

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA – UNESP**

**CAMPUS DE JABOTICABAL**

**EFEITOS DE INSETICIDAS QUÍMICO E BIOLÓGICOS NO  
DESENVOLVIMENTO E PARASITISMO DE *Trichogramma galloi*  
ZUCCHI, 1988 (HYMENOPTERA: TRICHOGRAMMATIDAE)**

**Paula Sayuri Taguti**

Bióloga

**2021**

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA – UNESP**

**CAMPUS DE JABOTICABAL**

**EFEITOS DE INSETICIDAS QUÍMICO E BIOLÓGICOS NO  
DESENVOLVIMENTO E PARASITISMO DE *Trichogramma galloi*  
ZUCCHI, 1988 (HYMENOPTERA: TRICHOGRAMMATIDAE)**

**Discente: Paula Sayuri Taguti**

**Orientador: Prof. Dr. Sergio Antonio De Bortoli**

**Coorientador: Prof. Dr. Ricardo Antonio Polanczyk**

Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – UNESP, Campus de Jaboticabal, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestra em Agronomia (Entomologia Agrícola).

**2021**

|       |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |
|-------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| T128e | <p>Taguti, Paula Sayuri</p> <p>Efeitos de inseticidas químico e biológicos no desenvolvimento e parasitismo de <i>Trichogramma galloi</i> Zucchi, 1988 (Hymenoptera: Trichogrammatidae) / Paula Sayuri Taguti. -- Jaboticabal, 2021</p> <p>65 f. : il., tabs.</p> <p>Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal</p> <p>Orientador: Sergio Antonio De Bortoli</p> <p>Coorientador: Ricardo Antonio Polanczyk</p> <p>1. Entomologia. 2. Cana-de-açúcar. 3. Inseticidas. 4. Trichogrammatidae. 5. Broca da cana-de-açúcar. I. Título.</p> |
|-------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Câmpus de Jaboticabal



**CERTIFICADO DE APROVAÇÃO**

**TÍTULO DA DISSERTAÇÃO:** EFEITOS DE INSETICIDAS QUÍMICO E BIOLÓGICOS NO DESENVOLVIMENTO E PARASITISMO DE *Trichogramma galloi* ZUCCHI, 1988 (HYMENOPTERA: TRICHOGRAMMATIDAE)

**AUTORA:** PAULA SAYURI TAGUTI

**ORIENTADOR:** SERGIO ANTONIO DE BORTOLI

**COORIENTADOR:** RICARDO ANTONIO POLANCZYK

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Mestra em AGRONOMIA (ENTOMOLOGIA AGRÍCOLA), pela Comissão Examinadora:

Prof. Dr. SERGIO ANTONIO DE BORTOLI (Participação Virtual)  
Departamento de Ciências da Produção Agrícola (Fitossanidade) / FCAV / UNESP - Jaboticabal

Profa. Dra. LAILA HERTA MIHSFELDT (Participação Virtual)  
Universidade Estadual do Norte do Paraná-UENP / Bandeirantes/PR

Prof. Dr. ARLINDO LEAL BOIÇA JÚNIOR (Participação Virtual)  
Departamento de Ciências da Produção Agrícola / FCAV / UNESP - Jaboticabal

Jaboticabal, 30 de março de 2021

## **DADOS CURRICULARES DA AUTORA**

**PAULA SAYURI TAGUTI** – Nascida em Bandeirantes – PR, no dia 12 de maio de 1994, é formada em Licenciatura e Bacharelado em Ciências Biológicas (2016) pela Universidade Estadual do Norte do Paraná, Campus Luiz Meneghel (UENP/CLM). Participou em 2011, do Programa Institucional de Bolsa de Iniciação Científica Júnior (PIBIC Jr), no qual teve seu interesse pela ciência despertado. Após ingressar no curso superior em Ciências Biológicas, em 2012, continuou estagiando voluntariamente no mesmo laboratório onde realizou o trabalho do PIBIC Jr, Laboratório de Imunopatologia de Peixes, até 2013, e no mesmo ano foi bolsista pela Coordenação de Aperfeiçoamento Pessoal de Nível Superior (CAPES) no Programa Institucional de Bolsa de Iniciação à Docência (PIBID), atuando em escolas da rede pública do município de Bandeirantes, PR. Foi monitora das disciplinas de Microbiologia (2014) e Invertebrados I e II (2015 e 2016). Desenvolveu seu projeto de conclusão de curso com a orientação da Profa. Dra. Laila Herta Mihsfeldt, estudando a Influência do tipo de feijão e recipientes no desenvolvimento de *Spodoptera cosmioides* (Walker, 1858) (Lepidoptera, Noctuidae) em dieta artificial. Em 2018 ingressou no curso de pós-graduação, nível de Mestrado, em Agronomia (Entomologia Agrícola) na Universidade Estadual Paulista, Campus de Jaboticabal (UNESP- FCAV), sob a orientação do prof. Dr. Sergio Antonio De Bortoli e coorientação do prof. Dr. Ricardo Antonio Polanczyk, sendo bolsista pelo Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

“É preciso que eu suporte duas ou três larvas se quiser conhecer as borboletas.”

(Antoine de Saint- Exupéry)

Aos meus pais, Paulo Itiro Taguti e Marina Keiko Hirai Taguti,  
e aos meus irmãos, Marcos Vinícios Hiroshi Taguti e Érica Ayumi Taguti,  
pelo amor incondicional, pelo incentivo e apoio durante essa trajetória, por  
acreditarem nesse sonho e não me deixarem desistir.

**DEDICO E AGRADEÇO**

## **AGRADECIMENTOS**

À Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Campus de Jaboticabal-UNESP e ao Programa de Pós-graduação em Agronomia (Entomologia Agrícola), pela oportunidade de realizar esse curso e pelo suporte recebido;

Aos funcionários da Seção Técnica de Pós-graduação, por toda assistência durante a realização do mestrado;

Ao meu orientador, Professor Dr. Sergio Antonio De Bortoli, e ao meu coorientador, Professor Dr. Ricardo Antonio Polanczyk, pelos ensinamentos, paciência, disposição em todos os momentos, auxílio e pelo exemplo de serem bons profissionais;

Aos docentes do Programa de Pós-graduação em Agronomia (Entomologia Agrícola) pelos ensinamentos e vivências;

Ao professor Dr. Raphael de Campos Castilho e ao professor Dr. Guilherme Duarte Rossi, ex e atual coordenador do Programa de Pós-Graduação em Agronomia (Entomologia Agrícola), por me auxiliarem e orientarem quando eu precisava;

À Professora Dra. Nilza Maria Martinelli e ao Professor Dr. Guilherme Duarte Rossi, que participaram e colaboraram com meu Exame Geral de Qualificação;

À Professora Dra. Laila Herta Mihsfeldt e ao Professor Dr. Arlindo Leal Boiça-Junior, por contribuírem com o trabalho participando da defesa e dando sugestões;

Aos companheiros do Laboratório de Biologia e Criação de Insetos – LBCI, FCAV-UNESP, Aimée Regali Seleglim, Caio César Truzzi, Camila Pires Cardoso, Dagmara Gomes Ramalho, Gilmar da Silva Nunes, Joice Mendonça de Souza, Lauany Cavalcante dos Santos, Matheus Moreira Dantas Pinto, Nathália Alves dos Santos e Natalia Fernanda Vieira, pela convivência diária, auxílio nas tarefas do laboratório e pelos momentos de descontração e conversas;

À Dagmara Gomes Ramalho, Lauany Cavalcante dos Santos, Érica Ayumi Taguti e Gilmar da Silva Nunes por auxiliarem nos experimentos, não importando a data ou horário;

Aos amigos do Programa de Pós-graduação em Agronomia (Entomologia Agrícola) pela amizade, bom convívio e momentos de distração;

Ao Laboratório de Biologia dos Insetos, da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” – ESALQ-USP, por fornecer os parasitoides para a criação inicial;

Ao grupo São Martinho por ter viabilizado parte do material necessário para a realização dos experimentos;

Ao Laboratório Farroupilha, Grupo Lallemand, por ter fornecido os fungos comerciais utilizados;

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela bolsa concedida;

A todos que de alguma forma possibilitaram a realização deste trabalho.

**Muito obrigada!**

## SUMÁRIO

Página

|                                                                                                                              |            |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------|
| <b>LISTA DE FIGURAS .....</b>                                                                                                | <b>ii</b>  |
| <b>LISTA DE TABELAS .....</b>                                                                                                | <b>iii</b> |
| <b>RESUMO.....</b>                                                                                                           | <b>1</b>   |
| <b>ABSTRACT.....</b>                                                                                                         | <b>2</b>   |
| <b>1 INTRODUÇÃO .....</b>                                                                                                    | <b>3</b>   |
| <b>2 REVISÃO DE LITERATURA .....</b>                                                                                         | <b>5</b>   |
| 2.1 Histórico e importância da cana-de-açúcar no Brasil .....                                                                | 5          |
| 2.2 Morfologia, bioecologia e danos de <i>Diatraea saccharalis</i> .....                                                     | 6          |
| 2.3 Controle químico com Clorantraniliprole em cana-de-açúcar .....                                                          | 8          |
| 2.4 Controle biológico de pragas da cana-de-açúcar no Brasil .....                                                           | 8          |
| 2.5 Utilização de <i>Trichogramma galloi</i> .....                                                                           | 9          |
| 2.6 Utilização de <i>Bacillus thuringiensis</i> .....                                                                        | 11         |
| 2.7 Fungos entomopatogênicos em cana-de-açúcar .....                                                                         | 12         |
| <b>3 MATERIAL E MÉTODOS .....</b>                                                                                            | <b>14</b>  |
| 3.1 Seletividade dos produtos a adultos de <i>Trichogramma galloi</i> .....                                                  | 14         |
| 3.1.1 Criação de <i>Trichogramma galloi</i> .....                                                                            | 14         |
| 3.1.2 Bioensaios de seletividade .....                                                                                       | 15         |
| 3.2 Ação dos produtos em <i>Trichogramma galloi</i> .....                                                                    | 16         |
| 3.2.1 Toxicidade aguda por contato a adultos de <i>Trichogramma galloi</i> .....                                             | 16         |
| b) Efeitos no parasitismo e emergência dos indivíduos sobreviventes à<br>exposição aos resíduos secos dos produtos .....     | 17         |
| c) Efeito dos produtos nos estágios de ovo, larva e pupa de <i>Trichogramma galloi</i><br>.....                              | 18         |
| <b>4 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>                                                                                        | <b>20</b>  |
| 4.1 Seletividade dos produtos a adultos de <i>Trichogramma galloi</i> .....                                                  | 20         |
| 4.2 Sobrevivência dos adultos de <i>Trichogramma galloi</i> após a exposição ao<br>resíduo seco dos tratamentos .....        | 22         |
| 4.3 Efeitos no parasitismo e na emergência dos indivíduos sobreviventes à<br>exposição aos resíduos secos dos produtos ..... | 25         |
| 4.4 Efeitos dos produtos nos estágios de ovo, larva e pupa de <i>Trichogramma galloi</i><br>.....                            | 28         |
| <b>6 CONCLUSÕES .....</b>                                                                                                    | <b>36</b>  |
| <b>7 REFERÊNCIAS.....</b>                                                                                                    | <b>37</b>  |
| <b>8 CONSIDERAÇÕES FINAIS .....</b>                                                                                          | <b>53</b>  |

