarhizium anisopliae* (Metschnikoff, 1879) Sorokin, que é uma das mais importantes espécies fungos entomopatogênicos, podendo infectar mais de 300 espécies de insetos de diversas ordens (ALVES, 1998) e *Trichoderma harzianum*

que é um micro-organismo necrotrófico e tem eficácia no controle de outros fungos fitopatogênicos (MELO, 1998), mas pode ter também efeito nocivos sobre insetos, como já relatado para *Myzus persicae* (GANASSI; ALTOMARE; SABATINI, 2009), *Spodoptera littoralis* (EL-KATATNY, 2010), e *Gryllotalpa gryllotalpa* (VEENA-BHAMRAH, 2007).

Apesar da eficiência desses entomopatógenos, há a possibilidade de que estes interfiram negativamente no comportamento e/ou eficiência dos parasitoides de ovos, podendo até mesmo infectá-los diretamente (MAGALHÃES; MONNERAT; ALVES, 1998). Sendo assim, a seletividade é a chave para a integração harmônica dessas diferentes ferramentas de manejo dentro do conceito de manejo integrado de pragas (MIP) em sistemas que visam reduzir a população de insetos nocivos, sem alterar ou promovendo o mínimo possível de alteração em outros componentes do agroecossistema e do ambiente de maneira geral. Portanto, os bioinseticidas só podem ser associados a outras táticas de manejo adotadas em MIP, como *T. pretiosum*, por exemplo, se apresentarem algum grau de seletividade (BOSCH et al., 1982).

Assim, visando compatibilizar ambas estratégias de controle biológico, é necessário primeiramente conhecer a seletividade e/ou possíveis efeitos nocivos que os entomopatógenos possam ter sobre a eficiência dos parasitoides de ovos. Portanto, este trabalho objetivou avaliar a seletividade de diferentes entomopatógenos ao parasitoide de ovos *T. pretiosum*.

## 4.2 MATERIAL E MÉTODOS

Para isso foram conduzidos 4 bioensaios independentes visando avaliar o impacto desses entomopatógenos sobre pupas e adultos do parasitoide assim como a capacidade de escolha deste agente de controle biológico por ovos do hospedeiro pulverizados com esses tratamentos ou água, em testes com e sem chance de escolha.

Os diferentes bioensaios foram conduzidos de forma independente em delineamento inteiramente casualizado, em condições controladas de laboratório [25 ± 2°C, umidade relativa (UR) de 70 ± 10% e fotofase de 14 h] com cinco repetições por tratamento (Tabela 4.1).

Foram feitas análises para avaliar a homogeneidade dos resíduos, aditividade do modelo e normalidade dos resíduos e então foi feita a análise de variância para todos os bioensaios e constatando diferença significativa, foram feitos teste de Tukey para os bioensaios um, dois e quatro, e comparação aos pares pelo teste F para o bioensaio três (SAS Institute, 2001). Os dados foram transformados em arco-seno  $\sqrt{X/100}$  quando foi necessário ajustá-los a distribuição normal.

**Tabela 4.1** - Tratamentos avaliados para seletividade ao parasitoide de ovos *Trichogramma pretiosum* em condições controladas de laboratório e dose comercial dos produtos.

Produto comercial (p.c.)	Formulação	Ingrediente ativo (i.a.)	i.a./100 L H <sub>2</sub> O
Água	-	Água destilada	-
Baculovirus AEE <sup>®</sup>	0,6 WP	AgMNPV	1,4 x 10 <sup>11</sup> CPI <sup>1</sup>
Thuricide <sup>®</sup>	3,2 WP	<i>Bacillus thuringiensis</i> var. <i>kurstaki</i>	9,6 x 10 <sup>9</sup> UI <sup>2</sup>
Agree <sup>®</sup>	50 WP	<i>Bacillus thuringiensis</i> var. <i>aizawai</i>	5 x 10 <sup>9</sup> UI
Dipel <sup>®</sup>	3,2 WP	<i>Bacillus thuringiensis</i> var. <i>kurstaki</i>	6,2 x 10 <sup>9</sup> UI
Boveril <sup>®</sup>	5 WP	<i>Beauveria bassiana</i>	1x10 <sup>13</sup> conídios
Metarril <sup>®</sup>	5 WP	<i>Metarhizium anisopliae</i>	1,6x10 <sup>12</sup> conídios
Trichodermil <sup>®</sup>	48 SC	<i>Trichoderma harzianum</i>	5x10 <sup>12</sup> conídios
Lorsban <sup>®</sup>	480 EC	Clorpirifós	240 g

<sup>1</sup>Corpos poliedricos de inclusão. <sup>2</sup> Unidades internacional.

4.2.1 - Criação De Manutenção Do Hospedeiro *Anagasta kuehniella* (Zeller, 1879) (Lepidoptera: Pyralidae) E Do Parasitoide De Ovos *Trichogramma Pretiosum* Riley, 1879 (Hymenoptera: Trichogrammatidae)

Os ovos de *A. kuehniella* utilizados no estudo, assim como os espécimes de *T. pretiosum* foram provenientes da criação da Embrapa Soja, onde vêm sendo criados de acordo com a metodologia descrita por Parra (1997), por seis anos.

#### 4.2.2 Bioensaio 1: Entomopatógenos Pulverizados Sobre Pupas De *T. Pretiosum*

Os bioensaios de seletividade com pupas de *T. pretiosum* foram conduzidos segundo as normas padronizadas pela “International Organization for Biological Control” (IOBC) (HASSAN, 1992). Cartelas de 3 cm<sup>2</sup> contendo cerca de 500 ovos de *A. kuehniella* foram oferecidas, para oviposição, às fêmeas de *T. pretiosum* recém-emergidas, sendo permitido o parasitismo por 24 h. Em seguida, essas cartelas foram transferidas para tubos de vidro (2,5 cm de diâmetro x 8 cm de altura) até o momento da aplicação dos tratamentos (Tabela 4.1).

Os ovos de *A. kuehniella*, contendo a fase de pupa (córion do ovo enegrecido) do parasitoide (168-192 h) após o parasitismo (CÔNSOLI et al., 1999) foram pulverizados com suspensões dos entomopatógenos além dos controles positivo (clorpirifós) e negativo (água) (Tabela 4.1). A pulverização foi realizada utilizando “Torre de Potter” calibrada para depositar um volume de calda de  $1,25 \pm 0,25$  mg cm<sup>-2</sup>, o que está de acordo com as normas padronizadas pela IOBC (HASSAN, 1992). Este volume aplicado foi controlado através da pesagem das placas com balança eletrônica de precisão, antes e após a pulverização dos tratamentos. Em seguida, os ovos pulverizados contendo as pupas de *T. pretiosum* foram mantidas a  $25 \pm 2^\circ\text{C}$  e umidade relativa (UR) de  $70 \pm 10\%$  por cerca de duas horas, para eliminação do excesso de umidade. Posteriormente, as cartelas tratadas foram inseridas em gaiolas confeccionadas conforme metodologia propostas por Hassan (1992) (Figura 4.1) até a emergência dos adultos, que foram alimentados com mel.

**Figura 4.1** Foto das gaiolas propostas pela metodologia proposta por Hassan (1992).



Cartelas, contendo ovos de *A. kuehniella* ( $\pm 200$  ovos de até 24h) com filetes de mel, foram oferecidas um e cinco dias após a emergência dos adultos. No sexto dia, as cartelas foram armazenadas, em câmara climatizada, a  $25 \pm 2^\circ\text{C}$ , umidade relativa de  $70 \pm 10\%$  e fotofase de 14 horas, em sacos plásticos com ar até a avaliação. A viabilidade em porcentagem das pupas pulverizadas, foi calculado através do número de ovos de *A. kuehniella* que tiveram adultos do parasitoide emergidos dividido pelo número de ovos parasitados multiplicados por cem, assim como a porcentagem de parasitismo (número de ovos parasitados dividido pelo número de ovos não parasitados, multiplicado por cem) e viabilidade do parasitismo (número de ovos parasitados dos quais adultos emergiram dividido pelo número de ovos parasitados, multiplicados por cem) da geração  $F_1$  foram os parâmetros quantificados.

#### 4.2.3 - Bioensaio 2: Entomopatógenos Pulverizados Sobre A Superfície De Caminhamento Dos Adultos De *T. Pretiosum*

Tubos de Duran (tubos de emergência), contendo uma gotícula de mel em sua parede interior, receberam ovos de *A. kuehniella* parasitadas por *T. pretiosum* ( $\pm 200$  ovos), sendo posteriormente, vedados com filme plástico e armazenados em ambiente controlado, à temperatura de  $25 \pm 2^\circ\text{C}$ , umidade relativa de  $70 \pm 10\%$  e fotofase de 14 horas, até à emergência dos parasitoides. Posteriormente a emergência, placas de vidro (13 x 13 cm) receberam pulverizações de suspensões com os entomopatógenos (Tabela 4.1) utilizando “Torre de Potter”

regulada para depositar um volume de suspensão de  $1,25 \pm 0,25 \text{ mg cm}^{-2}$ . Após esta aplicação, as placas secaram por um período de duas horas a  $25 \pm 2^\circ\text{C}$  e umidade relativa de  $70 \pm 10\%$ . Posteriormente, essas placas foram fixadas em molduras de alumínio, com corrente de ar circulante, exercida por um exaustor conforme metodologia proposta por Hassan (1992). Após montadas com fluxo de ar circulante, tubos de emergência envolvidos com papel alumínio, contendo aproximadamente 200 parasitoides, foram conectados aos orifícios de emergência (CARMO et al., 2010).

Um e cinco dias após a liberação dos adultos nas gaiolas foram oferecidas cartelas, contendo posturas de *A. kuehniella* ( $\pm 200$  ovos) com filetes de mel. Essas cartelas foram retiradas do interior das gaiolas no sexto dia do experimento sendo introduzidas em sacos plásticos transparentes com ar que foram armazenadas, em câmara climatizada, a  $25 \pm 2^\circ\text{C}$ , umidade relativa de  $70 \pm 10\%$  e fotofase de 14 horas até a emergência dos parasitoides para posterior avaliação do parasitismo e viabilidade, que foi feita como a do bioensaio 1.

#### 4.2.4 - Bioensaio 3: Entomopatógenos Pulverizados Sobre Os Ovos Do Hospedeiro Em Testes Com Chance De Escolha Para O Parasitismo De *T. Pretiosum*

Cartelas de  $3 \text{ cm}^2$  contendo aproximadamente 200 ovos de *A. kuehniella* foram pulverizados com os produtos (Tabela 4.1). Assim como descrito para os bioensaios anteriores, a pulverização foi realizada diretamente utilizando "Torre de Potter". Posteriormente, as cartelas com os ovos tratados foram inseridas nas gaiolas propostas por Hassan (1992) com fluxo de ar circulante. Para cada cartela pulverizada com entomopatógeno foi colocada junto uma cartela testemunha pulverizada com água. Em seguida, tubos de emergência contendo aproximadamente 300 parasitoides foram envolvidos com papel alumínio e conectados aos orifícios de emergência destas gaiolas (CARMO et al., 2010) oferecendo assim chance de escolha para o parasitismo entre ovos de *A. kuehniella* tratados e não tratados (dupla escolha). No quinto dia após o início do ensaio, uma segunda cartela contendo a mesma quantidade de ovos e recém-pulverizada com os mesmos produtos foi também introduzida na gaiola do teste. Essas cartelas foram retiradas do interior das gaiolas no sexto dia do experimento sendo introduzidas em sacos plásticos transparentes com ar e armazenadas a  $25 \pm 2^\circ\text{C}$ , umidade relativa

de  $70 \pm 10\%$  e fotofase de 14 horas até a emergência dos parasitoides, para posterior avaliação idêntica a do bioensaio 1 para, parasitismo e viabilidade, e consequentemente, da preferência dos parasitoides por ovos pulverizados com os entomopatógenos ou com água.

#### 4.2.5 - Bioensaio 4: Entomopatógenos Pulverizados Sobre Os Ovos Do Hospedeiro Em Testes Sem Chance De Escolha Para O Parasitismo De *T. Pretiosum*

Assim como no bioensaio com chance de escolha, cartelas de  $3 \text{ cm}^2$  contendo aproximadamente 200 ovos de *A. kuehniella* foram pulverizados com suspensões dos tratamentos (Tabela 4.1) e inseridas nas gaiolas propostas por Hassan (1992) com fluxo de ar circulante no interior, mas sem uma cartela testemunha dentro da mesma gaiola. Cada tratamento (Tabela 4.1) foi inserido em uma gaiola isolada. Em seguida, os mesmos procedimentos adotados no bioensaio 3 foram também adotados para este bioensaio sem chance de escolha. Tubos de emergência contendo aproximadamente 300 parasitoides foram envolvidos com papel alumínio e conectados aos orifícios de emergência (CARMO et al., 2010). No quinto dia após o início do ensaio, uma segunda cartela contendo a mesma quantidade de ovos e recém-pulverizadas com os mesmos tratamentos foram também introduzidas nas gaiolas do teste. Essas cartelas foram retiradas do interior das gaiolas no sexto dia do experimento sendo introduzidas em sacos plásticos transparentes com ar que foram armazenadas a  $25 \pm 2^\circ\text{C}$ , umidade relativa de  $70 \pm 10\%$  e fotofase de 14 horas até a emergência dos parasitoides para posterior avaliação do parasitismo e viabilidade da mesma maneira que nos bioensaios anteriores.

### 4.3 RESULTADOS

#### 4.3.1 Bioensaio 1: Entomopatógenos Pulverizados Sobre Pupas De *T. Pretiosum*

Os entomopatógenos pulverizados sobre os ovos do hospedeiro contendo pupas de *T. pretiosum* não interferiram na emergência dos adultos (viabilidade de pupas). Além disso, o parasitismo e a viabilidade do parasitismo da geração  $F_1$ , originado destas pupas pulverizadas com entomopatógenos, também

não diferiram entre si ou em relação à testemunha (água) em nenhum dos dias avaliados (Tabela 4.2) e por isso, foram classificados como inócuos (classe 1) (HASSAN, 1985) a essa fase de desenvolvimento do parasitoide (Tabela 4.3). Neste ensaio com pupas, apenas o tratamento com clorpirifós (testemunha positiva) diferiu da testemunha e dos demais tratamentos, impactando negativamente o parasitismo e emergência dos adultos (Tabela 4.2) e, por isso, foi classificado como moderadamente nocivo (classe 3) ou nocivo (classe 4) (HASSAN, 1985) (Tabela 4.3).

**Tabela 4.2** - Efeito de diferentes entomopatógenos sobre pupas de *Trichogramma pretiosum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae), um e cinco dias após a emergência (DAE) dos adultos oriundos de ovos de *A. kuehniella* tratados quando o parasitoide se encontrava no estágio de pupa (bioensaio com pupas) ou da geração F<sub>1</sub>.