## LISTA DE FIGURAS

|                                                                                                     |    |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Figura 1. Efeito do resíduo seco dos tratamentos na longevidade de <i>Trichogramma galloi</i> ..... | 24 |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------|----|

## LISTA DE TABELAS

|                                                                                                                                                                                                                                                 |    |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Tabela 1.</b> Número de ovos de <i>Diatraea saccharalis</i> parasitados e porcentagens de parasitismo e de emergência de <i>Trichogramma galloi</i> com ovos tratados antes do parasitismo.....                                              | 22 |
| <b>Tabela 2.</b> Número de ovos de <i>Diatraea saccharalis</i> parasitados, porcentagens de parasitismo e de emergência de <i>Trichogramma galloi</i> 24 horas após a exposição dos adultos aos resíduos secos dos tratamentos.....             | 26 |
| <b>Tabela 3.</b> Período de ovo a adulto, porcentagem de mortalidade, longevidade e razão sexual de <i>Trichogramma galloi</i> após 24 horas de exposição do adulto aos resíduos secos dos tratamentos.....                                     | 27 |
| <b>Tabela 4.</b> Número de ovos de <i>Diatraea saccharalis</i> parasitados por <i>Trichogramma galloi</i> nos diferentes tratamentos e fases de desenvolvimento do parasitoide (2, 4 e 6 dias pós-parasitismo).....                             | 29 |
| <b>Tabela 5.</b> Porcentagem de parasitismo de ovos de <i>Diatraea saccharalis</i> por <i>Trichogramma galloi</i> com ovos expostos aos tratamentos nas diferentes fases de desenvolvimento do parasitoide (2, 4 e 6 dias pós-parasitismo)..... | 30 |
| <b>Tabela 6.</b> Porcentagem de emergência de <i>Trichogramma galloi</i> em ovos de <i>Diatraea saccharalis</i> expostos aos tratamentos nas diferentes fases de desenvolvimento do parasitoide (2, 4 e 6 dias pós-parasitismo).....            | 32 |
| <b>Tabela 7.</b> Período de ovo a adulto de <i>Trichogramma galloi</i> em ovos de <i>Diatraea saccharalis</i> expostos aos tratamentos nas diferentes fases de desenvolvimento do parasitoide (2, 4 e 6 dias pós-parasitismo).....              | 33 |
| <b>Tabela 8.</b> Razão sexual de <i>Trichogramma galloi</i> em ovos de <i>Diatraea saccharalis</i> expostos aos tratamentos nas diferentes fases de desenvolvimento do parasitoide (2, 4 e 6 dias pós-parasitismo).....                         | 34 |
| <b>Tabela 9.</b> Longevidade de <i>Trichogramma galloi</i> oriundo de ovos de <i>Diatraea saccharalis</i> expostos aos tratamentos nas diferentes fases de desenvolvimento do parasitoide (2, 4 e 6 dias pós-parasitismo).....                  | 35 |

**EFEITOS DE INSETICIDAS QUÍMICO E BIOLÓGICOS NO DESENVOLVIMENTO  
E PARASITISMO DE *Trichogramma galloi* ZUCCHI, 1988 (HYMENOPTERA:  
TRICHOGRAMMATIDAE)**

**RESUMO** – A cana-de-açúcar é uma das culturas de maior relevância econômica do mundo, sendo o Brasil o maior produtor. A broca da cana-de-açúcar, *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae), é considerada praga-chave no Brasil. Métodos de controle biológico e químico são usados para controle das pragas mais relevantes da cultura, mas é o uso de inimigos naturais, como o parasitoide de ovos *Trichogramma galloi* (Hymenoptera: Trichogrammatidae), que vem ganhando grande destaque na canavieira brasileira, sendo que a associação dos métodos de controle de pragas é fundamental para o manejo integrado. Assim, o objetivo desse trabalho foi avaliar os efeitos de produtos químicos e biológicos na sobrevivência, no desenvolvimento e parasitismo de *T. galloi* em ovos de *D. saccharalis*. Foram avaliados os efeitos de um produto químico (Clorantraniliprole) e de cinco produtos biológicos, comerciais e produzidos em biofábricas, à base de *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae* e *Bacillus thuringiensis* nas doses recomendadas para aplicação em campo. Além disso, foram testados água deionizada autoclavada e água + espalhante adesivo (Tween®), sendo a testemunha livre de qualquer aplicação. Avaliou-se a seletividade e a toxicidade dos produtos aos adultos de *T. galloi* e os efeitos residuais no parasitismo e emergência após a exposição dos sobreviventes aos produtos. Além disso, foram avaliados os efeitos dos tratamentos no desenvolvimento do parasitoide aplicando-os sobre os ovos do hospedeiro recém parasitados em diferentes estágios de desenvolvimento do parasitoide (2, 4 e 6 dias - ovo, larva e pupa). Os produtos utilizados afetam *T. galloi*, sendo que o inseticida químico e o biológico à base de *B. thuringiensis* causam maior mortalidade em adultos; há o maior efeito residual para Clorantraniliprole, *B. thuringiensis* e *B. bassiana*, porém com nenhum produto mostrando-se nocivo ao parasitoide. Produtos à base de *B. thuringiensis* e *B. bassiana* afetam os estágios imaturos.

**Palavras-chave:** *Bacillus thuringiensis*, *Beauveria bassiana*, Clorantraniliprole, controle biológico, *Metarhizium anisopliae*, ovos de *Diatraea saccharalis*

**EFFECTS OF CHEMICAL AND BIOLOGICAL INSECTICIDES IN THE  
DEVELOPMENT AND PARASITISM OF *Trichogramma galloi* ZUCCHI, 1988  
(HYMENOPTERA: TRICHOGRAMMATIDAE)**

**ABSTRACT** – Sugarcane is one of the crops with the greatest economic relevance worldwide, being Brazil the major producer. The sugarcane borer *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae) is considered the key-pest in Brazil. Biological and chemical control are the methods used to control the most relevant sugarcane pests, but the use of natural enemies, such as the egg parasitoid *Trichogramma galloi* (Hymenoptera: Trichogrammatidae), which is gaining great highlight in the brazilian sugarcane cultivation, being that the association of different pest control methods is very important to integrated management. Thus, the objective of this study was to evaluate the effects of chemical and biological products in the survival, in the biological development and in the parasitism of *T. galloi* in eggs of *D. saccharalis*. We evaluated the effects of one chemical product (Chlorantraniliprole) and five commercial and biofactory-produced biological products, based on *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae*, and *Bacillus thuringiensis*, at the recommended dosages. In addition, autoclaved deionized water and water + surfactant (Tween®) were tested, and the control was free from any application. We evaluated both selectivity and toxicity of the products to *T. galloi* adults and the residual effects in the parasitism and emergence after exposition of the surviving insects to the products. Besides, the effects of the treatments in the parasitoid's development were evaluated by applying them directly on pre parasitized host eggs at different parasitoid's immature stages (2, 4, and 6 days – egg, larva, and pupa). The products used in this study affect *T. galloi*, being the chemical product and the biological products based on *B. thuringiensis* cause higher mortality in adults, however the high residual effect is observed for Chlorantraniliprole, *B. thuringiensis*, and *B. bassiana*; however with no product proving harmful to the parasitoid. Products based on *B. thuringiensis* and *B. bassiana* affected immature stages.

**Keywords:** *Bacillus thuringiensis*, *Beauveria bassiana*, Biological control, Chlorantraniliprole, *Diatraea saccharalis*' eggs, *Metarhizium anisopliae*

## 1 INTRODUÇÃO

A cana-de-açúcar, *Saccharum* spp. (Poaceae), destaca-se como uma cultura de grande importância econômica no Brasil (Souza e Lorenzi, 2012), com estimativa de colheita na safra 2020/21 de 8.605mil hectares e produção de 665,1 milhões de toneladas, tornando o país o maior produtor mundial (CONAB, 2020).

Aproximadamente 80 espécies de herbívoros podem causar danos à cultura (Pinto, 2006; Moraes e Diaz-Chavez, 2015; Borges Filho et al., 2019) e, dentre eles, destacam as cigarrinhas-das-raízes, *Mahanarva fimbriolata* (Stål, 1854) (Hemiptera: Cercopidae), o bicudo da cana-de-açúcar, *Sphenophorus levis* (Vaurie, 1978) (Coleoptera: Curculionidae) e a broca da cana-de-açúcar, *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794) (Lepidoptera: Crambidae), sendo este o inseto-praga de maior relevância para a cultura devido a intensidade de ataque, as perdas causadas na produtividade, a redução na qualidade da matéria-prima e a presença em todas as regiões produtoras do Brasil (Dinardo-Miranda et al., 2013; Macedo et al., 2015).

As mariposas de *D. saccharalis* depositam seus ovos de forma agrupada nas folhas e, após a eclosão, as lagartas se alimentam do parênquima foliar, migrando para a bainha (Botelho e Macedo, 2002; Pimentel et al., 2017). Ao atingirem o segundo ou terceiro ínstar, penetram no colmo pela região do entrenó, onde abrem galerias longitudinais e transversais até completarem seu desenvolvimento, transformando-se em pupas (Rodriguez-del-Bosque et al., 1990; Tomaz et al., 2018).

Diversos métodos de controle são usados para reduzir as densidades populacionais dos insetos-praga que afetam a cana-de-açúcar, tais como o químico e o biológico (microrganismos e macrorganismos), com os bioinseticidas microbianos tendo papel central no mercado de controle biológico no Brasil e no mundo (Mora et al., 2017; Marrone, 2019).

No Brasil, 80% dos produtos biológicos registrados têm como base fungos entomopatogênicos e, como exemplo, destacam-se *Metarhizium anisopliae* (Metch.) Sorokin e *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin (Ascomycota: Hypocreales) (Mascarin et al., 2019). Em canaviais são usados principalmente para controle da cigarrinha-das-raízes, sendo parte produzidos em biofábricas de usinas e parte em empresas comerciais.

No manejo integrado de pragas (MIP), tais fungos adquiriram importância pela sua eficiência, seletividade, especificidade, baixa poluição e toxicidade aos organismos não alvo em relação aos inseticidas de amplo espectro de ação (Lacey et al., 2015; Nicolopoulou-Stamati et al., 2016). A bactéria entomopatogênica *Bacillus thuringiensis* Berliner (Bacilli: Bacillales) também vem sendo indicada para controle de pragas da cana-de-açúcar no Brasil (Cícero et al., 2009; Daquila et al., 2019).

Alguns produtos químicos sintéticos se destacam para controle da broca-da-cana nas fases mais jovens (Silva et al., 2020). No entanto, a lagarta fica exposta por um curto período de tempo, o que torna desvantajoso o controle com os agroquímicos (Cruz, 2008). Assim, o uso de inimigos naturais tem favorecido o controle dessa praga, devido ao seu comportamento de penetrar e se desenvolver no interior do colmo.

O principal parasitoide de ovos de *D. saccharalis* é *Trichogramma galloi* Zucchi, 1988 (Hymenoptera: Trichogrammatidae), podendo impedir o desenvolvimento da praga na cultura (Lima Filho e Lima, 2001; Oliveira et al., 2014). Contudo, a aplicação de produtos químicos para controlar outras pragas pode afetar direta ou indiretamente a broca da cana-de-açúcar e a interação do parasitoide com esses produtos é de fundamental importância no resultado de combate à praga.

A adoção de medidas de controle, isoladas ou em associação, levando-se em consideração a relação custo/benefício e os impactos na sociedade e no ambiente que estas medidas causam, são importantes para a implementação de um programa de MIP (Kogan, 1998).

O objetivo desse trabalho foi avaliar os efeitos de produtos químicos e biológicos na sobrevivência, desenvolvimento e parasitismo de *T. galloi* em ovos de *D. saccharalis*, uma vez que tais produtos podem afetar direta ou indiretamente o desempenho do parasitoide.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 Histórico e importância da cana-de-açúcar no Brasil

A cana-de-açúcar é uma monocotiledônea típica de regiões de clima tropical e subtropical, sendo originária do Sudeste da Ásia (James, 2004). No Brasil é histórica, pois foi uma das primeiras culturas de importância econômica introduzida e cultivada no país desde a sua colonização, sendo o primeiro produto exportado para a Europa em larga escala (Gilio e Moraes, 2016).

O cultivo de *Saccharum* spp. teve início na costa nordeste do Brasil, mas se expandiu em diversas regiões edafoclimaticamente diferentes, cobrindo metade da área cultivada no país (>8 milhões de hectares) (Rudorff et al., 2010; Parra, 2014). O Brasil é o maior produtor mundial de cana-de-açúcar, seguido por Índia, China, Tailândia e Paquistão (FAO, 2019). O Estado de São Paulo lidera a produção nacional de cana-de-açúcar, com aproximadamente 4,2 milhões de hectares plantados na safra 2019/2020, o que corresponde a aproximadamente 50% da área cultivada no País (CONAB, 2020).

Diversos produtos são obtidos da cana-de-açúcar, destacando-se o açúcar e o álcool etílico, constituindo este último o maior programa de combustível renovável do planeta (Cícero et al., 2009; Marin e Nassif, 2013). A demanda global por etanol tem estimulado a produção de cana-de-açúcar no Brasil, tendo-se uma safra que cresce exponencialmente a cada ano (Barbosa e Gatti Júnior, 2012; CONAB, 2020).

Dentre os insetos que atacam a cana-de-açúcar destacam-se as cigarrinhas-das-raízes e a broca da cana-de-açúcar, que podem causar 20% de perda na produtividade da cultura (Santiago e Rosseto, 2008; Rossato Júnior et al., 2013; Usman et al., 2020). A proibição da queima durante a pré-colheita em certas regiões desde 2014 e a manutenção da palhada no campo fizeram com que as densidades populacionais de algumas pragas aumentassem, saindo do “status” de praga secundária e passando a pragas primárias, como é o caso do bicudo da cana-de-açúcar, *S. levis* (Dinardo-Miranda e Fracasso, 2013; Bordonal et al., 2018). Isso tem modificado os sistemas de manejo de pragas da cultura, ou seja, a demanda pela

aplicação de diferentes métodos de controle (Leite et al., 2012; Sajjad et al., 2012; Carvalho et al., 2017; Castro et al., 2019).

## **2.2 Morfologia, bioecologia e danos de *Diatraea saccharalis***

A broca da cana-de-açúcar, *D. saccharalis*, é um inseto holometábolo que está presente em todas as regiões canavieiras do Brasil, bem como em diversos países das Américas, sendo uma das principais pragas da cultura (Box, 1931; Duarte et al., 2012). Essa praga também pode ser encontrada em outras culturas como arroz, milho e sorgo (Box, 1931; Pinto et al., 2009; Macedo et al., 2015).

O ciclo biológico da broca dura em torno de 60 dias, dependendo das condições climáticas. Os ovos são ovalados e achatados, colocados sobrepostos como “escamas de peixe”, de coloração branco a amarelados quando recém-ovipositados e à medida que o embrião larval vai se desenvolvendo, ficam alaranjados e marrons, sendo possível visualizar a cápsula cefálica das lagartas quando estão próximas da eclosão. São ovipositados nas folhas, tanto na face abaxial como adaxial, em forma agrupada, que geralmente podem ter de 2 a 50 ovos (Botelho e Macedo, 2002; Macedo et al., 2015). O período de incubação varia de 4 a 12 dias (Botelho e Macedo, 2002; Pinto et al., 2009; Macedo et al., 2015).

As lagartas de *D. saccharalis* são do tipo eruciforme, apresentando três pares de pernas torácicas, quatro pares de pseudópodes abdominais e um par de pseudópode anal. São de coloração variando de branco-leitosa a creme, com manchas escuras dorsais e laterais, com cápsula cefálica marrom. Elas podem atingir, em média, 25 a 30 mm de comprimento e passam por cinco ínstares. As lagartas recém-eclodidas vão em direção à inserção das bainhas foliares procurando abrigo e alimentando-se raspando o parênquima foliar e, quando atingem o segundo ou terceiro ínstar, perfuram e penetram no colmo, próximo ao nó (região mais mole), abrindo galerias internamente que podem ser circulares ou longitudinais. Quando estão na fase de pré-pupa cessam a alimentação, começam a limpar a galeria em que se encontram e ampliá-la, abrindo orifícios para o exterior por onde os adultos vão sair, fechando-os com fios de seda, serragem ou restos alimentares, transformando-se na sequência em pupas. O período larval dura entre 20 a 79 dias

(Botelho e Macedo, 2002; Pinto et al., 2009; Sandoval e Senô, 2010; Macedo et al., 2015).

As pupas da broca da cana-de-açúcar são do tipo obtecta, alongadas, com cerca de 16 a 22 mm de comprimento e formam-se no interior do colmo (nas galerias), sendo as pupas que originarão fêmeas maiores que as de machos. Possuem coloração castanho claro quando se formam e escurecem com o desenvolvimento. O período pupal pode durar de 7 a 14 dias (Botelho e Macedo, 2002; Macedo et al., 2015).

Os adultos de *D. saccharalis* são mariposas de hábito noturno e de coloração amarelo-palha, com manchas escuras nas asas anteriores, sendo as posteriores lisas e esbranquiçadas; possuem cerca de 25 mm de envergadura (Macedo et al., 2015). As fêmeas, assim como ocorre nas pupas, são maiores que os machos, sendo eles de coloração mais escura, apresentando no último par de pernas uma concentração de cerdas que é ausente nas fêmeas (Botelho e Macedo, 2002). A longevidade dos adultos é cerca de 3 a 15 dias e uma fêmea pode colocar de 200 a 600 ovos, sendo a oviposição realizada no período noturno, com o período de pré-oviposição, em média, de 2 dias (Pinto et al., 2009).

A broca da cana-de-açúcar causa diversos danos devido ao hábito de penetrar no colmo e fazer galerias, deixando-o mais frágil e suscetível à quebra por ação de ventos e chuvas; causa diminuição de peso da planta, além de, como forma de defesa, e em resposta ao ataque, a planta pode emitir brotos laterais e raízes aéreas (Botelho e Macedo, 2002; Macedo et al., 2015). Devido aos danos, o entrenó pode atrofiar e, quando a gema apical é danificada, na região do palmito, ocorre o sintoma conhecido como “coração morto”. Além disso, proporciona uma via de entrada para outros patógenos como *Colletotrichum falcatum* Went e *Fusarium moniliforme* J.L. Sheldon, causadores da podridão vermelha, que provoca a inversão da sacarose, redução da pureza do caldo e problemas no processo de fermentação alcoólica (Dinardo-Miranda, 2008; Pinto et al., 2009; Macedo et al., 2015).