Tratamento i.a. 100 L <sup>-1</sup> H <sub>2</sub> O	Pupas pulverizadas <sup>1</sup> Viabilidade(%)	1 DAE <sup>1</sup>		5 DAE <sup>1</sup>	
		Parasitismo(%)	Viabilidade(%)	Parasitismo(%)	Viabilidade(%)
Água	92,54±1,11a <sup>2</sup>	87,91±2,10a	97,64±1,70 <sup>ns</sup>	84,10±2,06a	97,56±0,86 <sup>ns</sup>
AgMNPV 1,4 x 10 <sup>11</sup> CPI	92,87±1,10a	89,74±1,55a	96,48±1,34	85,35±2,58a	95,80±0,94
<i>B. thuringiensis</i> var. <i>kurstaki</i> 9,6 x 10 <sup>9</sup> UI	94,26±0,72a	88,22±2,90a	96,57±0,23	91,02±2,02a	96,80±0,80
<i>B. thuringiensis</i> var. <i>aizawai</i> 5 x 10 <sup>9</sup> UI	94,21±1,40a	87,48±3,85a	94,45±0,47	88,28±3,02a	95,92±1,86
<i>B. thuringiensis</i> var. <i>kurstaki</i> 6,2 x 10 <sup>9</sup> UI	92,83±0,47a	88,67±2,90a	96,93±1,27	87,03±1,35a	97,10±0,83
<i>B. bassiana</i> 1x10 <sup>13</sup> conídios	93,13±1,60a	92,95±2,56a	96,67±0,58	80,60±4,63a	95,80±1,43
<i>M. anisopliae</i> 1,6x10 <sup>12</sup> conídios	94,64±1,30a	86,32±4,57a	96,52±1,05	87,81±3,15a	95,63±1,13
<i>T. harzianum</i> 5x10 <sup>12</sup> conídios	95,31±1,30a	85,05±3,17a	96,80±0,98	85,04±5,44a	93,21±2,66
Clorpirifós 240g	8,10±3,03b	0,00±0,00b	-	0,00±0,00b	-
CV (%)	5,49	8,29	2,45	8,74	3,37
F	140,35	102,85	0,75	93,11	0,84
P	<0,0001	<0,0001	0,6361	<0,0001	0,56
GL <sub>resíduo</sub>	36	36	32	35	31

<sup>1</sup>Médias ± EPM seguidas pela mesma letra na coluna em cada bioensaio não diferem entre si pelo teste de Tukey (5% de probabilidade). <sup>2</sup>Resultados originais seguido das análises realizadas com os dados transformados em arcoseno  $\sqrt{X / 100}$ . <sup>ns</sup>ANOVA não significante.

**Tabela 4.3** - Classificação da seletividade dos entomopatógenos a *Trichogramma pretiosum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) segundo a “International Organisation for Biological Control” (IOBC) em diferentes bioensaios e dias após a emergência do adulto (DAE) ou dias após a pulverização (DAP).

Tratamento i.a. 100 L <sup>-1</sup> H <sub>2</sub> O	DAE/DAP									
	Pupas		1		5		1		5	
	EP <sup>1</sup>	C <sup>3</sup>	E <sup>2</sup>	C	E	C	E	C	E	C
Bioensaios 1 (pupas pulverizadas) e 2 (superfície de contato pulverizada)	Bioensaio 1: pupas					Bioensaio 2: adultos				
AgMNPV 1,4 x 10 <sup>11</sup> CPI	0,4	1	0	1	0	1	0	1	4,8	1
<i>B. thuringiensis</i> var. <i>kurstaki</i> 9,6 x 10 <sup>9</sup> UI	1,8	1	0	1	0	1	1,3	1	6,3	1
<i>B. thuringiensis</i> var. <i>aizawai</i> 5 x 10 <sup>9</sup> UI	1,8	1	0,5	1	0	1	0	1	5,3	1
<i>B. thuringiensis</i> var. <i>kurstaki</i> 6,2 x 10 <sup>9</sup> UI	0,3	1	0	1	0	1	3,5	1	6,3	1
<i>B. bassiana</i> 1x10 <sup>13</sup> conídios	0,6	1	0	1	4,2	1	0	1	8,8	1
<i>M. anisopliae</i> 1,6x10 <sup>12</sup> conídios	2,3	1	1,8	1	0	1	2,5	1	6,1	1
<i>T. harzianum</i> 5x10 <sup>12</sup> conídios	3,0	1	3,2	1	0	1	1,8	1	10,3	1
Clorpirifós 240g	91,3	3	100	4	100	4	100	4	100	4
Bioensaios 3 e 4 com pulverização dos ovos	Bioensaio 3: Com chance de escolha					Bioensaio 4: Sem chance de escolha				
AgMNPV 1,4 x 10 <sup>11</sup> CPI	-	-	1,9	1	12,9	1	5	1	25	1
<i>B. thuringiensis</i> var. <i>kurstaki</i> 9,6 x 10 <sup>9</sup> UI	-	-	2,4	1	6,8	1	0	1	6	1
<i>B. thuringiensis</i> var. <i>aizawai</i> 5 x 10 <sup>9</sup> UI	-	-	2,4	1	1,9	1	4	1	0	1
<i>B. thuringiensis</i> var. <i>kurstaki</i> 6,2 x 10 <sup>9</sup> UI	-	-	0,0	1	9,2	1	0	1	77	2
<i>B. bassiana</i> 1x10 <sup>13</sup> conídios	-	-	0,1	1	0,0	1	0	1	0	1
<i>M. anisopliae</i> 1,6x10 <sup>12</sup> conídios	-	-	4,4	1	0,9	1	0	1	0	1
<i>T. harzianum</i> 5x10 <sup>12</sup> conídios	-	-	2,7	1	3,9	1	0	1	0	1
Clorpirifós 240g	-	-	97,8	3	-	-	100	4	100	4

<sup>1</sup>EP(Porcentagem de redução da viabilidade)=(1-Viabilidade no tratamento/Viabilidade na testemunha) x 100). <sup>2</sup>E(Porcentagem de redução do parasitismo)=(1-Parasitismo no tratamento/Parasitismo na testemunha) x 100 (Hassan, 1985). <sup>3</sup>Classificação: classe 1 = inócuo (E<30%), classe 2 =levemente nocivo (30%≤E<80), classe 3 = moderadamente nocivo (80%≤E<99), classe 4 = nocivo (E≥99%).

#### 4.3.2 Bioensaio 2: Entomopatógenos Pulverizados Sobre A Superfície De Caminhamento Dos Adultos De *T. Pretiosum*

No bioensaio no qual os adultos entraram em contato com os tratamentos por caminharem sobre a superfície pulverizada, foram avaliadas no primeiro e quinto dia após a emergência dos adultos, a porcentagem e a viabilidade

do parasitismo de *T. pretiosum* em ovos de *A. kuehniella*. Em ambos os dias de avaliação e para as duas variáveis observadas, todos os entomopatógenos não diferiram da testemunha (Tabela 4.4) e foram classificados como inócuos (classe 1) (HASSAN, 1985) (Tabela 4.3). Ainda, para o tratamento clorpirifós não houve parasitismo em nenhum dos dias analisados (Tabela 4.2) sendo, portanto, o mesmo classificado como nocivo (classe 4) (HASSAN, 1985) (Tabela 4.3).

**Tabela 4.4** - Efeito de diferentes entomopatógenos sobre adultos de *Trichogramma pretiosum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae), um e cinco dias após a emergência (DAE) dos adultos oriundos de ovos de *A. kuehniella* tratados.

Tratamento i.a. 100 L <sup>-1</sup> H <sub>2</sub> O	1 DAE <sup>1</sup>		5 DAE <sup>1</sup>	
	Parasitismo(%)	Viabilidade(%)	Parasitismo(%)	Viabilidade(%)
Água	89,65±2,51a	97,70±0,73 <sup>ns</sup>	94,20±5,80 <sup>a</sup>	96,81±1,90 <sup>ns</sup>
AgMNPV 1,4 x 10 <sup>11</sup> CPI	94,67±2,20a	94,20±1,20	89,64±7,20 <sup>a</sup>	96,23±1,50
<i>B. thuringiensis</i> var. <i>kurstaki</i> 9,6 x 10 <sup>9</sup> UI	88,56±3,57a	94,80±0,60	88,24±4,66 <sup>a</sup>	98,80±0,85
<i>B. thuringiensis</i> var. <i>aizawai</i> 5 x 10 <sup>9</sup> UI	93,20±3,82a	95,26±2,08	89,17±5,03 <sup>a</sup>	97,82±1,12
<i>B. thuringiensis</i> var. <i>kurstaki</i> 6,2 x 10 <sup>9</sup> UI	86,54±2,36a	96,24±1,41	88,31±4,30 <sup>a</sup>	96,75±2,08
<i>B. bassiana</i> 1x10 <sup>13</sup> conídios	91,36±3,12a	94,14±1,89	85,91±6,16 <sup>a</sup>	97,22±0,80
<i>M. anisopliae</i> 1,6x10 <sup>12</sup> conídios	87,40±1,07a	95,12±0,87	88,50±3,08 <sup>a</sup>	96,31±0,77
<i>T. harzianum</i> 5x10 <sup>12</sup> conídios	88,04±4,22a	95,36±2,04	84,45±3,82 <sup>a</sup>	95,93±1,53
Clorpirifós 240g	0,00±0,00b	-	0,00±0,00b	-
CV (%)	8,1	3,46	13,01	3,08
F	108,59	0,62	42,16	0,49
P	<0,0001	0,7349	<0,0001	0,83
GL <sub>resíduo</sub>	34	31	33	30

<sup>1</sup>Médias ± EPM seguidas pela mesma letra na coluna em cada bioensaio não diferem entre si pelo teste de Tukey (5% de probabilidade). <sup>ns</sup>ANOVA não significante.

#### 4.3.3 Bioensaio 3: Entomopatógenos Pulverizados Sobre Os Ovos Do Hospedeiro Em Testes Com Chance De Escolha Para O Parasitismo De *T. Pretiosum*

Quando foi oferecida a chance de escolha entre cartelas pulverizadas com os tratamentos e pulverizadas com água aos adultos de *T. pretiosum*, no primeiro e quinto dia após a pulverização, somente houve diferença estatística para a viabilidade do parasitismo no primeiro dia após a pulverização no tratamento AgMNPV 1,4 x 10<sup>11</sup>CPI (corpos poliédricos de inclusão) de 91,8%, mas que ainda foi superior a 90% (Tabela 4.5). Dentre os demais entomopatógenos avaliados e suas respectivas testemunhas não houve diferença, tanto para

viabilidade, quanto para parasitismo (Tabela 4.5). Sendo assim, considerando que os entomopatógenos pouco impactaram a escolha dos ovos hospedeiros para o parasitismo de *T. pretiosum*, a classificação para todos os entomopatógenos foi inócuo (classe 1) (HASSAN, 1985) (Tabela 4.3). Semelhante aos resultados dos bioensaios relatados anteriormente, os ovos tratados com clorpirifós diferiram estatisticamente da testemunha, apresentando baixos níveis de parasitismo e de viabilidade (Tabela 4.5), levando-o a ser classificado como moderadamente nocivo (classe 3) (HASSAN, 1985) (Tabela 4.3).

**Tabela 4.5** - Parasitismo e viabilidade do parasitismo (Média  $\pm$  EP) de *Trichogramma pretiosum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) em ovos de *Anagasta kuehniella* (Lepidoptera: Noctuidae) pulverizados com diferentes entomopatógenos, com chance de escolha, em dias após a pulverização (DAP).

Tratamento i.a./100 L <sup>-1</sup> H <sub>2</sub> O	1 DAP		5 DAP	
	Parasitismo (%) <sup>1</sup>	Viabilidade (%) <sup>1</sup>	Parasitismo (%) <sup>1</sup>	Viabilidade (%) <sup>1</sup>
Água	90,1 $\pm$ 0,9 <sup>ns</sup>	95,0 $\pm$ 0,6 <sup>a</sup>	81,0 $\pm$ 4,2 <sup>ns</sup>	95,0 $\pm$ 0,7 <sup>ns</sup>
AgMNPV 1,4 x 10 <sup>11</sup> CPI	88,4 $\pm$ 1,3	91,8 $\pm$ 1,1 <sup>b</sup>	70,5 $\pm$ 3,3	95,3 $\pm$ 1,0
CV	2,84	2,06	10,05	1,87
Água	87,9 $\pm$ 2,6 <sup>ns</sup>	92,4 $\pm$ 2,1 <sup>ns</sup>	80,8 $\pm$ 4,3 <sup>ns</sup>	93,2 $\pm$ 2,3 <sup>ns</sup>
<i>B. thuringiensis</i> var. <i>kurstaki</i> 9,6 x 10 <sup>9</sup> UI	85,8 $\pm$ 1,1	90,9 $\pm$ 2,0	75,3 $\pm$ 0,5	94,1 $\pm$ 4,6
CV	5,16	4,98	8,63	6,66
Água	89,3 $\pm$ 2,4 <sup>ns</sup>	93,7 $\pm$ 1,1 <sup>ns</sup>	83,7 $\pm$ 1,8 <sup>ns</sup>	95,2 $\pm$ 2,0 <sup>ns</sup>
<i>B. thuringiensis</i> var. <i>aizawai</i> 5 x 10 <sup>9</sup> UI	87,2 $\pm$ 2,1	93,2 $\pm$ 0,4	82,1 $\pm$ 2,6	96,0 $\pm$ 2,4
CV	5,74	1,67	5,35	4,64
Testemunha	87,2 $\pm$ 2,2 <sup>ns</sup>	94,3 $\pm$ 1,1 <sup>ns</sup>	79,6 $\pm$ 5,5 <sup>ns</sup>	94,1 $\pm$ 0,9 <sup>ns</sup>
<i>B. thuringiensis</i> var. <i>kurstaki</i> 6,2 x 10 <sup>9</sup> UI	88,3 $\pm$ 2,8	94,0 $\pm$ 1,4	72,3 $\pm$ 7,6	88,4 $\pm$ 4,2
CV	6,54	2,98	17,55	6,69
Água	91,9 $\pm$ 1,0 <sup>ns</sup>	94,5 $\pm$ 0,8 <sup>ns</sup>	78,5 $\pm$ 3,8 <sup>ns</sup>	95,5 $\pm$ 1,5 <sup>ns</sup>
<i>B. bassiana</i> 1 x 10 <sup>13</sup> conídios	91,9 $\pm$ 2,0	93,8 $\pm$ 0,5	82,1 $\pm$ 6,3	90,5 $\pm$ 2,2
CV	3,88	1,63	11,30	3,48
Água	87,1 $\pm$ 2,0 <sup>ns</sup>	92,8 $\pm$ 0,8 <sup>ns</sup>	82,2 $\pm$ 2,5 <sup>ns</sup>	95,0 $\pm$ 1,1 <sup>ns</sup>
<i>M. anisopliae</i> 1,6 x 10 <sup>12</sup> conídios	83,2 $\pm$ 1,4	91,4 $\pm$ 1,2	81,4 $\pm$ 1,7	95,1 $\pm$ 0,9
CV	4,66	2,20	5,90	2,30
Água	87,7 $\pm$ 3,3 <sup>ns</sup>	91,0 $\pm$ 2,0 <sup>ns</sup>	85,2 $\pm$ 1,5 <sup>ns</sup>	93,9 $\pm$ 1,1 <sup>ns</sup>
<i>T. harzianum</i> 5 x 10 <sup>12</sup> conídios	85,3 $\pm$ 2,6	90,4 $\pm$ 2,9	81,8 $\pm$ 2,7	96,4 $\pm$ 0,3
CV	7,74	6,30	5,37	1,42
Água	78,8 $\pm$ 7,6 <sup>a</sup>	54,2 $\pm$ 2,6 <sup>a</sup>	-	-
Clorpirifós 240g	1,7 $\pm$ 1,7 <sup>b</sup>	0,0 $\pm$ 0,0 <sup>b</sup>	-	-
CV	26,80	6,52	-	-

<sup>1</sup>Médias  $\pm$  EPM seguidas pela mesma letra na coluna para cada comparação entre cartelas pulverizadas e não pulverizadas, não diferem entre si pelo teste de F (5% de probabilidade).