### 2.3 Controle químico com Clorantraniliprole em cana-de-açúcar

Nos canaviais o uso de inseticidas químicos sintéticos é uma prática comum, embora o emprego do controle biológico seja base no manejo de pragas-chave da cana-de-açúcar (Noronha et al., 2019). Para *D. saccharalis* os produtos são aplicados nas folhas para reduzir a população de lagartas neonatas ainda fora dos colmos (Wiedenmann et al., 1992; Matioli et al., 2019), sendo os inseticidas dos grupos das diamidas, benzoilureias, diaciltriazinas, piretroides e neonicotinoides de uso mais frequente no manejo da broca e de outras pragas relevantes (MAPA, 2020).

As antranilamidas ou clorantraniliprole são moléculas inseticidas do grupo das diamidas e agem como moduladoras dos receptores de rianodina e são indicadas para controlar pragas de importância econômica, como os lepidópteros-praga, em canaviais (Cordova et al., 2006; IRAC, 2017 ; MAPA, 2020).

As contrações musculares dos insetos dependem da liberação controlada de cálcio intracelular, mas as moléculas do grupo das diamidas fazem com que haja uma liberação descontrolada de cálcio do retículo sarcoplasmático (que armazena cálcio) para as fibras musculares, devido à modulação anormal dos receptores de rianodina. Assim, há uma contração irregular das células musculares, levando o inseto a paralisia, letargia, inanição e morte (Tohnishi et al., 2005).

Este produto favorece consideravelmente a diminuição da infestação de *D. saccharalis* (Barreto, 2018; Silva et al., 2020), apesar de alguns estudos demonstrarem o efeito negativo de inseticidas em inimigos naturais, como os parasitoides usados em cana-de-açúcar (Desneux et al., 2007; Goulart et al., 2012; Costa et al., 2014; Beloti et al., 2018; Matioli et al., 2019).

### 2.4 Controle biológico de pragas da cana-de-açúcar no Brasil

Os efeitos indesejáveis do uso de inseticidas químicos sintéticos despertaram a necessidade de medidas social e ambientalmente mais seguras e sustentáveis, o que levou à busca por moléculas inseticidas menos perigosas e outras medidas

alternativas (Carson, 1962; Heckel, 2012). Com isso, o controle biológico e o manejo integrado de pragas se tornaram presentes na agricultura (Gay, 2012).

O controle biológico, particularmente o uso de insetos para controlar insetos-praga em produções agrícolas, é uma estratégia antiga usada desde o século III pelos chineses, os quais utilizavam formigas como inimigos naturais de pragas dos citros (van den Bosch, 1982). Mas, foi a partir da liberação de *Rodolia cardinalis* (Mulsant, 1850) (Coleoptera: Coccinelidae) que o controle biológico foi reconhecido como técnica de sucesso para controlar pragas (Parra, 2011). No Brasil, a atenção ao controle biológico foi fortemente influenciada pelo uso intensivo de agrotóxicos e a pressão social para o uso de técnicas alternativas considerando, além da economia, a sociedade e o meio ambiente, ou seja, métodos integrados de controle que diminuíssem ou eliminassem os agroquímicos (Kogan, 1998).

Apesar do uso ainda limitado no país, em função de aspectos culturais ligados ao uso de químicos e a extensa prática da monocultura, as estratégias para controlar pragas usando inimigos naturais vêm tomando força a cada ano (Parra, 2014).

Na produção de cana-de-açúcar no Brasil, o controle biológico é usado como estratégia para controlar pragas-chave. O controle de *D. saccharalis* e *M. fimbriolata* usando inimigos naturais (inseto e entomopatógeno, respectivamente) é tido atualmente como dos mais eficientes no mundo (Parra, 2010; Parra, 2011; Parra e Coelho, 2019). Para o controle da cigarrinha-das-raízes destaca-se o uso do fungo entomopatogênico *M. anisopliae*, cobrindo uma área de aproximadamente 2 milhões de hectares. Para o controle da broca da cana-de-açúcar destacam-se o parasitoide de lagartas *Cotesia flavipes* Cameron, 1891 (Hymenoptera: Braconidae), com liberações em cerca 3,3 milhões de hectares, e o de ovos *T. galloi*, sendo liberado em cerca de 500.000 hectares (Botelho e Macedo, 2002; Parra, 2014; Parra e Coelho, 2019).

## **2.5 Utilização de *Trichogramma galloi***

O gênero *Trichogramma* Westwood, 1833 (Hymenoptera: Trichogrammatidae) é constituído por insetos holometábolos, pequenos (0,2 a 1,5 mm de comprimento) e

que ocorrem naturalmente em quase todos os habitats terrestres, sendo também encontrados parasitando espécies de insetos aquáticos (Zucchi et al., 2009). Essas “vespinhas” parasitam primordialmente ovos de Lepidoptera, a exceção de algumas espécies que também utilizam ovos de coleópteros, dípteros, neurópteros, heterópteros e outras vespas (Knutson, 1998; Querino e Zucchi, 2003; Zucchi et al., 2009). Podem ser especialistas, quando parasitam poucas espécies de hospedeiros, como o *T. galloi*, ou generalistas, quando parasitam várias espécies de hospedeiros, como o *Trichogramma pretiosum* Riley, 1879 (Zucchi et al., 2009; Querino e Zucchi, 2012). Dentre as espécies desse gênero, *T. galloi* é um endoparasitoide específico de ovos de *Diatraea* spp., encontrado em cultivos de cana-de-açúcar nos países da América do Sul, como Brasil, Bolívia, Paraguai, Peru e Uruguai (Zucchi et al., 2009; Querino e Zucchi, 2012).

As fêmeas de *Trichogramma* spp. usam sinais visuais para localizar o hospedeiro, como o tamanho e a cor do ovo, além de “pistas” químicas, como por exemplo, aquelas presentes nas escamas das asas dos lepidópteros (caïromônios) que caem próximo à postura no momento da oviposição. Após 24 h do parasitismo, as larvas eclodem e passam por 3 ínstaes, com duração do período larval de 3 a 4 dias. Uma das características observadas no parasitismo é a modificação da cor do hospedeiro, o qual se torna mais escuro devido a deposição de sais de urato em seu cório. Quando o ovo do hospedeiro está totalmente preto, o parasitoide encontra-se em estágio de pupa, sendo que esse período tem duração em torno de 4 dias. Decorridos 8 a 10 dias do parasitismo, os adultos emergem através de um orifício feito pela mastigação do cório do ovo, ocorrendo normalmente no início da manhã. As fêmeas que foram fecundadas originam machos e fêmeas, enquanto as não fecundadas dão origem apenas a indivíduos machos (Strand, 1986; Ruberson e Kring, 1993; Knutson, 1998; Querino e Zucchi, 2003).

Várias espécies de *Trichogramma* são usadas para controle de lepidópteros-praga em diversas culturas de importância econômica, caracterizando programas de controle biológico aumentativo (Mills, 2010). Mais de 200 espécies são conhecidas em todo o mundo, sendo que destas, apenas 19 são usadas no controle biológico, e *T. pretiosum* tem destaque nas Américas do Norte e do Sul (van Lenteren, 2000; Parra e Zucchi, 2004; Laurentis et al., 2019).

Estes parasitoides são criados em larga escala por apresentarem facilidade de manutenção em hospedeiros alternativos (Mills, 2010). No Brasil, muita atenção tem sido dada a *T. galloi*, amplamente utilizado para controlar a broca da cana-de-açúcar, pela sua eficiência e por ser um parasitoide específico (Parra e Zucchi, 2004; Geremias e Parra, 2014). Ele possui preferência por ovos da broca da cana-de-açúcar, quando comparado a ovos de um dos hospedeiros mais usados para criação de parasitoides, *Anagasta kuehniella* (Zeller, 1879) (Lepidoptera: Pyralidae) (Cônsoi e Parra, 1996).

O parasitoide larval *C. flavipes* é um dos mais importantes programas de controle biológico de *D. saccharalis* no mundo, com o uso de *T. galloi* também se tomando destaque, pois ao parasitar os ovos da broca da cana-de-açúcar, ele reduz o número de lagartas que causarão danos à cultura (Botelho et al., 1999; Pinto et al., 2009). Quando associado com *C. flavipes* pode-se obter reduções nas intensidades de infestação da ordem de 60% (Botelho et al., 1999).

## **2.6 Utilização de *Bacillus thuringiensis***

A descoberta da bactéria entomopatogênica *B. thuringiensis* foi fundamental para o controle biológico de pragas de relevância econômica, tornando-se uma alternativa viável e segura devido à especificidade ao organismo alvo (Kumar et al., 2008; Fiuza et al., 2017). *Bacillus thuringiensis* é Gram-positiva e sintetiza proteínas que são produzidas durante a fase vegetativa de crescimento (VIP) e durante a esporulação produz grandes quantidades de proteínas cristalinas parasporais (Cry). Ambas são inseticidas e eficazes no controle de pragas das ordens Coleoptera, Diptera, Hemiptera e Lepidoptera (Donovan et al., 1992; Estruch et al., 1996; Guo et al., 2008; Monnerat et al., 2010; Ben-Dov, 2014).

A ação inseticida da bactéria ocorre a partir da ingestão das toxinas e a consequente ligação das proteínas a receptores no revestimento intestinal, causando lise de células epiteliais na parede do intestino, o que interrompe a alimentação do hospedeiro e causa posterior morte por septicemia, quando a bactéria cresce e se multiplica na hemolinfa (Adang et al., 2014).

O uso de bioinseticidas à base de *B. thuringiensis* é uma prática crescente em diversos países do mundo, movimentando um mercado continuamente em expansão (Ruiu, 2018). Diversos estudos têm mostrado a eficácia de *Bt* em pragas da cana-de-açúcar, incluindo as lagartas das brocas, *Diatraea flavipennella* Box, 1931 (Lepidoptera: Crambidae) e *D. saccharalis* (Lemes et al., 2017; Daquila et al., 2019). Em canaviais o uso de *Bt*, na forma de bioinseticidas ou plantas transgênicas, é recomendado para controlar pragas como *S. levis* e *D. saccharalis* (Rosas-García, 2006; Cícero et al., 2009; Cristofolletti et al., 2018).