<sup>ns</sup>ANOVA não significativa.

#### 4.3.4 Bioensaio 4: Entomopatógenos Pulverizados Sobre Os Ovos Do Hospedeiro Em Testes Sem Chance De Escolha Para O Parasitismo De *T. Pretiosum*

O parasitismo de adultos de *T. pretiosum* também foi avaliado em testes sem chance de escolha, quando cartelas pulverizadas com cada tratamento (Tabela 4.1) foram inseridas em gaiolas independentes. Semelhante aos resultados reportados no teste com chance de escolha, no teste sem chance de escolha não houve diferença estatística entre os entomopatógenos e a testemunha, tanto para viabilidade, quanto para parasitismo no primeiro e quinto dia após a pulverização (Tabela 4.6) sendo os entomopatógenos classificados como inócuos (classe 1) (HASSAN, 1985) (Tabela 4.3). Somente clorpirifós reduziu o parasitismo para 0%, sendo classificado como nocivo (classe 4) (HASSAN, 1985) (Tabela 4.3).

**Tabela 4.6** - Parasitismo e a viabilidade do parasitismo (Média  $\pm$  EP) de *Trichogramma pretiosum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) em ovos de *Anagasta kuehniella* (Lepidoptera: Noctuidae) pulverizados com diferentes entomopatógenos, sem chance de escolha, em dias após a pulverização (DAP).

Tratamento i.a. 100 L <sup>-1</sup> H <sub>2</sub> O	1 DAP		5 DAP	
	Parasitismo (%) <sup>1</sup>	Viabilidade (%) <sup>1</sup>	Parasitismo (%) <sup>1</sup>	Viabilidade (%) <sup>1</sup>
Água	85,5 $\pm$ 1,1a	95,0 $\pm$ 1,0 <sup>ns</sup>	80,7 $\pm$ 2,8 <sup>a</sup>	95,4 $\pm$ 0,3 <sup>ns</sup>
AgMNPV 1,4 x 10 <sup>11</sup> CPI	87,2 $\pm$ 0,8a	97,6 $\pm$ 0,8	81,2 $\pm$ 5,1 <sup>a</sup>	97,6 $\pm$ 0,6
<i>B. thuringiensis</i> var. <i>kurstaki</i> 9,6 x 10 <sup>9</sup> UI	84,5 $\pm$ 2,4a	95,1 $\pm$ 1,0	87,0 $\pm$ 3,0a	96,5 $\pm$ 1,7
<i>B. thuringiensis</i> var. <i>aizawai</i> 5 x 10 <sup>9</sup> UI	86,8 $\pm$ 1,0a	95,0 $\pm$ 1,7	79,9 $\pm$ 3,6 <sup>a</sup>	96,5 $\pm$ 1,0
<i>B. thuringiensis</i> var. <i>kurstaki</i> 6,2 x 10 <sup>9</sup> UI	85,8 $\pm$ 2,0a	95,0 $\pm$ 0,8	85,9 $\pm$ 2,1 <sup>a</sup>	96,0 $\pm$ 0,8
<i>B. bassiana</i> 1x10 <sup>13</sup> conídios	86,1 $\pm$ 1,8a	93,6 $\pm$ 0,9	81,0 $\pm$ 3,5 <sup>a</sup>	94,8 $\pm$ 2,0
<i>M. anisopliae</i> 1,6x10 <sup>12</sup> conídios	84,5 $\pm$ 2,3a	93,4 $\pm$ 1,4	83,7 $\pm$ 2,3 <sup>a</sup>	94,9 $\pm$ 1,7
<i>T. harzianum</i> 5x10 <sup>12</sup> conídios	89,5 $\pm$ 1,6a	94,5 $\pm$ 0,6	77,0 $\pm$ 5,3 <sup>a</sup>	96,5 $\pm$ 1,6
Clorpirifós 240g	0,0 $\pm$ 0,0b	-	0,0 $\pm$ 0,0b	-
CV	4,82	2,60	10,18	2,74
F	302,75	1,41	69,44	0,60
P	<0,0001	0,24	<0,0001	0,75
GL <sub>resíduo</sub>	36	31	32	28

<sup>1</sup> Médias  $\pm$  EPM seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey (5% de probabilidade). <sup>ns</sup> ANOVA não significante.

#### 4.4 DISCUSSÃO

A emergência de adultos de *T. pretiosum* das pupas pulverizadas com os diferentes entomopatógenos (Tabela 4.1) não diferiu entre esses tratamentos e nem em relação à testemunha (água), apesar de existir relatos na literatura científica que entomopatógenos como a *B. bassiana* e *M. anisopliae*, por exemplo, podem colonizar ovos de insetos (RAMPELOTTI et al., 2007; SAMUELS et al., 2002) o que poderia impactar negativamente as pupas dos parasitoides presentes nesses ovos hospedeiros infectados. Entretanto, a não interferência dos entomopatógenos observada neste estudo sobre a fase de pupa de *T. pretiosum* pode ser devido ao curto espaço de tempo entre a pulverização dos entomopatógenos e a emergência dos adultos dos parasitoides (cerca de 24 horas), visto que o tempo necessário para que os fungos germinem é de no mínimo 12 horas para deuteromicetos, 18 horas para *B. bassiana* e 16 horas para *M. anisopliae* (ALVES, 1998; LOMER et al., 2001), e para que haja a colonização ainda seria necessário um tempo adicional para formação de apressórios e penetração dos mesmos no ovo infectado (ALVES, 1998) que somando-se ao tempo de germinação ultrapassariam o intervalo de 24 horas entre a pulverização das pupas e a emergência dos adultos de *T. pretiosum*. Sendo assim, é possível que um impacto negativo desses entomopatógenos possa ser observado sobre o parasitismo de *T. pretiosum* quando a pulverização com esses agentes de controle ocorrer em fases anteriores à de pupa do parasitoide, o que ofereceria o tempo necessário para infecção, formação e penetração dos apressórios dos fungos no ovo infectado, e que poderia levar o parasitoide em desenvolvimento dentro desse ovo à morte. Entretanto, essa hipótese precisaria ser ainda avaliada em pesquisas futuras, visto que, esta limitou-se a estudar as fases de pupa e adulto do parasitoide.

A geração F<sub>1</sub> das pupas pulverizadas pode ter seu parasitismo reduzido diretamente pela mortalidade de pupas ou indiretamente devido a alterações fisiológicas e comportamentais dos adultos emergidos dessas pupas, o que pode ser causado pelo produto pulverizado (CARMO et al., 2010). Entretanto, como não houve tempo suficiente para infecção do ovo hospedeiro por fungos, estes não causaram mortalidade e conseqüentemente redução suficiente na população de *T. pretiosum* a ponto de que isso se refletisse em menor parasitismo. Neste contexto é importante salientar que cada fêmea de *Trichogramma* sp. pode parasitar de 20 a

120 ovos dependendo do ovo do hospedeiro (PINTO, 1997) o que auxilia na explicação do alto parasitismo observado na geração F<sub>1</sub>.

Por outro lado, com relação aos vírus e bactérias, estes necessitam ser ingeridos para que tenham alguma ação sobre insetos (COPPING; MENN, 2000; CASTRO et al., 1999). É possível, que adultos de *T. pretiosum* ao romperem o córion do ovo hospedeiro possam ingerir vírus ou bactérias que tenham sido pulverizados sobre as pupas desse parasitoide. Entretanto, a não observância de qualquer efeito letal do vírus e bactérias aplicadas sobre o parasitismo da geração F<sub>1</sub> provenientes dos ovos com pupas pulverizados com esses entomopatógenos indica que essa ingestão pode não ter ocorrido ou ocorrido em dose que não seja letal ao parasitoide. Além disso, é importante ressaltar que vírus, em geral, são muito específicos (MORCARDI, 1998).

No bioensaio em que os parasitoides caminharam sobre superfícies tratadas com os entomopatógenos, também não houve diferença entre esses ou entre os entomopatógenos e a testemunha, nas duas variáveis analisadas (parasitismo e emergência de adultos). A seletividade de vírus e bactéria nesse bioensaio de contato de adultos com a superfície pulverizada pode ser explicada porque esses entomopatógenos precisam ser ingeridos pelos insetos para que ocorra a infecção e morte dos mesmos (COPPING; MENN, 2000; CASTRO et al., 1999). Como os adultos de *T. pretiosum* caminharam sobre o filme seco dos tratamentos avaliados, é improvável que qualquer ingestão de vírus ou bactéria tenha ocorrido por adultos desse parasitoide. Entre os entomopatógenos avaliados (Tabela 4.1) apenas os fungos têm mecanismos para contaminação por contato e infecção dos insetos durante seu caminhar, pela penetração dos conídios através da cutícula dos insetos (ALVES, 1998), e portanto, podendo causar mortalidade nos adultos do parasitoide via contato. Potrich et al. (2009), observaram mortalidade confirmada de *T. pretiosum* por *B. bassiana* e *M. anisopliae* quando entraram em contato, porém não houve mortalidade a ponto de afetar significativamente a quantidade de adultos dos parasitoides, indicando assim que essa contaminação e/ou infecção no presente trabalho não ocorreu ou foram insuficientes para causar mortalidade dos adultos de *T. pretiosum*.

Além do efeito direto dos entomopatógenos sobre os insetos, esses bioinseticidas também podem interferir no comportamento de escolha do parasitoide em relação ao hospedeiro, seja através da coloração, forma, odor ou mudança de

comportamento do hospedeiro infectado (MAGALHÃES; MONNERAT; ALVES, 1998). Quando foram avaliados o parasitismo e a viabilidade do parasitismo em ovos de *A. kuehniella* pulverizados com os tratamentos e oferecidos aos parasitoides em testes com e sem chance de escolha, não houve diferença em nenhuma variável entre os tratamentos com entomopatógenos e a testemunha (água). Somente para ovos pulverizados com AgMNPV  $1,4 \times 10^{11}$ CPI, nos testes com chance de escolha, foi observado menor emergência de parasitoides em relação a testemunha, mas ainda superior a 90%, o que está acima do padrão mínimo de qualidade (85%) de viabilidade (NAVARRO, 1998), e por isso esse entomopatógeno pode ainda ser considerado como seletivo ao parasitoide. Esses resultados indicam que mesmo com um maior tempo entre a pulverização do entomopatógeno e a emergência do parasitoide, não houve infecção do ovo hospedeiro e, portanto, nenhum impacto negativo sobre *T. pretiosum* foi observado, semelhante aos resultados encontrados por Potrich et al. (2009).

Levando em consideração o manejo integrado de pragas, é importante que diferentes formas de controle possam ser utilizadas conjuntamente (VAN LENTEREN; BUENO, 2003; CARMO et al., 2010). Com a compatibilidade entre parasitoides e entomopatógenos, a utilização de entomopatógenos e parasitoides de ovos pode ser simultânea, evitando problemas de atraso na aplicação (ou liberação), perda do momento ideal de controle por incompatibilidade das diferentes táticas de controle de insetos.

Diferentemente dos entomopatógenos, o tratamento com inseticida (clorpirifós) foi sempre mais tóxico em todas as avaliações e bioensaios realizados, mostrando-se incompatível com a utilização de *T. pretiosum*. Esse resultado pode ser explicado por esse inseticida apresentar amplo espectro de ação e ser altamente tóxico em condições de laboratório e campo (YU, 1987; BUENO et al., 2008; CARMO et al., 2010). A baixa seletividade do clorpirifós é devido ao seu modo de ação no sistema nervoso dos insetos. Este inseticida liga-se à enzima acetilcolinesterase, inibindo a transmissão dos impulsos nervosos dos insetos, de modo que, com o acúmulo de acetilcolina na fenda sináptica, ocorre a hiperexcitabilidade do sistema nervoso central, causando paralisia e morte do inseto contaminado (KOMEZA et al., 2001). Como esse funcionamento do sistema nervoso nos insetos e as enzimas envolvidas nos processos de transmissão do impulso nervoso são muito semelhantes entre os artrópodes, a ação deste inseticida é

usualmente comum a todas as espécies de insetos. Resultados negativos do clorpirifós a *T. pretiosum* também foram previamente relatados por Bueno et al. (2008).

#### 4.5 CONCLUSÃO

Os bioinseticidas Baculovirus anticarsia (Baculovirus AEE<sup>®</sup>), *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* (Thuricide<sup>®</sup>), *Bacillus thuringiensis* var. *aizawai* (Agree<sup>®</sup>), *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* (Dipel<sup>®</sup>), *Beauveria bassiana* (Boveril<sup>®</sup>), *Metarhizium anisopliae* (Metarril<sup>®</sup>) e *Trichoderma harzianum* (Trichodermil<sup>®</sup>) são seletivos a pupas e adultos de *T. pretiosum* e podem ser utilizados em conjunto com a liberação desse parasitoide de ovos sem qualquer efeito negativo sobre as características biológicas estudadas e capacidade de parasitismo. Diferentemente, o inseticida clorpirifós é nocivo causando mortalidade em adultos e pupas de *T. pretiosum*, além de interferir negativamente no comportamento desses parasitoides na escolha do ovo hospedeiro e, portanto, sua utilização no MIP deve ser evitada e o produto substituído por outro mais seletivo aos inimigos naturais sempre que possível.

#### 4.6 REFERÊNCIAS

- ALVES, S.B. Fungos entomopatogênicos. In: ALVES, S.B. (ed.) **Controle Microbiano de Insetos**. Piracicaba: FEALQ, 1998. p. 289-382.
- BOSCH, R. VAN DEN; MESSENGER, P. S.; GUTIERREZ, A. P. **An introduction to biological control**. New York: Plenum Press, 1982.
- BUENO, A. F., BUENO, R. C. O. F., PARRA, J. R. P., VIEIRA, S. S. Effects of pesticides used in soybeans crops to the egg parasitoid *Trichogramma pretiosum*. **Ciência Rural**. v. 38, n. 6, 2008.
- CARMO, E. L., BUENO, A. F., BUENO, R. C. O. F. Pesticide selectivity for the insect egg parasitoid *Telenomus remus*. **Biocontrol**. n. 55, p. 455-464, 2010.
- CASTRO, M.E.B.; SOUZA, M.L.; SIHLER, W.; RODRIGUES, J.C.M.; RIBEIRO, B.M. Biologia molecular de baculovírus e seu uso no controle de pragas no Brasil. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. v. 34, n. 10, p. 1733-1761, 1999.
- CÔNSOLI, F.L.; ROSSI, M.M.; PARRA, J.R.P. Developmental time and characteristics of the immature stages of *Trichogramma galloi* and *T. pretiosum*

(Hymenoptera, Trichogrammatidae). **Revista Brasileira de Entomologia**. v. 43, n. 3/4, p. 271-275, 1999.

COPPING, L. G.; MENN, J.J. Review biopesticides: a review of their action, applications and efficacy. **Pest Management Science**. v. 56, n. 5, p. 651-676, 2000.

EL-KATATNY, M. H. Virulence potencial of some fungal isolates and their control-promise against the Egyptian cotton leaf worm, *Spodoptera littoralis*. **Archives of Phytopathology and Plant Protection**. v. 43, p. 332-356, 2010.

GANASSI, S. ALTOMARE, C. SABATINI, M. A. Interactions between fungi belonging to the genus *Trichoderma* and *Myzus persicae* (Hemiptera: Aphidoidea) to open new perspectives of biological control. **Micologia Italiana**. v. 38, p. 3-9, 2009.

GLARE, T. R.; O'CALLAGHAN, M. **Bacillus thuringiensis: biology, ecology and safety**. Chichester: John Wiley, 350 p. 2000.

HASSAN, S.A., BIGLER, F., BLAISINGER, P., BOGENSCHÜTZ, H., BRUN, J., CHIVERTON, P., DICKLER, E., EASTERBROOK, M.A., EDWARDS, P.J., ENGLERT, W.D., FIRTH, S.L., HUANG, P., INGLESFIELD, C., KLINGAUF, F., KÜHNER, C., LEDIEU, M.S., NATON, E., OOMEN, P.A., OVERMEER, W.P.J., PLEVOETS, P., REBOULET, J.N., RIECKMANN, W., SAMSOE-PETERSEN, L., SHIRES, S.W., STAUBLI, A., STEVENSON, J., TUSET, J.J., VANWETSWINKEL, G., VAN ZON, A.Q. Standard methods to test the side-effects of pesticides on natural enemies of insects and mites developed by the IOBC/WPRS working group 'Pesticides and Beneficial Organisms'. **EPPO Bulletin** 15. p. 214–255, 1985.

HASSAN, S.A. Guideline for the evaluation of side-effects of plant protection product on *Trichogramma cacoeciae*. In: HASSAN, S.A. (ed) **Guidelines for testing the effects of pesticides on beneficial organisms: description of test methods**. IOBC/WPRS Bulletin. v. 15, p. 18–39, 1992.

HOFFMANN-CAMPO, C.B., OLIVEIRA, L.J., MOSCARDI, F., GAZZONI, D.L., CORRÊA-FERREIRA, B.S., LORINI, I.A. Integrated pest management in Brazil. In: MAREDIA, K.M., DAKOUO, D., MOTA-SANCHES, D. (Eds.), **Integrated Pest Management in the Global Arena**. CABI Publishing, Wallingford, UK and Cambridge, USA, p. 285–299, 2003.

KOMEZA, N.; FOUILLET, P.; BOULÉTREAU, P.; DELPUECH, J.M. Modification, by insecticide chlorpyrifos, of the behavioral responses to kairomones of a parasitoid wasp, *Leptopilina boulardi*. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**. v. 41, n. 4, p. 436-442, 2001.

LOMER, C.J.; BATEMAN, R.P.; JONHSON, D.L.; LABGEWALD, J. THOMAS, M.B. Biological control of locusts and grasshoppers. **Annual review of Entomology**. v. 46, p. 667-702, 2001.

LOUGUERCIO, L. L.; CARNEIRO, N. P.; CARNEIRO, A.A. Milho Bt. **Revista Biotecnologia**. v. 4, p. 46-52, 2002.

- MAGALHÃES, B.P.; MONNERAT, R.; ALVES, S.B. Interações entre entomopatógenos, parasitoides e predadores. In: ALVES, S.B. **Controle Microbiano de Insetos**. 2 ed. Piracicaba: FEALQ, 1998. p. 195-216.
- MELO, I.S. Agentes microbianos de controle de fungos fitopatogênicos. In: MELO, I.S.; AZEVEDO, J.L. **Controle Biológico**. 1ed., v. 1. Jaguariúna: EMBRAPA, 1998, p. 17-67.
- MONNERAT, R.S.; BATISTA, A.C.; MEDEIROS, P.T.; MARTINS, E.S.; MELATTI, V.M.; PRAÇA, L.B.; DUMAS, V.F.; MORINAGA, C.; DEMO, C.; GOMES, A.C.M.; FALCÃO, R.; SIQUEIRA, C.B.; SILVA-WERNECK, J.O.; BERRY, C. Screening of Brazilian *Bacillus thuringiensis* isolates active against *Spodoptera frugiperda*, *Plutella xylostella* and *Anticarsia gemmatilis*. **Biological Control**. v. 41, n. 3, p. 291-295, 2007.
- MOSCARDI, F. Utilização de vírus entomopatogênicos em campo. In: ALVES, S.B. (ed.) **Controle Microbiano de Insetos**. Piracicaba: FEALQ, 1998. p. 509-533.
- NAVARRO, M.A. *Trichogramma* spp. Producción, uso y manejo em Colombia. **Guadalajara de Buga: Impretec**. p. 176, 1998.
- PARRA, J.R.P. Técnicas de criação de *Anagasta kuehniella*, hospedeiro alternativo para produção de *Trichogramma*. In: PARRA, J.R.P.; ZUCCHI, R.A. (Ed.) **Trichogramma e o Controle Biológico Aplicado**. Piracicaba: FEALQ, 1997, p. 324.
- PARRA, J. R. P. & ZUCCHI, R. A. *Trichogramma* in Brazil: feasibility of use after twenty years of research. **Neotropical Entomology**. v. 33, p. 271-281, 2004.
- PINTO, J.D. Taxonomia de *Trichogrammatidae* (Hymenoptera) com ênfase nos gêneros que parasitam Lepidóptera. In: PARRA, J.R.P.; ZUCCHI, R.A. (Ed.) **Trichogramma e o Controle Biológico Aplicado**. Piracicaba: FEALQ, 1997.
- POTRICH, M.; ALVES, L.F.A.; HAAS, J.; SILVA, E.R.L.; DAROS, A.; PIETROWSKI, V. NEVES, P.M.O.J. Seletividade de *Beauveria bassiana* e *Metarhizium anisopliae* a *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae). **Neotropical Entomology**. v. 38, n. 6, p. 822-826, 2009.
- RAMPELOTTI, F.T.; FERREIRA, A.; PRANDO, H.F.; GRÜTZMACHER, A.D.; MARTINS, J.F.S.; TCACENCO, F.A.; MATTOS, M.L.T. Patogenicidade de *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorokin sobre as fases do desenvolvimento de *Timbraca limbativentris* (Stal) (Hemiptera: Pentatomidae) em condições de laboratório. **Arquivos do instituto biológico**. São Paulo, v. 74, n. 2, p. 141-148, 2007.
- SAMUELS, R.I.; CORACINI, D.L. SANTOS, C.A.M.; GAVA, C.A.T. Infection of *Blissus antillus* (Hemiptera: Lygaeidae) eggs by the entomopathogenic fungi *Metarhizium anisopliae* and *Beuaveria bassiana*. **Biological control**. v. 23, p. 269-273.
- SAS Institute. SAS user's guide: statistics, version 8e. Cary, NC: SAS Institute (2001), 2001.

SMITH, S. M. Biological control with *Trichogramma*: Advances, successes, and potencial of their use. **Annual Review of Entomology**. v. 41, p. 375-406, 1996.

VAN LENTEREN, J.C.; BUENO, V.H.P. Augmentative biological control of arthropods in Latin America. **Biocontrol**. v. 48, p. 123-139, 2003.

VEENA-BHAMRAH, H. S. Studies on pathogenicity and management of mole cricket, *Gryllotalpa gryllotalpa*. **Annals of Plant Protection Sciences**. v. 15, p. 381-383, 2007.

YU, S.J. Biochemical defense capacity in the spined soldier bug (*Podisus maculiventris*) and its lepidopterous prey. **Pesticide Biochemistry Physiology**. v. 28, n. 3, p. 216-223, 1987.

## 5 ARTIGO B

### SELETIVIDADE DE PRODUTOS BIOLÓGICOS AO PARASITOIDE DE OVOS *Telenomus remus* (HYMENOPTERA: PLATYGASTRIDAE) EM LABORATÓRIO

#### RESUMO

A seletividade de sete bioinseticidas (entomopatógenos) e um inseticida químico (testemunha positiva) foi avaliada sobre pupas e adultos do parasitoide de ovos *Telenomus remus* (Nixon) em laboratório e, em condições circunstanciadas. Os protocolos utilizados foram adaptados do proposto pelo Grupo de Trabalho de Pesticidas e Organismos Benéficos da Organização Internacional para o Controle Biológico (IOBC - International Organization for Biological Control) para *Trichogramma cacoeciae* (Marchal). Baculovirus anticarsia (Baculovirus AEE<sup>®</sup>), *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* (Thuricide<sup>®</sup>), *Bacillus thuringiensis* var. *aizawai* (Agree<sup>®</sup>), *Beauveria bassiana* (Boveril<sup>®</sup>), *Metarhizium anisopliae* (Metarril<sup>®</sup>) e *Trichoderma harzianum* (Trichodermil<sup>®</sup>) não apresentaram efeitos nocivos sobre os parâmetros biológicos avaliados. *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* (Dipel<sup>®</sup>) foi classificado como levemente nocivo (classe 2) em dois bioensaios, pois diminuiu o índice de parasitismo no segundo dia de avaliação. Clorpirifós (inseticida testemunha positiva) apresentou efeito deletério em todos os parâmetros biológicos analisados. Assim, *T. remus* e os entomopatógenos avaliados são compatíveis e podem ser empregados simultaneamente em programas de manejo integrado de pragas, mesmo considerando Dipel<sup>®</sup>, que teve impacto negativo observado sobre o parasitoide de ovos, porém foi muito pequeno. O uso de clorpirifós, ao contrário, deve ser evitado e o produto substituído por um mais seletivo sempre que possível.

**Palavras-chave** *Bacillus thuringiensis*. Baculovirus anticarsia. *Beauveria bassiana*. *Metarhizium anisopliae*. *Trichoderma harzianum*.

## BIOLOGICAL PRODUCTS SELECTIVITY TO THE EGG PARASITOID *Telenomus remus* (HYMENOPTERA: PLATYGASTRIDAE) IN LABORATORY

### ABSTRACT

The selectivity of five entomopathogens and a insecticide (positive control) was evaluated over pupae and adults of the egg parasitoid *Telenomus remus* (Nixon) in laboratory, under controlled environmental conditions. The tests used were adapted from the Pesticides Work Group of the International Organization of Beneficial Organisms for Biological Control (IOBC – International Organization for Biological Control) to *Trichogramma cacoeciae* (Marchal). Baculovirus anticarsia (Baculovirus AEE<sup>®</sup>), *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* (Thuricide<sup>®</sup>), *Bacillus thuringiensis* var. *aizawai* (Agree<sup>®</sup>), *Beauveria bassiana* (Boveril<sup>®</sup>), *Metarhizium anisopliae* (Metaril<sup>®</sup>) and *Trichoderma harzianum* (Trichodermil<sup>®</sup>), showed no harmful effects to any biological characteristics evaluated. *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* (Dipel<sup>®</sup>) was classified as slightly harmful (class 2) in two bioassays, because the rate of parasitism was lowered at the second day of evaluation. Clorpirifós (positive control) showed harmful effect on every biological parameter evaluated. Therefore, *T. remus* and entomopathogens are compatible, and can be used in the same time in integrated pest management programs, even if we consider Dipel<sup>®</sup> that were slightly harmful but much less harmful than the insecticide, which must be avoided.

**Key-words** *Bacillus thuringiensis*. Baculovirus anticarsia. *Beauveria bassiana*. *Metarhizium anisopliae*. *Trichoderma harzianum*.

## 5.1 INTRODUÇÃO

Entre os diferentes agentes de controle biológico, os parasitoides de ovos merecem destaque por controlarem a fase de ovo da praga, antes mesmo que qualquer injúria à planta possa ocorrer (FIGUEIREDO, 1998). Entre os parasitoides de ovos do gênero *Spodoptera*, *Telenomus remus* Nixon, 1937 (Hymenoptera: Platygastriidae) tem relevância para o controle de pragas (FIGUEIREDO; DELLA LUCIA; CRUZ, 1999). Lagartas do gênero *Spodoptera* são de importância na agricultura mundial, por englobar várias espécies que causam danos a diversas culturas. Cerca de metade das espécies deste gênero constituem pragas agrícolas, apresentando polifitofagia, alimentando-se de culturas como cereais e pastagens (POGUE, 2002), hortaliças (SILVA et al., 1968), eucalipto (SANTOS et al., 1980) e soja (BUENO et al., 2011), por exemplo. Tradicionalmente, o controle dessas pragas é realizado através do uso de inseticidas químicos, muitas vezes utilizados de forma abusiva, o que traz efeitos negativos em relação à saúde humana, eliminação de agentes de controle biológico, aumento do custo de produção, entre outros (LOGUERCIO et al., 2002). Como uma alternativa ao controle químico, têm-se enfatizado o emprego do controle biológico em programas de manejo integrado de insetos pragas (MIP) (VAN LENTEREN; BUENO, 2003). O MIP preconiza a utilização de diversas táticas de controle de forma harmônica mantendo, assim, as populações de pragas agrícolas abaixo do nível de dano econômico, conservando o ambiente e os artrópodes benéficos. Nesse contexto, o controle biológico é de importância para a sustentabilidade do sistema produtivo agrícola (MAGALHÃES; MONNERAT; ALVES, 1998).

*Telenomus remus* pode parasitar ovos de várias espécies do gênero *Spodoptera*, tais como *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797), *Spodoptera cosmioides* (Walker, 1858), *Spodoptera eridania* (Cramer, 1782) e *Spodoptera albula* (Walker, 1857) (Lepidoptera: Noctuidae) (POMARI et al., 2012). Apesar de sua eficiência comprovada, em programas de controle biológico aplicado, muitas vezes, a utilização de dois ou mais agentes de controle biológico em conjunto pode ser necessário (MAGALHÃES; MONNERAT; ALVES, 1998), até mesmo devido a ocorrência simultânea de mais de uma espécie de praga alvo, ou de mesma espécie, mas em diferentes fases de desenvolvimento.