Apesar dos efeitos positivos de *Bt* no controle de pragas, há preocupação sobre os efeitos dessa bactéria em organismos não alvos (Romeis et al., 2008). A bactéria pode afetar os inimigos naturais de forma negativa quando prejudica a qualidade nutricional do hospedeiro ou reduz a abundância da relação hospedeiro/presa (Groot e Dicke, 2003; Marvier et al., 2007). Em alguns casos, os efeitos de *Bt* podem ser expressivos em parasitoides de lagartas (Walker et al., 2007; Rolim et al., 2020), entretanto, essa bactéria não causa efeitos negativos em *Trichogramma brassicae* Bezdenko, 1968 (Hymenoptera: Trichogrammatidae) (Vaez et al., 2020), por exemplo. Dessa forma, se não ocorrerem efeitos negativos no organismo não alvo, no caso dos parasitoides de ovos, os serviços de biocontrole podem ser incrementados (Han et al., 2019).

## **2.7 Fungos entomopatogênicos em cana-de-açúcar**

O uso de microrganismos no controle biológico, dentre eles os fungos, têm grande destaque, sendo crescente no mundo inteiro e no Brasil. Segundo van Lenteren et al. (2018) e Parra e Coelho (2019), o uso tem aumentado a uma taxa anual de aproximadamente 20%.

A infecção dos fungos entomopatogênicos em insetos ocorre via cutícula, sendo que a adesão dos conídios ocorre sobre a cutícula de forma passiva por meio de interações eletrostáticas. Após o contato, começa o processo de germinação dos conídios com posterior formação dos apressórios, os quais iniciam um processo de secreção de enzimas hidrolíticas que degradam a cutícula do hospedeiro e favorecem a penetração das hifas. Uma vez no interior do hospedeiro, o micélio se

ramifica dando origem a blastósporos leveduriformes (Goettel e Inglis, 1997; Sosa-Gomez et al., 1997; Mora et al., 2017).

*Beauveria bassiana* é um fungo entomopatogênico considerado generalista, encontrado com frequência sobre insetos e amostras de solo, apresentando patogenicidade para diferentes ordens de insetos, tais como Lepidoptera, Coleoptera e Hemiptera (Meyling et al., 2007; Prestes et al., 2015; Zambiazzi et al., 2016). Este fungo é um dos mais difundidos, formulados e comercializados no mundo e, além disso, também pode colonizar endofiticamente algumas plantas cultivadas comercialmente, como a cana-de-açúcar (Mascarin e Jaronski, 2016; Donga et al., 2018). Em canaviais estes fungos são usados para controle de pulgões, cigarrinhas e broca da cana-de-açúcar (Botelho e Monteiro, 2011; Svedese et al., 2013; Harris-Schultz et al., 2020).

*Metarhizium anisopliae*, identificado em 1879 infectando um coleóptero-praga do trigo na Rússia, tem sido estudado para controle de pragas da cana-de-açúcar, sendo amplamente utilizado no controle das cigarrinhas-das-raízes (Rodhe et al., 2006; Loureiro et al., 2012). A infecção do hospedeiro por *M. anisopliae* ocorre a partir da aderência e germinação dos conídios na cutícula do inseto, fase que pode levar de 16 a 20 horas, ou ainda, via oral ou regiões intersegmentais do hospedeiro. A morte do hospedeiro ocorre pela produção de metabólitos secundários com atividade inseticida ou por danos físicos, causados pelo crescimento do micélio (Alves, 1998). A patogenicidade de *M. anisopliae* é função da variabilidade genética do isolado do fungo, ou seja, a mortalidade do hospedeiro pode variar de 22 a 70% (Freitas et al., 2012). Diversos produtos são formulados mundialmente (Mascarin et al., 2019), sendo registrados no Brasil vários produtos, com mais de 2 milhões de hectares tratados anualmente com este fungo para controle de *M. fimbriolata* (Iwanicki et al., 2019).

### 3 MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram conduzidos no Laboratório de Biologia e Criação de Insetos (LBCI) do Departamento de Ciências da Produção Agrícola (Fitossanidade), Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista (UNESP/FCAV), Jaboticabal, São Paulo, Brasil, em condições controladas (temperatura de  $25 \pm 2^\circ\text{C}$ , umidade relativa de  $70 \pm 10\%$  e fotoperíodo de 12 horas de luz/ escuro). As posturas de *D. saccharalis* foram obtidas na Biofábrica da Usina São Martinho, Pradópolis, SP. Os adultos de *T. galloi* foram provenientes da criação existente no LBCI.

Para avaliar o efeito sobre ovos de *D. saccharalis* e do parasitoide de ovos *T. galloi* foram testados seis produtos, sendo um químico, Clorantraniliprole (Altacor<sup>®</sup>350 WG) e cinco biológicos: produtos comerciais à base de fungo *B. bassiana* (Granada<sup>®</sup>WP) e *M. anisopliae* (Opala<sup>®</sup>WP) e à base de bactéria *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* (Dipel<sup>®</sup> WP), além de *B. bassiana* e *M. anisopliae* produzidos em arroz no Laboratório de Fungos Entomopatogênicos da Usina São Martinho, Pradópolis, SP. Testou-se também água deionizada autoclavada e água deionizada autoclavada acrescida de Tween<sup>®</sup> 20 (0,01%), e como testemunha nenhum tratamento foi realizado.

#### 3.1 Seletividade dos produtos a adultos de *Trichogramma galloi*

##### 3.1.1 Criação de *Trichogramma galloi*

Cerca de 300 ovos do hospedeiro *D. saccharalis* foram oferecidos aos parasitoides em tubos de vidro de fundo chato (8,0 cm de altura × 2,0 cm de diâmetro), contendo aproximadamente 15 fêmeas adultas recém-emergidas de *T. galloi*. Na superfície lateral interna de cada tubo foi adicionada uma gotícula de mel, substrato para alimentação dos parasitoides adultos. A substituição das posturas ocorreu a cada 24 horas, por até três dias. Os ovos parasitados foram transferidos para outros tubos semelhantes, vedados com plástico filme PVC, onde ocorreu a emergência dos adultos.

### 3.1.2 Bioensaios de seletividade

Os inseticidas foram utilizados nas seguintes dosagens, conforme recomendações dos fabricantes: Altacor® 60g/ha do produto comercial para 250L de água; Granada® 500g/ha do produto comercial para 150L de água; Opala® WP 750g/ha do produto comercial para 150L de água; Dipel® WP 1 kg/ha do produto comercial para 300L de água; *B. bassiana* e *M. anisopliae* produzidos em arroz no Laboratório de Fungos Entomopatogênicos da Usina São Martinho, 1 kg/ha do produto para 150L de água.

As fêmeas dos parasitoides, com até 24 h de idade, foram individualizadas em tubos de vidro de fundo chato (8,0 cm de altura × 2,0 cm de diâmetro), contendo uma gotícula de mel (substrato alimentar), sendo o tubo fechado com filme plástico PVC. Os insetos foram separados por sexo pela análise das antenas em microscópio estereoscópio, sendo as antenas da fêmea genículo-clavadas com poucas cerdas e as do macho com muitas cerdas (Querino e Zucchi, 2005).

Posteriormente, 50 ovos de *D. saccharalis* com até 24 h de idade, em folha de papel sulfite, foram imersos durante dez segundos nas caldas dos produtos. Os tratamentos com água deionizada autoclavada (água) e água deionizada autoclavada + Tween®20 (0,01%) (água com espalhante) seguiram a mesma metodologia. Os ovos tratados permaneceram à temperatura ambiente em câmara de fluxo laminar até a secagem. Os ovos da testemunha não receberam nenhum tipo de tratamento. Após a secagem, tanto os ovos da testemunha quanto aqueles tratados foram oferecidos às fêmeas pelo período de 24 horas, objetivando o parasitismo, de acordo com a metodologia de Vianna et al. (2009) e Brugger et al. (2010). Posteriormente, foram mantidos em tubos de vidro de fundo chato (8,0 cm de altura x 2,0 cm de diâmetro) com um pedaço de papel filtro esterilizado e umedecido com água deionizada esterilizada para prevenir o dessecamento, sendo então armazenados até a emergência dos adultos. Foram avaliados o parasitismo e a emergência de adultos de *T. galloi*.

A redução da porcentagem de emergência em cada tratamento foi calculada pela seguinte fórmula:

$$RE (\%) = (1 - Et/Ec) \times 100, \text{ onde:}$$

RE é a redução da porcentagem de emergência; Et a emergência dos adultos no tratamento com produto; e Ec a emergência dos adultos no tratamento controle (testemunha).

A redução do parasitismo em cada tratamento foi calculada por:

$$RP (\%) = (1 - Pt/Pc) \times 100, \text{ onde}$$

RP é a redução da porcentagem de parasitismo; Pt é o parasitismo observado no tratamento com produto; e Pc é o parasitismo no tratamento controle (testemunha).

A toxicidade dos produtos foi classificada em quatro grupos, de acordo com a International Organization for Biological Control (IOBC) (Sterk et al., 1999), onde:

Classe 1 = inócuo (RE ou RP < 30%);

Classe 2 = levemente nocivo (30 < RE ou RP < 79%);

Classe 3 = moderadamente nocivo (80 < RE ou RP < 99%); e

Classe 4 = nocivo (RE ou RP > 99%).

O delineamento experimental usado nesse bioensaio foi inteiramente ao acaso, com nove tratamentos, com 20 repetições com 1 fêmea de *T. galloi* e média de 50 ovos de *D. saccharalis* cada. Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e as médias dos tratamentos comparadas a 5% de probabilidade pelo teste de Tukey, empregando-se o programa SAS (SAS Institute, 2002).