Neste contexto, os entomopatógenos são de interesse teórico e prático (MAGALHÃES; MONNERAT; ALVES, 1998). Dentro do MIP os entomopatógenos e parasitoides, podem ser utilizados conjuntamente, com o intuito de que os efeitos se somem (MAGALHÃES; MONNERAT; ALVES, 1998). Entre os principais entomopatógenos de importância agrícola estão o baculovirus anticarsia (AgMNPV) em soja (HOFFMANN-CAMPO et al., 2003), *Bacillus thuringiensis* (Berliner, 1911) que causa mortalidade em mais de 1.000 espécies de insetos pertencentes a várias ordens (GLARE; O'CALLAGHAM, 2000), *Beauveria bassiana* (Balsamo, 1835) Vuillemin que tem ampla distribuição geográfica e causa doença em ordens como Lepidoptera, Coleoptera, Hemiptera, Diptera, Hymenoptera e Orthoptera (ALVES, 1998), *Metarhizium anisopliae* (Metschnikoff, 1879) Sorokin, que é uma das mais importantes espécies de fungos entomopatogênicos, podendo infectar mais de 300 espécies de insetos de diversas ordens (ALVES, 1998), e *Trichoderma harzianum* que é um micro-organismo necrotrófico e tem eficácia no controle de outros fungos fitopatogênicos (MELO, 1998), mas pode ter também efeito nocivos sobre insetos, como já relatado para *Myzus persicae* (GANASSI; ALTOMARE; SABATINI, 2009), *Spodoptera littoralis* (EL-KATATNY, 2010), e *Gryllotalpa gryllotalpa* (VEENA-BHAMRAH, 2007).

Porém, há a possibilidade de que os entomopatógenos interfiram negativamente no comportamento e eficiência do parasitoide de ovo, ou até mesmo o infectando diretamente (MAGALHÃES; MONNERAT; ALVES, 1998). Portanto, visando compatibilizar ambas estratégias de controle biológico, é necessário, primeiramente, conhecer a seletividade e/ou possíveis efeitos nocivos que os entomopatógenos tenham sobre a eficiência dos parasitoides de ovos. Assim, este trabalho objetivou avaliar a seletividade de diferentes entomopatógenos ao parasitoide de ovos *T. remus*.

## 5.2 MATERIAL E MÉTODOS

Para isso foram conduzidos bioensaios independentes visando avaliar o impacto desses entomopatógenos sobre pupas e adultos do parasitoide assim como a capacidade de escolha do parasitoide por ovos de *S. frugiperda* pulverizados com esses tratamentos, em testes com e sem chance de escolha.

Os diferentes bioensaios foram conduzidos independentemente em delineamento inteiramente casualizado, em condições controladas de laboratório [ $25 \pm 2^\circ\text{C}$ , umidade relativa (UR) de  $70 \pm 10\%$  e fotofase de 14 h] com cinco repetições por tratamento (Tabela 5.1).

Foram feitas análises para avaliar a homogeneidade dos resíduos, aditividade do modelo e normalidade dos resíduos e então foi feita a análise de variância para todos os bioensaios e constatando diferença significativa, foram feitos teste de Tukey para os bioensaios um, dois e quatro, e comparação aos pares pelo teste F para o bioensaio três (SAS Institute, 2001). Os dados foram transformados em arco-seno  $\sqrt{X/100}$  quando foi necessário ajustá-los a distribuição normal.

**Tabela 5.1** Tratamentos avaliados para seletividade ao parasitoide de ovos *Telenomus remus* em condições controladas de laboratório e dose comercial do produto.

Produto comercial (p.c.)	Formulação	Ingrediente ativo (i.a.)	i.a. x 100 L H <sub>2</sub> O <sup>-1</sup>
Água	-	Água destilada	-
Baculovirus AEE <sup>®</sup>	0,6 WP	AgMNPV	$1,4 \times 10^{11}$ CPI <sup>1</sup>
Thuricide <sup>®</sup>	3,2 WP	<i>Bacillus thuringiensis</i> var. <i>kurstaki</i>	$9,6 \times 10^9$ UI <sup>2</sup>
Agree <sup>®</sup>	50 WP	<i>Bacillus thuringiensis</i> var. <i>aizawai</i>	$5 \times 10^9$ UI
Dipel <sup>®</sup>	3,2 WP	<i>Bacillus thuringiensis</i> var. <i>kurstaki</i>	$6,2 \times 10^9$ UI
Boveril <sup>®</sup>	5 WP	<i>Beauveria bassiana</i>	$1 \times 10^{13}$ conídios
Metarril <sup>®</sup>	5 WP	<i>Metarhizium anisopliae</i>	$1,6 \times 10^{12}$ conídios
Trichodermil <sup>®</sup>	48 SC	<i>Trichoderma harzianum</i>	$5 \times 10^{12}$ conídios
Lorsban <sup>®</sup>	480 EC	Clorpirifós	240 g

<sup>1</sup> Corpos poliedricos de inclusão. <sup>2</sup> Unidades internacional.

### 5.2.1. Criação do Hospedeiro *S. frugiperda* e do Parasitoide *T. Remus*

Os ovos de *S. frugiperda* utilizados no estudo, assim como os espécimes de *T. remus* foram provenientes da criação da Embrapa Soja, onde estas

espécies vêm sendo criadas de acordo com a metodologia descrita por Pomari et al. (2012), por aproximadamente 4 anos.

### 5.2.2 Bioensaio 1: Entomopatógenos Pulverizados Sobre Pupas De *T. Remus*

Os bioensaios de seletividade com pupas de *T. remus* foram conduzidos segundo as normas padronizadas pela “International Organization for Biological Control” (IOBC) (HASSAN, 1992) para *Trichogramma cacoeciae* que foram adaptadas para *T. remus*. Cartelas de 3 cm<sup>2</sup>, contendo cerca de 150 ovos de *S. frugiperda* foram oferecidas, para oviposição, às fêmeas de *T. remus* recém-emergidas, sendo permitido o parasitismo por 24 h. Em seguida, essas cartelas foram transferidas para tubos de vidro (2,5 cm de diâmetro x 8 cm de altura) até o momento da aplicação dos tratamentos (Tabela 5.1).

Os ovos de *S. frugiperda*, contendo a fase de pupa do parasitoide [11 dias após o parasitismo a 25°C e fotoperíodo 14/10 (POMARI et al., 2012)], foram pulverizados com suspensões dos entomopatógenos, além dos controles positivo (clorpirifós) e negativo (água) (Tabela 5.1), utilizando as doses recomendadas dos produtos comerciais. A pulverização foi realizada utilizando “Torre de Potter” calibrada para depositar um volume de calda de  $1,25 \pm 0,25 \text{ mg cm}^{-2}$ , o que está de acordo com as normas padronizadas da IOBC (HASSAN, 1992). Este volume aplicado foi controlado através da pesagem das placas com balança eletrônica de precisão, antes e após a pulverização dos tratamentos. Em seguida, os ovos pulverizados contendo as pupas de *T. remus* foram mantidas a  $25 \pm 2^\circ\text{C}$ , umidade relativa (UR) de  $70 \pm 10\%$  por cerca de duas horas sob constante iluminação, para eliminação do excesso de umidade. Posteriormente, essas cartelas foram inseridas em gaiolas confeccionadas conforme metodologia propostas por Hassan (1992) (Figura 5.1) até a emergência dos adultos, que foram alimentados com mel.

**Figura 5.1** - Foto das gaiolas propostas pela metodologia proposta por Hassan (1992).



Cartelas, contendo posturas não pulverizadas de *S. frugiperda* ( $\pm 400$  ovos de até 24h) e com filetes de mel, foram oferecidas um e dois dias após a emergência dos adultos. No terceiro dia, as cartelas foram armazenadas em sacos plásticos com ar até a avaliação. A viabilidade em porcentagem das pupas pulverizadas, foi calculada através da divisão do número de ovos parasitados, dos quais emergiram adultos, pelos ovos parasitados, multiplicados por cem. Também foi avaliada a porcentagem de parasitismo (número de parasitados divididos pelo total de ovos, multiplicados por cem) e viabilidade do parasitismo (número de ovos parasitados dos quais emergiram parasitoides, divididos pelo número de ovos parasitados, multiplicado por cem) da geração  $F_1$  foram os parâmetros quantificados.

### 5.2.3 Bioensaio 2: Entomopatógenos Pulverizados Sobre A Superfície De Caminhamento Dos Adultos de *T. Remus*

Tubos de Duran (tubos de emergência), contendo uma gotícula de mel em sua parede interior, receberam posturas de *S. frugiperda* parasitadas por *T. remus* ( $\pm 250$  ovos), sendo posteriormente, vedados com filme plástico e armazenados em ambiente controlado, à temperatura de  $25 \pm 2^\circ\text{C}$ , umidade relativa de  $70 \pm 10\%$  e fotofase de 14 horas, até a emergência dos parasitoides. Posteriormente à emergência, placas de vidro (13 x 13 cm) receberam pulverizações de suspensões com os entomopatógenos (Tabela 5.1), utilizando as doses recomendadas dos produtos comercial, e “Torre de Potter” regulada para depositar um volume de suspensão de  $1,25 \pm 0,25 \text{ mg cm}^{-2}$ . Após esta aplicação, as placas secaram por um período de duas horas a  $25 \pm 2^\circ\text{C}$ , umidade relativa (UR) de  $70 \pm$

10% sob constante iluminação. Posteriormente, estas placas foram fixadas em molduras de alumínio, com corrente de ar circulante, exercida por um exaustor conforme metodologia proposta por Hassan (1992). Após montadas com fluxo de ar circulante, tubos de emergência contendo aproximadamente 250 parasitoides envolvidos com papel alumínio, foram conectados aos orifícios de emergência (CARMO et al., 2010).

Um e dois dias após a liberação dos adultos nas gaiolas foram oferecidas cartelas, contendo posturas de *S. frugiperda* ( $\pm 400$  ovos) com filetes de mel. Essas cartelas foram retiradas do interior das gaiolas no terceiro dia do experimento sendo introduzidas em sacos plásticos transparentes com ar que foram armazenadas a  $25 \pm 2^\circ\text{C}$ , umidade relativa de  $70 \pm 10\%$  e fotofase de 14 horas até a emergência dos parasitoides para posterior avaliação do parasitismo e viabilidade, realizada da mesma maneira que para o bioensaio 1.

#### 5.2.4 Bioensaio 3: Entomopatógenos Pulverizados Sobre Os Ovos Do Hospedeiro Em Testes Com Chance De Escolha Para O Parasitismo De *T. Remus*

Cartelas de  $3 \text{ cm}^2$ , contendo aproximadamente 150 ovos de *S. frugiperda*, foram pulverizados com os produtos (Tabela 5.1) utilizando as doses recomendadas dos produtos comerciais. Assim como descrito para os bioensaios anteriores, a pulverização foi realizada diretamente utilizando “Torre de Potter” calibrada para depositar um volume de suspensão de  $1,25 \pm 0,25 \text{ mg cm}^{-2}$ . Posteriormente, as cartelas contendo ovos tratados (Tabela 5.1) foram inseridas nas gaiolas propostas por Hassan (1992) com fluxo de ar circulante. Para cada cartela pulverizada com entomopatógeno foi colocada junto uma cartela testemunha, pulverizada com água. Em seguida, tubos de emergência contendo aproximadamente 250 parasitoides foram envolvidos com papel alumínio e conectados aos orifícios de emergência destas gaiolas (CARMO et al., 2010) oferecendo assim chance de escolha para o parasitismo entre ovos de *S. frugiperda* tratados e não tratados (dupla escolha). Após 24 horas, duas novas cartelas, contendo a mesma quantidade de ovos recém-pulverizados com os mesmos tratamentos, foram também introduzidas nas gaiolas do teste. Essas cartelas foram retiradas do interior das gaiolas no terceiro dia do experimento sendo introduzidas em sacos plásticos transparentes com ar e armazenadas a  $25 \pm 2^\circ\text{C}$ , umidade

relativa de  $70 \pm 10\%$  e fotofase de 14 horas até a emergência dos parasitoides para posterior avaliação idêntica ao do bioensaio 1 para parasitismo e viabilidade e, conseqüentemente, da preferência dos parasitoides por ovos pulverizados com os entomopatógenos ou água.

#### 5.2.5 Bioensaio 4: Entomopatógenos Pulverizados Sobre Os Ovos Do Hospedeiro Em Testes Sem Chance De Escolha Para O Parasitismo De *T. Remus*

Assim como no bioensaio com chance de escolha, cartelas de  $3 \text{ cm}^2$  contendo, aproximadamente, 150 ovos de *S. frugiperda* foram pulverizados com suspensões dos tratamentos (Tabela 5.1) , utilizando as recomendações dos produtos comerciais, e inseridas nas gaiolas propostas por Hassan (1992), com fluxo de ar circulante, como descrito no item anterior. Entretanto sem uma cartela testemunha dentro da mesma gaiola com cartelas pulverizadas com entomopatógenos. Cada tratamento (Tabela 5.1) foi inserido em gaiolas independentes. Em seguida, os mesmos procedimentos adotados no teste com chance de escolha foram também adotados para este bioensaio sem chance de escolha. Tubos de emergência contendo aproximadamente 250 parasitoides foram envolvidos com papel alumínio e conectados aos orifícios de emergência (CARMO et al., 2010). Vinte e quatro horas após o início do teste, uma segunda cartela contendo a mesma quantidade de ovos recém-pulverizados com os mesmos tratamentos foram também introduzidas nas gaiolas do teste. Essas cartelas foram retiradas do interior das gaiolas no terceiro dia do experimento sendo introduzidas em sacos plásticos transparentes, estufados com ar que foram armazenadas a  $25 \pm 2^\circ\text{C}$ , umidade relativa de  $70 \pm 10\%$  e fotofase de 14 horas, até a emergência dos parasitoides para posterior avaliação do parasitismo e viabilidade da mesma maneira que o bioensaio 1.

### 5.3 RESULTADOS

#### 5.3.1. Bioensaio 1: Entomopatógenos Pulverizados Sobre Pupas De *T. Remus*

A emergência dos adultos das pupas pulverizadas com os diferentes entomopatógenos foi superior a 96% em todos os tratamentos e não diferiu

estatisticamente da testemunha. Em contrapartida, no tratamento em que foi utilizado o inseticida clorpirifós foi verificada viabilidade das pupas pulverizadas inferior a 2% diferindo dos demais tratamentos (Tabela 5.2). Assim, todos os entomopatógenos testados em pupas de *T. remus* foram classificados como inócuos (classe 1) e, o tratamento clorpirifós foi classificado como nocivo (classe 4) (HASSAN, 1985) (Tabela 5.3).

Entretanto, além da emergência dos adultos é importante avaliar a capacidade de parasitismo dos descendentes dessas pupas pulverizadas (geração F<sub>1</sub>), que podem ter suas características biológicas alteradas pelo contato com os tratamentos na fase pupal. Assim, no primeiro dia após a emergência dos adultos oriundos das pupas pulverizadas (1 DAE) o tratamento *T. harzianum* com 65,8% foi o único que reduziu significativamente o parasitismo em relação à testemunha (Tabela 5.2). Entretanto, essa redução do parasitismo, apesar de estatisticamente significativa, não foi o suficiente para que segundo a classificação de HASSAN (1985) este produto não fosse considerado inócuo (classe 1) (HASSAN, 1985). Sendo assim, todos os produtos biológicos foram seletivos a pupas de *T. remus* (Tabela 5.3).

Resultados diferentes foram observados no segundo dia após a emergência dos adultos provenientes das pupas pulverizadas (2 DAE). Nessa avaliação, os tratamentos com *B. thuringiensis* var. *aizawai*  $5 \times 10^9$ UI (unidade internacional)  $100\text{L}^{-1}$  de água com 57,1% e *B. thuringiensis* var. *kurstaki*  $6,2 \times 10^9$ UI  $100\text{L}^{-1}$  de água com 33,8% reduziram o parasitismo de *T. remus* em relação a testemunha (água) (Tabela 5.2). Porém, entre os tratamentos com entomopatógenos, apenas o tratamento com *B. thuringiensis* var. *kurstaki*  $6,2 \times 10^9$ UI  $100\text{L}$  de água reduziu o parasitismo a um nível suficiente para ser classificado como levemente nocivo (classe 2) (HASSAN, 1985), enquanto os demais inseticidas biológicos foram classificados como inócuos (classe 1) (Tabela 5.3). Apesar da emergência de alguns poucos adultos das pupas pulverizadas com clorpirifós, não foi observado parasitismo (1 ou 2 DAE), sendo portanto esse tratamento classificado como nocivo (classe 4) (HASSAN, 1985) (Tabela 5.3). Quanto à viabilidade do parasitismo da geração F<sub>1</sub>, nenhum entomopatógeno alterou a emergência dos adultos em relação a testemunha negativa (água) 1 ou 2 DAE (Tabela 5.2).

**Tabela 5.2** - Efeito de diferentes entomopatógenos sobre pupas de *Telenomus remus* (Hymenoptera: Platygasteridae), diferentes dias após a emergência (DAE) dos adultos oriundos de ovos de *S. frugiperda* tratados quando o parasitoide se encontrava no estágio de pupa (bioensaio com pupas) ou da geração F<sub>1</sub>.

Tratamento i.a./100 L H <sub>2</sub> O	Pupas pulverizadas <sup>1</sup>	1 DAE <sup>1</sup>		2 DAE <sup>1</sup>	
	Viabilidade(%)	Parasitismo(%)	Viabilidade(%)	Parasitismo(%)	Viabilidade(%)
Água	98,7 ± 0,4 a <sup>2</sup>	91,1 ± 2,1 a <sup>2</sup>	96,7 ± 0,4 <sup>ns</sup>	74,5 ± 0,5 ab <sup>2</sup>	95,6 ± 2,1 <sup>ns</sup>
AgMNPV 1,4 x 10 <sup>11</sup> CPI	98,9 ± 0,3 a	88,0 ± 1,6 a	97,1 ± 0,8	84,4 ± 3,04 a	97,1 ± 1,3
<i>B. thuringiensis</i> var. <i>kurstaki</i> 9,6 x 10 <sup>9</sup> UI	98,6 ± 0,4 a	81,0 ± 5,2 ab	98,7 ± 0,2	67,4 ± 3,2 bc	93,2 ± 5,9
<i>B. thuringiensis</i> var. <i>aizawai</i> 5 x 10 <sup>9</sup> UI	99,1 ± 0,3 a	76,4 ± 4,7 ab	98,7 ± 0,3	57,1 ± 2,9 c	86,9 ± 8,4
<i>B. thuringiensis</i> var. <i>kurstaki</i> 6,2 x 10 <sup>9</sup> UI	97,5 ± 0,7 a	86,1 ± 2,1 a	98,8 ± 0,2	33,8 ± 1,3 d	93,1 ± 4,6
<i>B. bassiana</i> 1x10 <sup>13</sup> conídios	98,8 ± 0,2 a	89,7 ± 4,1 a	92,1 ± 6,2	72,9 ± 2,8 ab	98,7 ± 0,5
<i>M. anisopliae</i> 1,6x10 <sup>12</sup> conídios	98,2 ± 0,8 a	86,1 ± 3,7 a	98,4 ± 0,4	76,0 ± 0,1 ab	98,9 ± 0,2
<i>T. harzianum</i> 5x10 <sup>12</sup> conídios	96,3 ± 2,3 a	65,8 ± 0,8 b	97,1 ± 0,8	81,3 ± 4,5 a	99,1 ± 0,2
Clorpirifós 240g	1,4 ± 0,7 b	0,0 ± 0,0 c	-	0,0 ± 0,0 e	-
CV (%)	5,22	10,04	5,14	8,11	9,42
F	221,24	74,87	1,04	130,14	1,08
P	<0,0001	<0,0001	0,4258	<0,0001	0,4010
GL <sub>resíduo</sub>	36	36	32	35	31

<sup>1</sup>Médias ± EPM seguidas pela mesma letra na coluna em cada bioensaio não diferem entre si pelo teste de Tukey (5% de probabilidade). <sup>2</sup>Resultados originais seguido das análises realizadas com os dados transformados em  $\sqrt{X/100}$ . <sup>ns</sup>ANOVA não significante.

**Tabela 5.3** - Classificação da seletividade dos entomopatógenos a *Telenomus remus* (Hymenoptera: Platygasteridae) segundo a “International Organization for Biological Control” (IOBC) em diferentes bioensaios e dias após a emergência do adulto (DAE) ou dias após a pulverização (DAP).

Tratamento i.a. 100 L H <sub>2</sub> O <sup>-1</sup>	DAE/DAP									
	Pupas		1		2		1		2	
	EP <sup>1</sup>	C <sup>3</sup>	E <sup>2</sup>	C	E	C	E	C	E	C
Bioensaios 1 (pupas pulverizadas) e 2 (superfície de contato pulverizada)	Bioensaio 1: pupas					Bioensaio 2: adultos				
AgMNPV 1,4 x 10 <sup>11</sup> CPI	0	1	3	1	0	1	0	1	21	1
<i>B. thuringiensis</i> var. <i>kurstaki</i> 9,6 x 10 <sup>9</sup> UI	0	1	11	1	10	1	0	1	17	1
<i>B. thuringiensis</i> var. <i>aizawai</i> 5 x 10 <sup>9</sup> UI	0	1	16	1	23	1	13	1	19	1
<i>B. thuringiensis</i> var. <i>kurstaki</i> 6,2 x 10 <sup>9</sup> UI	1	1	6	1	55	2	0	1	12	1
<i>B. bassiana</i> 1x10 <sup>13</sup> conídios	0	1	2	1	2	1	21	1	6	1
<i>M. anisopliae</i> 1,6x10 <sup>12</sup> conídios	1	1	6	1	0	1	0	1	11	1
<i>T. harzianum</i> 5x10 <sup>12</sup> conídios	2	1	28	1	0	1	0	1	9	1
Clorpirifós 240g	99	4	100	4	100	4	100	4	100	4
	Bioensaio 3:					Bioensaio 4:				
Bioensaios 3 e 4 com pulverização dos ovos	Com chance de escolha					Sem chance de escolha				
AgMNPV 1,4 x 10 <sup>11</sup> CPI	-	-	0	1	6	1	5	1	25	1
<i>B. thuringiensis</i> var. <i>kurstaki</i> 9,6 x 10 <sup>9</sup> UI	-	-	0	1	0	1	0	1	6	1
<i>B. thuringiensis</i> var. <i>aizawai</i> 5 x 10 <sup>9</sup> UI	-	-	22	1	0	1	4	1	0	1
<i>B. thuringiensis</i> var. <i>kurstaki</i> 6,2 x 10 <sup>9</sup> UI	-	-	5	1	0	1	0	1	77	2
<i>B. bassiana</i> 1x10 <sup>13</sup> conídios	-	-	0	1	0	1	0	1	0	1
<i>M. anisopliae</i> 1,6x10 <sup>12</sup> conídios	-	-	0	1	6	1	0	1	0	1
<i>T. harzianum</i> 5x10 <sup>12</sup> conídios	-	-	0	1	0	1	0	1	0	1
Clorpirifós 240g	-	-	75	2	99,8	4	89	3	100	4

<sup>1</sup>EP(Porcentagem de redução da viabilidade)=(1-Viabilidade no tratamento/Viabilidade na testemunha) x 100). <sup>2</sup>E(Porcentagem de redução do parasitismo)=(1-Parasitismo no tratamento/Parasitismo na testemunha) x 100 (Hassan, 1985). <sup>3</sup>Classificação: classe 1 = inócuo (E<30%), classe 2 =levemente nocivo (30%≤E<80), classe 3 = moderadamente nocivo (80%≤E<99), classe 4 = nocivo (E≥99%).

### 5.3.2 Bioensaio 2: Entomopatógenos Pulverizados Sobre A Superfície De Caminhamento Dos Adultos De *T. Remus*

Os adultos após caminharem na superfície de vidro pulverizada com os diferentes tratamentos, tiveram a porcentagem e viabilidade do parasitismo em

ovos de *S. frugiperda* avaliadas nos dois primeiros dias após a emergência dos parasitoides (1 e 2 dias após a liberação dos adultos nas gaiolas). Em ambos os dias de avaliação e para as duas variáveis observadas, todos os entomopatógenos não diferiram da testemunha à exceção de *B. thuringiensis* var. *aizawai*  $5 \times 10^9$ UI  $100L^{-1}$  de água que apresentou viabilidade do parasitismo de 97,4% no 1DAE inferior a testemunha mas ainda superior a 95% (Tabela 5.4). Sendo assim, todos os inseticidas biológicos foram classificados como inócuos (classe 1) (HASSAN, 1985) (Tabela 5.3). Ainda, para o tratamento clorpirifós não houve parasitismo em nenhum dia analisado (Tabela 5.4), sendo classificado como nocivo (HASSAN, 1985) (Tabela 5.3).

**Tabela 5.4** - Efeito de diferentes entomopatógenos sobre adultos de *Telenomus remus* (Hymenoptera: Platygasteridae), diferentes dias após a emergência (DAE) dos adultos oriundos de ovos de *S. frugiperda* tratados.

Tratamento i.a. 100 L H <sub>2</sub> O <sup>-1</sup>	1 DAE <sup>1</sup>		2 DAE <sup>1</sup>	
	Parasitismo(%)	Viabilidade(%)	Parasitismo(%)	Viabilidade(%)
Água	76,2 ± 4,8 a <sup>2</sup>	99,3 ± 0,3 ab	89,9 ± 5,9 a	99,4 ± 0,2 <sup>ns,2</sup>
AgMNPV 1,4 x 10 <sup>11</sup> CPI	78,9 ± 8,7 a	99,7 ± 0,2 a	89,2 ± 4,8 a	98,5 ± 0,7
<i>B. thuringiensis</i> 9,6 x 10 <sup>9</sup> UI	78,6 ± 4,1 a	98,4 ± 0,6 abc	74,4 ± 9,6 a	99,6 ± 0,4
<i>B. thuringiensis</i> var. <i>aizawai</i> 5 x 10 <sup>9</sup> UI	66,6 ± 13,7 a	97,4 ± 0,64 c	72,5 ± 9,5 a	98,7 ± 0,6
<i>B. thuringiensis</i> var. <i>kurstaki</i> 6,2 x 10 <sup>9</sup> UI	88,4 ± 3,5 a	98,2 ± 0,4 abc	79,2 ± 6,0 a	97,3 ± 0,8
<i>B. bassiana</i> 1x10 <sup>13</sup> conídios	60,1 ± 7,2 a	98,8 ± 0,2 abc	84,8 ± 5,5 a	98,5 ± 0,7
<i>M. anisopliae</i> 1,6x10 <sup>12</sup> conídios	76,7 ± 6,7 a	97,8 ± 0,5 bc	79,8 ± 6,8 a	99,6 ± 0,3
<i>T. harzianum</i> 5x10 <sup>12</sup> conídios	86,7 ± 4,5 a	98,7 ± 0,4 abc	82,1 ± 7,0 a	99,3 ± 0,3
Clorpirifós 240g	0,0 ± 0,0 b	-	0,0 ± 0,0 b	-
CV (%)	19,82	0,96	20,43	3,99
F	19,45	3,30	17,78	2,22
P	<0,0001	0,0093	<0,0001	0,0616
GL <sub>resíduo</sub>	36	32	33	29

<sup>1</sup>Médias ± EPM seguidas pela mesma letra na coluna em cada bioensaio não diferem entre si pelo teste de Tukey (5% de probabilidade). <sup>2</sup>Resultados originais seguido das análises realizadas com os dados transformados em arcoseno  $\sqrt{X/100}$ . <sup>ns</sup>ANOVA não significante.

### 5.3.3 Bioensaio 3: Entomopatógenos Pulverizados Sobre Os ovos do Hospedeiro Em Testes Com Chance De Escolha Para O Parasitismo De *T. Remus*

Ao analisar os parâmetros de parasitismo (%) e viabilidade (%) do parasitismo de *T. remus* 1 e 2 dias após a pulverização (1 DAP e 2 DAP), permitindo ao adulto de *T. remus* escolher entre ovos pulverizados com os produtos ou com a água, foi possível verificar que no 1 DAP a testemunha apresentou menor

parasitismo em relação aos tratamentos AgMNPV 99%, *B. thuringiensis* var. *kurstaki* ( $9,6 \times 10^9$ UI) 96,5% e *T. harzianum* 100%, porém, os valores verificados foram sempre superiores a 70% de parasitismo (Tabela 5.5). Apenas nos ovos pulverizados com o entomopatógeno *B. thuringiensis* var. *aizawai*  $5 \times 10^9$ UI 73,2% foi verificado parasitismo inferior a testemunha (Tabela 5.5). Considerando que os entomopatógenos pouco impactaram o parasitismo de *T. remus*, todos os entomopatógenos foram classificados como inócuos (classe 1) (HASSAN, 1985) 1 e 2 DAP (Tabela 5.3). Com relação a viabilidade deste parasitismo, este parâmetro avaliado foi menor apenas no tratamento AgMNPV 87,1% em relação à testemunha, quando comparados todos os entomopatógenos estudados porém, esse parâmetro avaliado apresentou ainda valor satisfatório e superior a 85% (Tabela 5.5). Com relação ao tratamento clorpirifós, os valores verificados diferiram estatisticamente da testemunha, apresentando baixos níveis de parasitismo e viabilidade (Tabela 5.5). Esses resultados levaram a classificação desse inseticida como levemente nocivo (classe 2) 1 DAP e nocivo (classe 4) (HASSAN, 1985) 2DAP (Tabela 5.3).

**Tabela 5.5** - Parasitismo e a viabilidade do parasitismo (Média ± EP) de *Telenomus remus* (Hymenoptera: Platygasteridae) em ovos de *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) pulverizados com diferentes entomopatógenos, com chance de escolha, um e dois dias após a pulverização (DAP).