### **3.2 Ação dos produtos em *Trichogramma galloi***

#### **3.2.1 Toxicidade aguda por contato a adultos de *Trichogramma galloi***

##### **a) Sobrevivência dos adultos de *Trichogramma galloi* após a exposição ao resíduo seco dos produtos**

Para avaliar a toxicidade aguda por contato dos produtos aos adultos de *T. galloi* foi utilizada a metodologia de resíduo seco, adaptada de Desneux et al. (2006) e Ko et al. (2015), sendo empregadas as dosagens anteriormente descritas. Alíquotas de 5 mL de calda de cada tratamento foram transferidas para tubos de vidro de fundo chato (8,0 cm de altura × 2,0 cm de diâmetro). Os tubos foram rotacionados manualmente até que a superfície interna estivesse completamente

coberta pela calda, o mesmo ocorrendo para os tratamentos água e água com espalhante.

Os tubos foram mantidos com a superfície aberta para baixo, à temperatura ambiente, até a secagem. Posteriormente, fêmeas de *T. galloi* com até 24 horas de idade foram colocadas nos tubos, sendo 5 tubos para cada tratamento e 20 fêmeas por tubo, contendo internamente gotículas de mel (alimentação dos parasitoides), e vedados com filme plástico de PVC. As aberturas dos tubos vedadas com o plástico foram mantidas voltadas para baixo, sobre uma superfície de cor preta, para que os insetos pudessem ser atraídos pela luz, forçando o contato com a superfície do tubo tratada.

Após 1 e 24 horas de exposição foi avaliada a mortalidade. Os insetos sobreviventes foram divididos em dois lotes, sendo um para acompanhar a longevidade dos adultos sobreviventes pós-contato com os tratamentos e outro para verificar o efeito da exposição no parasitismo e na emergência da prole.

Para a análise da sobrevivência, o delineamento foi composto por 40 fêmeas oriundas de cada tratamento, separadas em tubos de vidro de fundo chato, contendo uma gotícula de mel e vedados com plástico filme PVC. De 24 em 24 horas foi determinada a mortalidade, sendo consideradas mortas aquelas que não apresentavam movimento mesmo quando tocadas com um pincel de cerdas finas. Os dados de sobrevivência foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste Tukey ao nível de 5% de probabilidade, em delineamento inteiramente casualizado, utilizando-se o programa SAS (SAS Institute, 2002).

#### **b) Efeitos no parasitismo e emergência dos indivíduos sobreviventes à exposição aos resíduos secos dos produtos**

Fêmeas de *T. galloi* sobreviventes pós-contato com os tratamentos foram individualizadas em tubos de vidro de fundo chato, contendo uma gotícula de mel e vedados com filme plástico PVC. Em cada tubo eram colocados 50 ovos de *D. saccharalis*. Cada fêmea ficou 24 horas em contato com os ovos, sendo removida após este período. Foi avaliado o parasitismo por meio da contagem de ovos escuros, além da emergência dos descendentes, pela contagem dos ovos com

orifício de emergência, período de incubação, longevidade dos adultos e razão sexual.

Os dados foram submetidos aos testes de Shapiro-Wilk (Shapiro e Wilk, 1965) e Bartlett (Snedecor e Cochran, 1989), quanto à normalidade e homogeneidade da variância, respectivamente, e, quando necessário, foram realizadas as transformações para atender aos requisitos da ANOVA. Quando foi encontrada diferença significativa, o teste de Tukey ( $P \leq 0,05$ ) foi utilizado para comparações entre os tratamentos, utilizado-se o software SAS (SAS Institute, 2002).

### **c) Efeito dos produtos nos estágios de ovo, larva e pupa de *Trichogramma galloi***

Para analisar o efeito dos tratamentos nos estágios imaturos de *T. galloi*, posturas de *D. saccharalis* contendo aproximadamente 50 ovos foram expostos às fêmeas de *T. galloi* (com idade de até 24 horas de emergidas), individualizadas em tubos de vidro de fundo chato (8,0 cm de altura  $\times$  2,0 cm de diâmetro) para o parasitismo. Decorridas 24 horas, os parasitoides foram removidos e as posturas submetidas aos diferentes tratamentos descritos no item 3.1.2, imersas por 10 segundos, seguindo metodologia de Sterk et al.(1999), aos 2, 4 e 6 dias após o parasitismo. Foram utilizadas 10 repetições (50 ovos) por tratamento. Esses períodos após o parasitismo correspondem, respectivamente, aos estágios de ovo, larva e pupa do parasitoide segundo Saber et al. (2004).

Nesta etapa do trabalho foram avaliados o número de ovos escuros e o número de ovos com orifício de saída dos adultos, obtendo-se assim as porcentagens de parasitismo e de emergência. Ainda foram calculadas as reduções na emergência (RE) e no parasitismo (RP) para cada tratamento, de acordo com as equações descritas no item 3.1.2, sendo a toxicidade dos produtos também determinadas conforme IOBC, em procedimento descrito no mesmo item.

Os dados foram submetidos aos testes de Shapiro-Wilk e Bartlett, quanto à normalidade e homogeneidade da variância, respectivamente, e, quando necessário, foram realizadas as transformações para atender aos requisitos da ANOVA e as

médias comparadas pelo teste de Tukey ( $P \leq 0,05$ ), sendo utilizado o software SAS (SAS Institute, 2002).

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos nesse estudo comprovaram a hipótese de que os produtos biológicos ou químico usados para controle de pragas da cana-de-açúcar, como o próprio hospedeiro usado nesse estudo (*D. saccharalis*), podem afetar o parasitoide *T. galloi*. No geral, o produto químico e os produtos biológicos atuaram de forma diferente, direta ou indiretamente, no adulto e nas fases imaturas do parasitoide. Contudo, nenhum produto foi considerado nocivo pela classificação do IOBC.

### 4.1 Seletividade dos produtos a adultos de *Trichogramma galloi*

Quando os ovos de *D. saccharalis* foram expostos aos tratamentos antes do parasitismo por *T. galloi*, verificou-se que a aplicação de Clorantraniliprole e da água com espalhante causou diminuição no número de ovos parasitados (9,1 e 12,1 ovos parasitados, respectivamente), sendo o químico considerado pela IOBC como levemente nocivo, enquanto os fungos *M. anisopliae* comercial (22,5 ovos parasitados) e o proveniente da biofábrica da usina (21,8 ovos parasitados) tiveram o maior número de ovos parasitados, sendo considerados, de acordo com a IOBC, como inócuos (Tabela 1). Oliveira et al. (2013), obtiveram, com o tratamento de ovos de *D. saccharalis* com Clorantraniliprole, 14,6 ovos parasitados por *T. galloi*, sendo considerado pela IOBC como levemente nocivo (classe 2), classificação semelhante à encontrada nesse experimento. Já para o tratamento com *M. anisopliae*, *T. galloi* parasitou 18,7 ovos, inferior ao encontrado nesse bioensaio. Alguns fungos entomopatogênicos podem apresentar compatibilidade com outros inimigos naturais, como parasitoides (Potrich et al., 2017; Miranda-Fuentes et al., 2020).

Houve maior percentual de parasitismo dos ovos da broca quando foram tratados com *M. anisopliae* comercial (44,5%) e o proveniente da biofábrica da usina (45,6%) e o tratamento com água (40,6%), sendo menor o parasitismo em ovos tratados com água com espalhante (22,9%) e Clorantraniliprole (17,7%).

Tanto o tratamento com espalhante quanto o fungo *M. anisopliae* comercial causaram menor percentual de emergência de *T. galloi* (< 50%), sendo considerados pela IOBC como levemente nocivos (Tabela 1). Resultado semelhante foi obtido por Oliveira et al. (2013), quando os ovos de *D. saccharalis* foram tratados com *M. anisopliae* e oferecidos ao *T. galloi*, sendo verificado 48,7% de emergência. Foi comprovado que a aplicação de cepas deste fungo reduz o parasitismo em ovos de *D. saccharalis*, com efeitos negativos na emergência e na longevidade do parasitoide (Broglia-Micheletti et al., 2006). Quando aplicado em ovos de *D. flavipennella*, *M. anisopliae* também foi levemente nocivo à *T. galloi*, causando um percentual de emergência de apenas 40% (Valente et al., 2018). Nesse bioensaio observou-se que a aplicação do espalhante adesivo (Tween®) nos ovos de *D. saccharalis* afetou o número de ovos parasitados e a emergência dos adultos.

Os fungos *B. bassiana* comercial e o oriundo da biofábrica, juntamente com *M. anisopliae* oriundo da biofábrica e o tratamento com água, não causaram redução na emergência do parasitoide quando aplicados sobre os ovos do hospedeiro antes do parasitismo. Em alguns casos, fungos podem afetar o comportamento do parasitoide, repelindo-os ou atraindo-os (Smaniotto et al., 2013; Luckman et al., 2014), provavelmente por causar mudanças nas “pistas” visuais e olfativas de localização, e gustativas e visuais para a seleção hospedeira (Vinson, 1997).

**Tabela 1.** Número de ovos de *Diatraea saccharalis* parasitados e porcentagens de parasitismo e de emergência de *Trichogramma galloi* com ovos tratados antes do parasitismo.

| Tratamento                                                   | <sup>1</sup> NOP | <sup>2</sup> RP (%) | <sup>3</sup> C | <sup>1</sup> Parasitismo (%) | <sup>1</sup> Emergência (%) | <sup>2</sup> RE (%) | <sup>3</sup> C |
|--------------------------------------------------------------|------------------|---------------------|----------------|------------------------------|-----------------------------|---------------------|----------------|
| Testemunha                                                   | 15,1 ± 1,15 b    | -                   | -              | 29,8 ± 2,34 ab               | 79,9 ± 3,09 a               | -                   | -              |
| <sup>4</sup> Água                                            | 15,3 ± 2,06 b    | (1,32)              | 1              | 40,6 ± 10,68 a               | 78,4 ± 4,18 a               | 1,88                | 1              |
| <sup>5</sup> Água + espalhante                               | 12,1 ± 1,57 bc   | 19,87               | 1              | 22,9 ± 2,81 b                | 41,9 ± 1,95 c               | 47,56               | 2              |
| <sup>6</sup> ( <i>B. bassiana</i> ) Granada <sup>®</sup>     | 15,6 ± 1,27 b    | (3,45)              | 1              | 31,8 ± 2,79 ab               | 86,8 ± 2,50 a               | (8,64)              | 1              |
| <sup>7</sup> ( <i>B. bassiana</i> ) Usina                    | 14,5 ± 1,46 b    | 3,51                | 1              | 29,8 ± 2,99 ab               | 86,2 ± 1,97 a               | (7,81)              | 1              |
| <sup>8</sup> ( <i>M. anisopliae</i> ) Opala <sup>®</sup>     | 22,5 ± 1,01 a    | (49,07)             | 1              | 44,5 ± 2,09 a                | 43,1 ± 0,98 c               | 46,10               | 2              |
| <sup>9</sup> ( <i>M. anisopliae</i> ) Usina                  | 21,8 ± 1,05 a    | (44,88)             | 1              | 45,6 ± 2,49 a                | 82,5 ± 1,82 a               | (3,22)              | 1              |
| <sup>10</sup> ( <i>B. thuringiensis</i> ) Dipel <sup>®</sup> | 17,0 ± 2,20 b    | (12,88)             | 1              | 33,0 ± 4,39 ab               | 68,6 ± 6,86 b               | 14,18               | 1              |
| <sup>11</sup> (Clorantraniliprole) Altacor <sup>®</sup>      | 9,1 ± 2,05 c     | 39,70               | 2              | 17,7 ± 4,01 b                | 63,3 ± 9,92 b               | 20,76               | 1              |
| <b>X<sup>2</sup></b>                                         | 61,97            |                     |                | 63,98                        | 128,33                      |                     |                |
| <b>GL</b>                                                    | 8                |                     |                | 8                            | 8                           |                     |                |
| <b>P</b>                                                     | <0,0001          |                     |                | <0,0001                      | <0,0001                     |                     |                |

<sup>1</sup>NOP (Número de ovos parasitados) – Letras diferentes indicam diferença entre os tratamentos na coluna (Tukey P < 0,05). <sup>2</sup>RP é o efeito do produto inseticida sobre o parasitismo, comparado ao controle negativo. RP (%) = (1-Pt/Pc) × 100; Pt é o parasitismo no tratamento e Pc é o parasitismo no controle negativo. Valor entre parênteses caracteriza aumento no parasitismo; <sup>2</sup>RE é o efeito do produto inseticida sobre a emergência, comparado ao controle negativo. RE (%) = (1 - Et/Ec) × 100; Et é a emergência no tratamento e Ec é a emergência no controle negativo. Valor entre parênteses caracteriza aumento na emergência; <sup>3</sup>Classes da IOBC/WPRS para teste de seletividade sobre *Trichogramma*: 1 = inócuo (<30%), 2 = levemente nocivo (30-79%), 3 = moderadamente nocivo (80-99%), 4 = nocivo (>99%); <sup>4</sup>Tratamento com água deionizada autoclavada; <sup>5</sup> Tratamento com água deionizada autoclavada acrescida de espalhante Tween<sup>®</sup> 20 (0,01%); <sup>6</sup> *Beauveria bassiana* comercial; <sup>7</sup> *Beauveria bassiana* não comercial; <sup>8</sup> *Metarhizium anisopliae* comercial; <sup>9</sup> *Metarhizium anisopliae* não comercial; <sup>10</sup> *Bacillus thuringiensis* comercial e <sup>11</sup> Clorantraniliprole comercial.

## 4.2 Sobrevivência dos adultos de *Trichogramma galloi* após a exposição ao resíduo seco dos tratamentos

Após 1 hora de exposição aos produtos não houve nenhuma morte em todos os tratamentos. A partir de 24h de exposição o tratamento com o inseticida químico e o à base de *B. thuringiensis* provocaram as menores longevidades (2,83 dias e 2,56 dias, respectivamente).

Diversos estudos têm demonstrado a falta de efeitos nocivos de *B. thuringiensis* à *Trichogramma* spp. (Zhu et al., 2009; Thrubru et al., 2016; Jamshidnia et al., 2018). Porém, o resíduo seco de *B. thuringiensis* afetou os adultos de *T. galloi*. Segundo Ksentini et al. (2010), as propriedades físicas das formulações de *B. thuringiensis* podem causar a aderência das asas, pernas e antenas ao corpo do parasitoide adulto, dificultando seu comportamento e levando-os à morte. Além disso, a fase adulta pode ser mais vulnerável à ação de algum produto quando comparada às fases imaturas dos parasitoides de ovos, visto que estas estão protegidas pelo córion do hospedeiro.

Clorantraniliprole é um ingrediente ativo que age por contato e ingestão (Stecca et al., 2014). Assim, efeitos nas fêmeas podem ocorrer porque elas ingerem exsudatos do ovo após o parasitismo (Vinson, 2010).

Para os tratamentos à base de *B. bassiana*, tanto o produto comercial como o proveniente da usina, mostraram as maiores longevidades (7,36 dias e 6,98 dias, respectivamente) (Figura 1).

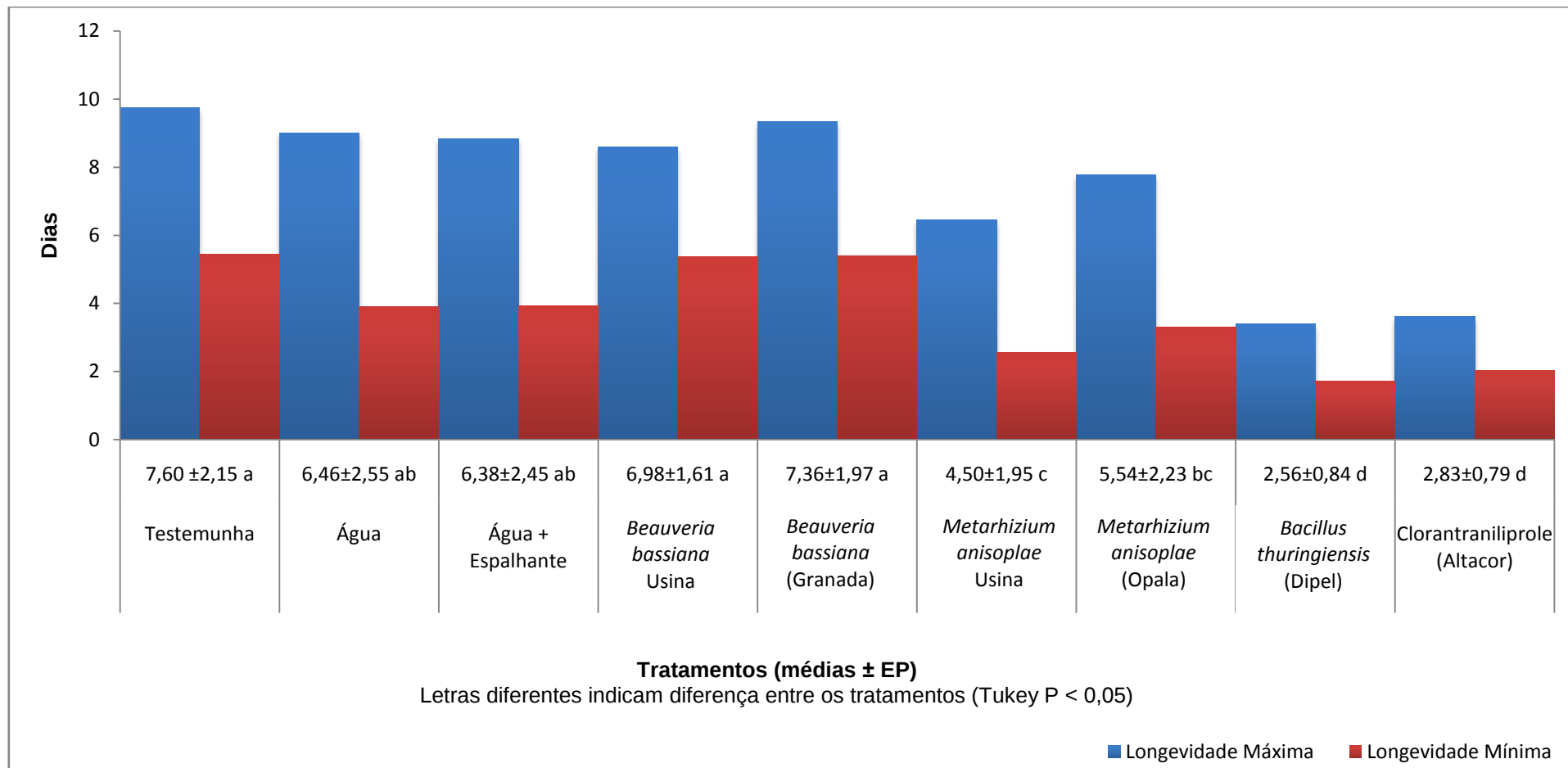


Figura 1 – Efeito do resíduo seco dos tratamentos na longevidade de *Trichogramma galloi*.

#### 4.3 Efeitos no parasitismo e na emergência dos indivíduos sobreviventes à exposição aos resíduos secos dos produtos

Quando foi avaliado o efeito residual dos produtos verificou-se que o número de ovos de *D. saccharalis* parasitados foi menor quando o parasitoide foi exposto ao resíduo seco de Clorantraniliprole (12,1 ovos parasitados) e maior quando expostos aos resíduos secos dos fungos *M. anisopliae* comercial ou oriundo da biofábrica (13,9 ovos parasitados em ambos os tratamentos) (Tabela 2).

*Metarhizium anisopliae* e *B. bassiana* comerciais favoreceram o aumento do parasitismo, com a porcentagem de parasitismo sendo maior para os tratamentos *B. bassiana* comercial (39,0%) e *M. anisopliae* comercial (38,2%), inócuos de acordo com a classificação da IOBC. O percentual de parasitismo, por outro lado, foi influenciado tanto pelo produto químico (20,4%), quanto pelo produto biológico à base de *B. thuringiensis* (21,6%), que reduziram o percentual de parasitismo do parasitoide (Tabela 2).