Tratamento i.a. 100 L H <sub>2</sub> O <sup>-1</sup>	1DAP		2DAP	
	Parasitismo (%) <sup>1</sup>	Viabilidade (%) <sup>1</sup>	Parasitismo (%) <sup>1</sup>	Viabilidade (%) <sup>1</sup>
Água	71,8 ± 2,6 b <sup>2</sup>	96,2 ± 0,4 a <sup>2</sup>	92,7 ± 2,7 <sup>ns</sup>	87,6 ± 5,7 <sup>ns,2</sup>
AgMNPV 1,4 x 10 <sup>11</sup> CPI	99,0 ± 0,4 a	87,6 ± 3,8 b	87,1 ± 4,5	92,5 ± 1,5
CV	5,06	6,34	9,23	13,05
Água	90,2 ± 1,9 b	91,8 ± 0,7 <sup>ns</sup>	71,4 ± 7,0 <sup>ns</sup>	95,3 ± 2,4 <sup>ns</sup>
<i>B. thuringiensis</i> var. <i>kurstaki</i> 9,6 x 10 <sup>9</sup> UI	96,5 ± 1,2 a	90,4 ± 4,4	79,5 ± 7,6	91,2 ± 4,0
CV	3,80	7,77	21,68	7,90
Água	93,4 ± 2,1 a	89,4 ± 3,7 <sup>ns</sup>	50,4 ± 1,9 b <sup>2</sup>	93,1 ± 0,6 <sup>ns</sup>
<i>B. thuringiensis</i> var. <i>aizawai</i> 5 x 10 <sup>9</sup> UI	73,2 ± 1,1 b	71,5 ± 11,2	73,7 ± 3,4 a	88,2 ± 3,2
CV	4,58	23,10	7,43	5,58
Testemunha	90,2 ± 2,6 <sup>ns</sup>	94,61 ± 2,38 <sup>ns</sup>	40,6 ± 7,0 <sup>ns</sup>	94,2 ± 2,7 <sup>ns</sup>
<i>B. thuringiensis</i> var. <i>kurstaki</i> 6,2 x 10 <sup>9</sup> UI	85,3 ± 4,0	86,99 ± 5,00	47,8 ± 4,4	88,4 ± 5,2
CV	8,55	8,42	29,51	8,92
Água	90,1 ± 3,7 <sup>ns</sup>	92,7 ± 1,5 <sup>ns, 2</sup>	91,3 ± 1,8 b	90,8 ± 2,2 <sup>ns</sup>
<i>B. bassiana</i> 1x10 <sup>13</sup> conídios	94,7 ± 3,4	84,3 ± 4,7	98,6 ± 1,4 a	83,4 ± 7,0
CV	12,09	8,40	3,86	13,33
Água	89,9 ± 2,6 <sup>ns</sup>	92,4 ± 2,6 <sup>ns</sup>	87,8 ± 3,4 <sup>ns</sup>	90,6 ± 3,3 <sup>ns</sup>
<i>M. anisopliae</i> 1,6x10 <sup>12</sup> conídios	94,5 ± 2,9	85,3 ± 2,8	82,8 ± 1,7	94,5 ± 1,1
CV	6,67	6,79	6,19	5,90
Água	85,4 ± 0,7 b	92,6 ± 3,0 <sup>ns</sup>	91,9 ± 4,1 <sup>ns</sup>	93,5 ± 3,9 <sup>ns</sup>
<i>T. harzianum</i> 5x10 <sup>12</sup> conídios	100,0 ± 0,0 a	85,1 ± 8,0	93,0 ± 5,5	91,9 ± 2,9
CV	1,18	11,03	16,31	7,13
Água	84,2 ± 7,4 a <sup>2</sup>	97,8 ± 1,0 a	92,3 ± 1,8 a	100,00 ± 0,0 <sup>ns</sup>
Clorpirifós 240g	20,8 ± 4,7 b	3,1 ± 1,8 b	0,2 ± 0,2 b	100,0 ± 0,0
CV	22,64	5,25	5,74	0

<sup>1</sup>Médias ± EPM seguidas pela mesma letra na coluna para cada comparação entre cartelas pulverizadas e não pulverizadas, não diferem entre si pelo teste de F (5% de probabilidade).

<sup>2</sup>Resultados originais seguidos da análise realizados com os dados transformados em  $\arcsin \sqrt{X/100}$ . <sup>ns</sup>ANOVA não significante.

#### 5.3.4 Bioensaio 4: Entomopatógenos Pulverizados Sobre Os Ovos Do Hospedeiro Em Testes Sem Chance De Escolha Para O Parasitismo de *T. Remus*

Os parâmetros avaliados no primeiro dia após a pulverização (1 DAP) não diferiram entre os tratamentos com os entomopatógenos, sendo verificados valores entre 80,9 e 92,4% para a porcentagem de parasitismo e 83,4 e 92,8% para viabilidade do parasitismo (Tabela 5.6). Esses valores levaram a classificação de todos os entomopatógenos como inócuos (HASSAN, 1985) (Tabela 5.3). Diferentemente, no segundo dia após a pulverização (2 DAP) os

entomopatógenos AgMNPV 42,7% e *B. thuringiensis* var. *kurstaki* ( $6,2 \times 10^9$ UI) 13,3% reduziram a porcentagem de parasitismo em relação à testemunha (Tabela 5.6). Entretanto, apenas *B. thuringiensis* var. *kurstaki* ( $6,2 \times 10^9$ UI) foi classificado como levemente nocivo (classe 2) (HASSAN, 1985) (Tabela 5.3). Com relação à viabilidade dos parasitoides, nenhum entomopatógeno diferiu da testemunha (Tabela 5.6). Em contrapartida, o inseticida clorpirifós reduziu o parasitismo de *T. remus* nos ovos pulverizados para valores baixos (9,3%) além de reduzir também a emergência dos adultos desses ovos parasitados (13,3%) 1 DAP. Além disso, nenhum parasitismo por *T. remus* foi observado 2 DAP, sendo assim, esse inseticida foi considerado moderadamente nocivo (classe 3) e nocivo (classe 4) (HASSAN, 1985) 1 DAP e 2 DAP, respectivamente (Tabela 5.3).

**Tabela 5.6** - Parasitismo e a viabilidade do parasitismo (Média  $\pm$  EP) de *Telenomus remus* (Hymenoptera: Platygasteridae) em ovos de *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) pulverizados com diferentes entomopatógenos, sem chance de escolha, um e dois dias após a pulverização (DAP).

Tratamento i.a. 100 L H <sub>2</sub> O <sup>-1</sup>	1 DAP		2 DAP	
	Parasitismo (%) <sup>1,4</sup>	Viabilidade (%) <sup>1</sup>	Parasitismo (%) <sup>1</sup>	Viabilidade (%) <sup>1</sup>
Água	84,6 $\pm$ 4,3 a	87,6 $\pm$ 2,7 a	56,7 $\pm$ 2,8 bc	93,4 $\pm$ 1,8 ab
AgMNPV $1,4 \times 10^{11}$ CPI	80,3 $\pm$ 6,8 a	91,7 $\pm$ 1,6 a	42,7 $\pm$ 2,3 d	98,4 $\pm$ 0,4 a
<i>B. thuringiensis</i> var. <i>kurstaki</i> $9,6 \times 10^9$ UI	88,0 $\pm$ 5,7 a	86,3 $\pm$ 7,4 a	53,3 $\pm$ 4,4 cd	94,4 $\pm$ 0,1 ab
<i>B. thuringiensis</i> var. <i>aizawai</i> $5 \times 10^9$ UI	80,9 $\pm$ 7,0 a	86,3 $\pm$ 5,1 a	69,9 $\pm$ 2,0 b	94,5 $\pm$ 1,6 ab
<i>B. thuringiensis</i> var. <i>kurstaki</i> $6,2 \times 10^9$ UI	84,5 $\pm$ 4,9 a	83,4 $\pm$ 3,6 a	13,3 $\pm$ 4,1 e	91,3 $\pm$ 0,2 b
<i>B. bassiana</i> $1 \times 10^{13}$ conídios	86,9 $\pm$ 10,3a	92,8 $\pm$ 2,0 a	85,8 $\pm$ 4,3 a	94,7 $\pm$ 0,9 ab
<i>M. anisopliae</i> $1,6 \times 10^{12}$ conídios	92,4 $\pm$ 2,1 a	88,0 $\pm$ 1,9 a	88,8 $\pm$ 2,0 a	95,5 $\pm$ 0,8 ab
<i>T. harzianum</i> $5 \times 10^{12}$ conídios	88,6 $\pm$ 3,8 a	91,3 $\pm$ 2,2 a	86,2 $\pm$ 2,2 a	91,3 $\pm$ 1,7 b
Clorpirifós 240g	9,3 $\pm$ 3,5 b	13,3 $\pm$ 8,2 b	0,0 $\pm$ 0,0 e	-
CV	15,57	12,71	12,08	2,76
F	16,37	30,69	115,40	3,78
P	<0,0001	<0,0001	<0,0001	0,0045
GL <sub>resíduo</sub>	35	35	36	31

<sup>1</sup>Médias  $\pm$  EPM seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey (5% de probabilidade). <sup>2</sup>Resultados originais seguidos da análise realizados com os dados transformados em arcoseno  $\sqrt{X / 100}$ . <sup>ns</sup> ANOVA não significante.

#### 5.4 DISCUSSÃO

A emergência de adultos das pupas pulverizadas com diferentes tratamentos não foi impactada pelos entomopatógenos avaliados, além desses bioinseticidas também não alterarem a capacidade de parasitismo dos descendentes originados nos dois dias consecutivos à emergência dos parasitoides, com exceção do *B. thuringiensis* var. *kurstaki* ( $6,2 \times 10^9$ UI). Este entomopatógeno apresentou-se levemente nocivo no 2 DAE, afetando diretamente o número de ovos parasitados. Esta diminuição pode ser devida à contaminação do ovipositor da fêmea do parasitoide durante o parasitismo. As fêmeas do parasitoide ao introduzirem o ovipositor em ovos contaminados, provavelmente também foram contaminadas e, como *Bacillus thuringiensis* é um patógeno de rápido crescimento *in vitro* (HABIB; ANDRADE, 1998) este pode ter ficado aderido ao ovipositor, o que provavelmente dificultou o parasitismo no segundo dia de parasitismo do bioensaio.

O baculovírus por ser um vírus intracelular e de crescimento *in vivo* (MOSCARDI, 1998), não se desenvolveu. Os fungos do gênero *Beauveria* e *Metarhizium*, nas concentrações utilizadas, provavelmente não provocaram mortalidade das pupas e não diminuíram a viabilidade, por não terem capacidade infectiva e ou tempo necessário para colonizar a pupa no interior do ovo hospedeiro, não conseguindo penetrar o córion do mesmo ou, a sua concentração não foi suficiente para provocar a doença (ALVES, 1998; LOMER et al., 2001). Existem citações de infecção e doença em ovos de *Blissus antillus* (Leonard) provocados por *B. bassiana* e *M. anisopliae* (SAMUELS et al., 2002), assim como em ovos de *Tibraca limbativentris* (Stal) (RAMPELOTTI et al., 2007). Entretanto, estes autores mergulharam os ovos em suspensões fúngicas com concentrações elevadas ( $1 \times 10^4$  a  $1 \times 10^8$  conídios . mL<sup>-1</sup>), superiores as concentrações recomendadas em campo e estudadas nesse trabalho, o que pode explicar as diferenças com os resultados aqui reportados. É importante considerar também que o processo infectivo dos fungos entomopatogênicos pode demorar alguns dias até o fungo se instalar definitivamente no hospedeiro (ALVES, 1998). Assim, no ovo recém-parasitado o parasitoide poderá colonizá-lo de forma mais rápida do que o fungo, eliminando, por competição, a chance deste provocar doença.

Provavelmente, no caso de *B. thuringiensis*, por ser uma bactéria o crescimento dentro do ovo seja mais rápido fazendo com que a competição com o

parasitoide seja desfavorecida para o inseto. É também importante salientar que a fase de pupa dos parasitoides se encontra protegida dentro do ovo hospedeiro e por isso é considerada uma fase de desenvolvimento mais resistente à ação de tóxicos e/ou infecções em relação ao adulto de vida livre e, normalmente, mais sensível à ação de agrotóxicos e/ou entomopatógenos (HASSAN, 1992). Além disso, mesmo que a bactéria e o vírus tenham conseguido penetrar o ovo através de seu córion junto com o ovipositor, somente poderiam causar mortalidade do inseto no interior da pupa por ingestão, o que é improvável, pois o inseto não se alimenta nesta fase de desenvolvimento. Isso comprova, portanto, que eles não tiveram a capacidade de infecção dos parasitoides dentro do ovo hospedeiro (fase de pupa).

Quando os adultos do parasitoide entraram em contato com os tratamentos pulverizados na superfície de caminhamento, o parasitismo e a viabilidade dos ovos de *S. frugiperda* expostos aos parasitoides não diferiu em relação à testemunha. Esse resultado indica que os entomopátogenos não têm a capacidade de causar doença em adultos de *T. remus* por contato no caminhamento em superfície tratada ou a mortalidade causada não foi suficiente para que houvesse a diminuição significativa do parasitismo, visto que cada fêmea pode parasitar até 270 ovos (MORALES et al., 2000). Ainda, os valores de parasitismo e viabilidade foram semelhantes aqueles encontrados por Pomari et al. (2012), quando avaliaram o desempenho desse parasitoide em ovos de *Spodoptera frugiperda*, o que reforça a seletividade dos entomopatógenos avaliados.

Além do contato dos entomopatógenos pulverizados sobre pupas dos parasitoides ou através do caminhamento dos adultos sobre as superfícies contaminadas, os parasitoides podem encontrar em campo ovos contaminados com entomopatógenos, isso pode interferir no comportamento de escolha do parasitoide devido a mudanças na coloração, forma ou odor (MAGALHÃES; MONNERAT; ALVES, 1998). Entretanto, os resultados obtidos nos ensaios com os ovos de *S. frugiperda* pulverizados antes de serem ofertados aos adultos de *T. remus* indicam que os entomopatógenos avaliados não influenciaram diretamente na escolha hospedeira pelos parasitoides em relação aos ovos não tratados, sendo verificados valores de parasitismo e emergência de adultos semelhante na maioria dos tratamentos com bioinseticidas em relação à testemunha (água), e além disso todos foram classificados como inócuos.

Este resultado é importante, pois em uma situação de campo na qual seriam pulverizados bioinseticidas a base dos entomopatógenos, aqui testados conjuntamente com a liberação massal de *T. remus*, os entomopatógenos controlariam as lagartas e o parasitoide evitaria a eclosão de novas lagartas de *S. frugiperda*. Assim não haveria problema de incompatibilidade entre esses agentes de controle que estariam sendo utilizados para alvos biológicos distintos no campo em uma integração das táticas de controle dentro dos conceitos de manejo integrado de pragas. Também, se houver a necessidade de aplicação conjunta dos parasitoides e dos entomopatógenos para controle de diferentes pragas, a seletividade e compatibilidade de ambas táticas de controle de insetos ficam caracterizadas pela inocuidade dos entomopatógenos ao parasitoide de ovo avaliado na maioria dos casos.

No bioensaio sem chance de escolha, de todos os entomopatógenos testados, AgMNPV  $1,4 \times 10^{11}$  CPI e *B. thuringiensis* var. *kurstaki* ( $6,2 \times 10^9$ UI) impactaram negativamente o parasitismo, porém, tal efeito foi relacionado apenas ao segundo dia após a pulverização (2 DAP) e somente *B. thuringiensis* var. *kurstaki* ( $6,2 \times 10^9$ UI) foi classificado como levemente nocivo (IOBC). O fato desse tratamento ter apresentado efeito negativo sobre o parasitismo em dois dos experimentos pode ser explicado como descrito anteriormente, pela penetração no ovo pelo ovipositor contaminado do parasitoide e pela capacidade de crescimento *in vitro* da bactéria. Embora o parasitismo tenha apresentado índices menores em relação aos demais entomopatógenos, a viabilidade dos ovos não foi alterada, apresentando valores superiores a 80% em todos os estudos. Assim, é provável que *B. thuringiensis* var. *kurstaki* ( $6,2 \times 10^9$ UI) age diretamente sobre o adulto de *T. remus*, diminuindo o seu potencial de parasitismo.

A seletividade dos entomopatógenos para os inimigos naturais foi ressaltada por Alves (1998) como vantajosa em relação aos inseticidas convencionais. De modo geral, pode-se inferir que o parasitoide *T. remus* e as formulações dos entomopatógenos avaliadas são compatíveis e podem ser empregados simultaneamente em programas de manejo integrado de pragas, considerando *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* ( $6,2 \times 10^9$ UI), pois o impacto negativo desse entomopatógeno foi pequeno se comparado com o inseticida químico nocivo.

Além dos resultados obtidos com os entomopatógenos é importante salientar que em todos os bioensaios, no tratamento com inseticida clorpirifós foram verificados efeitos negativos em todos os parâmetros biológicos avaliados. Este produto afetou diretamente o parasitismo e/ou a emergência dos adultos, reduzindo-os mais de 90% em relação à testemunha (água). Estes resultados corroboram as conclusões relatadas por Carmo et al. (2010), que observaram a mortalidade total dos adultos de *T. remus* expostos ao resíduo seco deste inseticida. Além de *T. remus*, a toxicidade de clorpirifós foi previamente relatada para outros inimigos naturais (FERREIRA et al., 2006; ZOTTI et al., 2010). Sendo assim, esse inseticida é comprovadamente nocivo ao *T. remus* e ao controle biológico, de maneira mais geral, na dose avaliada. Isto provavelmente ocorreu porque este inseticida apresenta amplo espectro de ação e é altamente tóxico em condições de laboratório e campo (YU, 1987). A baixa seletividade do clorpirifós pode ser explicada pelo seu modo de ação no sistema nervoso dos insetos. Este inseticida liga-se à enzima acetilcolinesterase, tendo ação neurotóxica uma vez que esta enzima é a responsável pela desativação da acetilcolina, neurotransmissor presente nas sinapses das células nervosas, ocorrendo acúmulo de acetilcolina na fenda sináptica, e conseqüente, hiperexcitabilidade do sistema nervoso central, causando paralisia e morte do inseto contaminado (KOMEZA et al., 2001).

## 5.5 CONCLUSÃO

Os bioinseticidas baculovirus anticarsia (Baculovirus AEE<sup>®</sup>), *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* (Thuricide<sup>®</sup>), *Bacillus thuringiensis* var. *aizawai* (Agree<sup>®</sup>), *Beauveria bassiana* (Boveril<sup>®</sup>), *Metarhizium anisopliae* (Metarril<sup>®</sup>) e *Trichoderma harzianum* (Trichodermil<sup>®</sup>) são seletivos a pupas e adultos de *T. remus* e podem ser utilizados em conjunto com a liberação desse parasitoide de ovos sem efeito negativo as características biológicas aqui estudadas e capacidade de parasitismo. *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* (Dipel<sup>®</sup>) apesar de ser considerado levemente nocivo em algumas das avaliações, ainda pode ser considerado compatível com a utilização conjunta de *T. remus* principalmente quando comparado a inseticidas químicos, como o clorpirifós. Clorpirifós foi nocivo (não seletivo) a todas as fases de desenvolvimento de *T. remus* avaliadas e, portanto, deve ser substituído por outro

controle mais seletivo sempre que possível dentro dos preceitos de manejo integrado de pragas.

## 5.6 REFERÊNCIAS

- ALVES, S.B. Fungos entomopatogênicos. In: ALVES, S.B. (ed.) **Controle Microbiano de Insetos**. Piracicaba: FEALQ, 1998. p. 289-382.
- BUENO, R. C. O. F., BUENO, A. F., MOSCARDI, F., PARRA, J. R. P., HOFFMANN-CAMPO, C. B. Lepidopteran larva consumption of soybean foliage: basis for developing multiple-species economic thresholds for pest management decisions. **Pest Management Science** (Print). v. 67, p. 170-174, 2011.
- CARMO, E. L., BUENO, A. F., BUENO, R. C. O. F. Pesticide selectivity for the insect egg parasitoid *Telenomus remus*. **Biocontrol**. n. 55, p. 455-464, 2010.
- EL-KATATNY, M. H. Virulence potencial of some fungal isolates and their control-promise against the Egyptian cotton leaf worm, *Spodoptera littoralis*. **Archives of Phytopathology and Plant Protection**. v. 43, p. 332-356, 2010.
- FERREIRA, A.J.; CARVALHO, G.A.; BOTTON, M.; LASMAR, O. Seletividade de inseticidas usados na cultura da macieira a duas populações de *Chrysoperla externa* (Hagen, 1861) (Neuropetra: Crysporidae). **Ciência Rural**. v. 36, n. 2, p. 378-384, 2006.
- FIGUEIREDO, M.L.C. Potencial de controle de *Spodoptera frugiperda* (Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) na cultura do milho com *Telenomus remus* Nixon (Hymenoptera: Scelionidae). 1998. 76p. **Dissertação (Mestrado em Entomologia)** - Programa de Pós-Graduação em Entomologia, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 1998.
- FIGUEIREDO, M. L. C., LUCIA, T. M. C. D., CRUZ, I. Controle integrado de *Spodoptera frugiperda* (Smithe Aboth) utilizando-se do parasitoide *Telenomus remus* (Nixon). **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. v. 34, p. 1974-1982, 1999.
- GANASSI, S. ALTOMARE, C. SABATINI, M. A. Interactions between fungi belonging to the genus *Trichoderma* and *Myzus persicae* (Hemiptera: Aphidoidea) to open new perspectives of biological control. **Micologia Italiana**. v. 38, p. 3-9, 2009.
- GLARE, T. R.; O'CALLAGHAN, M. **Bacillus thuringiensis: biology, ecology and safety**. Chichester: John Wiley, 350 p. 2000.
- HABIB, M.E.M.; ANDRADE, C.F.S. Bactérias entomopatogênicas. In: ALVES, S.B. (ed.) **Controle Microbiano de Insetos**. Piracicaba: FEALQ, 1998. p. 383-432.
- HASSAN, S.A., BIGLER, F., BLAISINGER, P., BOGENSCHÜTZ, H., BRUN, J., CHIVERTON, P., DICKLER, E., EASTERBROOK, M.A., EDWARDS, P.J., ENGLERT, W.D., FIRTH, S.L., HUANG, P., INGLESFIELD, C., KLINGAUF, F., KÜHNER, C., LEDIEU, M.S., NATON, E., OOMEN, P.A., OVERMEER, W.P.J.,

PLEVOETS, P., REBOULET, J.N., RIECKMANN, W., SAMSOE-PETERSEN, L., SHIRES, S.W., STAUBLI, A., STEVENSON, J., TUSET, J.J., VANWETSWINKEL, G., VAN ZON, A.Q. Standard methods to test the side-effects of pesticides on natural enemies of insects and mites developed by the IOBC/WPRS working group 'Pesticides and Beneficial Organisms'. **EPPO Bulletin** 15. p. 214–255, 1985.

HASSAN, S.A. Guideline for the evaluation of side-effects of plant protection product on *Trichogramma cacoeciae*. In: HASSAN, S.A. (ed) **Guidelines for testing the effects of pesticides on beneficial organisms: description of test methods**. IOBC/WPRS Bulletin. v. 15, p. 18–39, 1992.

HOFFMANN-CAMPO, C.B., OLIVEIRA, L.J., MOSCARDI, F., GAZZONI, D.L., CORRÊA-FERREIRA, B.S., LORINI, I.A. Integrated pest management in Brazil. In: MAREDA, K.M., DAKOUO, D., MOTA-SANCHES, D. (Eds.), **Integrated Pest Management in the Global Arena**. CABI Publishing, Wallingford, UK and Cambridge, USA, p. 285–299, 2003.

KOMEZA, N.; FOUILLET, P.; BOULÉTREAU, P.; DELPUECH, J.M. Modification, by insecticide chlorpyrifos, of the behavioral responses to kairomones of a parasitoid wasp, *Leptopilina bouvardi*. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**. v. 41, n. 4, p. 436-442, 2001.

LOMER, C.J.; BATEMAN, R.P.; JONHSON, D.L.; LABGEWALD, J. THOMAS, M.B. Biological control of locusts and grasshoppers. **Annual review of Entomology**. v. 46, p. 667-702, 2001.

LOUGUERCIO, L. L.; CARNEIRO, N. P.; CARNEIRO, A.A. Milho Bt. **Revista Biotecnologia**. v. 4, p. 46-52, 2002.

MAGALHÃES, B.P.; MONNERAT, R.; ALVES, S.B. Interações entre entomopatógenos, parasitoides e predadores. In: ALVES, S.B. **Controle Microbiano de Insetos**. 2 ed. Piracicaba: FEALQ, 1998. p. 195-216.

MELO, I.S. Agentes microbianos de controle de fungos fitopatogênicos. In: MELO, I.S.; AZEVEDO, J.L. **Controle Biológico**, 1ed., v. 1. Jaguariúna: EMBRAPA. p. 17-67, 1998.

MORALES, J.; GALLARDO, J.S.; VÁSQUEZ, C.; RÍOS, Y. Padrón de emergencia, longevidad, parasitismo y proporción sexual de *Telenomus remus* (Hymenoptera: Scelionidae) com relación al cogollero del maíz. **Bioagro**. v. 12, n. 2, p. 47-54, 2000.

MOSCARDI, F. Utilização de vírus entomopatogênicos em campo. In: ALVES, S.B. (ed.) **Controle Microbiano de Insetos**. Piracicaba: FEALQ, 1998. p. 509-533.

POGUE, G.M. A world revision of the genus *Spodoptera* Guenée (Lepidoptera: Noctuidae). **Memoirs of the American Entomological Society**. v. 43, p. 1-202, 2002.

POMARI, A. F.; BUENO, A. F.; BUENO, R. C. O. F., MENEZES, A. O. J. Biological Characteristics and Thermal Requirements of the Biological Control Agent *Telenomus remus* (Hymenoptera: Platygasteridae) Reared on Eggs of Different

Species of the Genus *Spodoptera* (Lepidoptera: Noctuidae). **Annals of the Entomological Society of America**. v. 105, n. 1, p. 73-81. 2012.

RAMPELOTTI, F.T.; FERREIRA, A.; PRANDO, H.F.; GRÜTZMACHER, A.D.; MARTINS, J.F.S.; TCACENCO, F.A.; MATTOS, M.L.T. Patogenicidade de *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorokin sobre as fases do desenvolvimento de *Timbraca limbiventris* (Stal) (Hemiptera: Pentatomidae) em condições de laboratório. **Arquivos do instituto biológico**. v. 74, n. 2, p. 141-148, 2007.

SAMUELS, R.I.; CORACINI, D.L. SANTOS, C.A.M.; GAVA, C.A.T. Infection of *Blissus antillus* (Hemiptera: Lygaeidae) eggs by the entomopathogenic fungi *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana*. **Biological control**. v. 23, p. 269-273.

SANTOS, G.P.; COSENZA, G.W.; ALBINO, J.C. Biologia de *Spodoptera latifascia* (Walker, 1856) (Lepidoptera: Noctuidae) sobre folhas de eucalipto. **Revista Brasileira de Entomologia**, v. 24, p. 153-155, 1980.

SAS Institute. SAS user's guide: statistics, version 8e. Cary, NC: SAS Institute (2001), 2001.

SILVA, A.G.A.; GONÇALVES, C.R.; GALVÃO, D.M.; GONÇALVES, A.J.L.; GOMES, J.; SILVA, M.M.; SIMONI, L. **Quarto catálogo dos insetos que vivem nas plantas do Brasil: seus parasitos e predadores. Parte II, 1º tomo, Insetos, hospedeiros e inimigos naturais**. Rio de Janeiro. Ministério da Agricultura. 622p., 1968.

VAN LENTEREN, J.C.; BUENO, V.H.P. Augmentative biological control of arthropods in Latin America. **Biocontrol**. v. 48, p. 123-139, 2003.

VEENA-BHAMRAH, H. S. Studies on pathogenicity and management of mole cricket, *Gryllotalpa gryllotalpa*. **Annals of Plant Protection Sciences**. v. 15, p. 381-383, 2007.

YU, S.J. Biochemical defense capacity in the spined soldier bug (*Podisus maculiventris*) and its lepidopterous prey. **Pesticide Biochemistry Physiology**. v. 28, n. 3, p. 216-223, 1987.

ZOTTI, M.J.; GRÜTZMACHER, A.D.; GRÜTZMACHER, D.D.; CASTILHOS, R.V.; MARTINS, J.F.S. Seletividade de inseticidas utilizados na cultura do milho para ovos e ninfas do predador *Doru lineare* (ESCHSCHOLTS, 1822) (DERMAPTERA: FORFICULIDAE). **Arquivos do Instituto Biológico**. v. 77, n. 1, p. 111-118, 2010.

## **6 CONSIDERAÇÕES FINAIS**

Como pode-se observar nos estudos aqui apresentados. Os parasitoides não foram afetados pelos entomopatógenos, ou quando foram, o efeito foi inócuo ou levemente inócuo, ao passo que o causado pelo inseticida foi na maioria das vezes nocivo. Para ambas as espécies de parasitoides é esperado então que em uma eventual necessidade de utilização em conjunto com entomopatógenos, não haverá antagonismos, assim pode-se aproveitar o potencial da somatória dos controles. Sabe-se que parasitoides e entomopatógenos atuam de forma diferenciada, e desse modo pode-se complementar um com o outro afim de manter os insetos pragas em níveis populacionais aceitáveis, sem causar tantos danos ao meio-ambiente quanto os inseticidas causam.