A emergência foi afetada quando o parasitoide esteve exposto ao resíduo seco do fungo *B. bassiana* proveniente da usina (73,3%) e ao resíduo seco de *B. thuringiensis* (72,8%). Todos os produtos foram considerados inócuos, tanto para o parasitismo quanto para emergência de *T. galloi* (Tabela 2).

**Tabela 2.** Número de ovos de *Diatraea saccharalis* parasitados, porcentagens de parasitismo e de emergência de *Trichogramma galloi* 24 horas após a exposição dos adultos aos resíduos secos dos tratamentos.

| Tratamento                                       | <sup>1</sup> NOP | <sup>2</sup> RP (%) | <sup>3</sup> C | <sup>1</sup> Parasitismo (%) | <sup>1</sup> Emergência (%) | <sup>2</sup> RE (%) | <sup>3</sup> C |
|--------------------------------------------------|------------------|---------------------|----------------|------------------------------|-----------------------------|---------------------|----------------|
| Testemunha                                       | 12,8 ± 0,85 d    | --                  |                | 32,9 ± 1,91 ab               | 84,6 ± 2,16 a               | --                  |                |
| <sup>4</sup> Água                                | 13,2 ± 0,05 c    | (3,12)              | 1              | 27,5 ± 1,74 ab               | 86,0 ± 2,12 a               | (1,65)              | 1              |
| <sup>5</sup> Água + espalhante                   | 13,3 ± 0,07 bc   | (3,90)              | 1              | 29,6 ± 3,17 ab               | 85,1 ± 2,37 a               | (0,59)              | 1              |
| <sup>6</sup> ( <i>B. bassiana</i> ) Granada®     | 13,5 ± 0,07 b    | (5,37)              | 1              | 39,0 ± 1,82 a                | 82,3 ± 1,42 ab              | 2,71                | 1              |
| <sup>7</sup> ( <i>B. bassiana</i> ) Usina        | 12,3 ± 0,07 e    | 3,89                | 1              | 31,2 ± 3,53 ab               | 73,3 ± 2,42 b               | 13,35               | 1              |
| <sup>8</sup> ( <i>M. anisopliae</i> ) Opala®     | 13,9 ± 0,04 a    | (8,64)              | 1              | 38,2 ± 3,82 a                | 89,5 ± 2,60 a               | (5,98)              | 1              |
| <sup>9</sup> ( <i>M. anisopliae</i> ) Usina      | 13,9 ± 0,06 a    | (8,33)              | 1              | 31,2 ± 3,53 ab               | 89,7 ± 2,13 a               | (5,98)              | 1              |
| <sup>10</sup> ( <i>B. thuringiensis</i> ) Dipel® | 12,7 ± 0,14 d    | 0,93                | 1              | 21,6 ± 5,13 b                | 72,8 ± 7,42 b               | 13,90               | 1              |
| <sup>11</sup> (Clorantraniliprole) Altacor®      | 12,1 ± 0,05 f    | 0,93                | 1              | 20,4 ± 2,17 b                | 81,4 ± 4,77 ab              | 3,82                | 1              |
| <sup>2</sup> X                                   | -                |                     |                | 38,84                        | 20,14                       |                     |                |
| F                                                | 4,48             |                     |                | -                            | -                           |                     |                |
| GL                                               | 8                |                     |                | 8                            | 8                           |                     |                |
| P                                                | <0,0001          |                     |                | <0,0001                      | <0,0098                     |                     |                |

<sup>1</sup>NOP (Número de ovos parasitados) – Letras diferentes indicam diferença entre os tratamentos na coluna (Tukey P < 0,05).; <sup>2</sup>RP é o efeito do produto inseticida sobre o parasitismo, comparado ao controle negativo. RP (%) = (1-Pt/Pc) × 100; Pt é o parasitismo no tratamento e Pc é o parasitismo no controle negativo. Valor entre parênteses caracteriza aumento no parasitismo; <sup>2</sup>RE é o efeito do produto inseticida sobre a emergência, comparado ao controle negativo. RE (%) = (1 – Et/Ec) × 100; Et é a emergência no tratamento e Ec é a emergência no controle negativo. Valor entre parênteses caracteriza aumento na emergência; <sup>3</sup>Classes da IOBC/WPRS para teste de seletividade sobre *Trichogramma*: 1 = inócuo (<30%), 2 = levemente nocivo (30-79%), 3 = moderadamente nocivo (80-99%), 4 = nocivo (>99%); <sup>4</sup> Tratamento com água deionizada autoclavada; <sup>5</sup> Tratamento com água deionizada autoclavada acrescida de espalhante Tween® 20 (0,01%); <sup>6</sup>*Beauveria bassiana* comercial; <sup>7</sup>*Beauveria bassiana* não comercial; <sup>8</sup> *Metarhizium anisopliae* comercial; <sup>9</sup> *Metarhizium anisopliae* não comercial; <sup>10</sup> *Bacillus thuringiensis* comercial e <sup>11</sup> Clorantraniliprole comercial.

O período de desenvolvimento foi maior para os tratamentos com os fungos *M. anisopliae* comercial e o proveniente da biofábrica, aproximadamente 14 dias, e menor com o Clorantraniliprole (11 dias). A porcentagem de mortalidade foi maior no tratamento *M. anisopliae* comercial (37,85%) e *B. thuringiensis* (38,43%). E foi observada menor mortalidade no tratamento água com espalhante (6,87%) e *B. bassiana* comercial (11,30%).

Em relação à longevidade, a testemunha e o tratamento com água, promoveram a maior longevidade da prole, aproximadamente 3 dias. Já o tratamento com *M. anisopliae* proveniente da usina (2,1 dias) apresentou a menor longevidade dos descendentes, estes que não receberam alimentação. Não foi encontrada diferença entre os tratamentos na razão sexual que variou entre 0,60 e 0,81 (Tabela 3).

Os efeitos de agroquímicos em parasitoides são variáveis em função do ingrediente ativo e da espécie de parasitoide (Fontes et al., 2018; Valente et al.,

2018). Alguns trabalhos mostram que Clorantraniliprole não causa efeitos nocivos em *Trichogramma* spp. (Brugger et al., 2010; Uma et al., 2014; Khan e Ruberson, 2017; Asma et al., 2018; Khan, 2019), assim como em outros parasitoides (Mills et al., 2016; Stecca et al., 2018). Fontes et al. (2018) indicaram Clorantraniliprole em associação com *Trichogramma achaeae* Nagaraja & Nagarkatti, 1970 (Hymenoptera: Trichogrammatidae) para o MIP de *T. absoluta*, podendo-se dizer que seria possível indicar Clorantraniliprole em associação com *T. galloi* para controle de *D. saccharalis*. Entretanto, para garantir tal informação, a persistência desse ingrediente ativo e algum efeito colateral sobre o parasitoide precisam ser estudados, pois efeitos subletais transgeracionais foram induzidos no parasitoide larval *C. flavipes* (Matioli et al., 2019). Trabalhos em condições de semi-campo e campo devem ser feitos para verificar a ação do Clorantraniliprole em organismos não-alvos.

**Tabela 3.** Período de ovo a adulto, porcentagem de mortalidade, longevidade e razão sexual de *Trichogramma galloi* após 24 horas de exposição do adulto aos resíduos secos dos tratamentos.

| Tratamento                                                  | <sup>1</sup> Período ovo-adulto (dias) | <sup>1</sup> Mortalidade (%) | <sup>1</sup> Longevidade (dias) | <sup>1</sup> Razão Sexual |
|-------------------------------------------------------------|----------------------------------------|------------------------------|---------------------------------|---------------------------|
| Testemunha                                                  | 12,84±0,08 bc                          | 18,73±3,77 abc               | 3,02±0,12 a                     | 0,75±0,05 a               |
| <sup>2</sup> Água                                           | 13,23±0,05 abc                         | 13,79±4,85 bc                | 3,05±0,11 a                     | 0,70±0,05 a               |
| <sup>3</sup> Água + espalhante                              | 13,04±0,28 abc                         | 6,87±2,87c                   | 2,86±0,11 ab                    | 0,68±0,05 a               |
| <sup>4</sup> ( <i>B. bassiana</i> ) Granada <sup>®</sup>    | 13,53±0,07 ab                          | 11,30±4,45 c                 | 2,85±0,09 ab                    | 0,81±0,03 a               |
| <sup>5</sup> ( <i>B. bassiana</i> ) Usina                   | 12,34±0,07 c                           | 17,76±5,73 abc               | 2,95±0,11 ab                    | 0,76±0,04 a               |
| <sup>6</sup> ( <i>M. anisopliae</i> ) Opala <sup>®</sup>    | 13,95±0,04 a                           | 37,85±4,59 a                 | 2,39±0,12 bc                    | 0,66±0,06 a               |
| <sup>7</sup> ( <i>M. anisopliae</i> ) Usina                 | 13,91±0,06 a                           | 26,30±6,89 abc               | 2,13±0,55 c                     | 0,60±0,07 a               |
| <sup>8</sup> ( <i>B. thuringiensis</i> ) Dipel <sup>®</sup> | 12,72±0,14 bc                          | 38,43±6,96 a                 | 2,45±0,24 bc                    | 0,75±0,05 a               |
| <sup>9</sup> (Clorantraniliprole) Altacor <sup>®</sup>      | 11,00±0,72 d                           | 34,31±4,54 ab                | 2,38±0,14 bc                    | 0,73±0,07 a               |
| X <sup>2</sup>                                              | 164,96                                 | -                            | 43,36                           | -                         |
| F                                                           | -                                      | 4,89                         | -                               | 9,72                      |
| DF                                                          | -                                      | 8                            | -                               | -                         |
| GL                                                          | 8                                      | -                            | 8                               | 8                         |
| P                                                           | <0,0001                                | 0,0002                       | <0,0001                         | 0,2852                    |

<sup>1</sup>Letras diferentes indicam diferença entre os tratamentos na coluna (Tukey P < 0,05). <sup>2</sup>Tratamento com água deionizada autoclavada; <sup>3</sup>Tratamento com água deionizada autoclavada acrescida de espalhante Tween<sup>®</sup> 20 (0,01%); <sup>4</sup>*Beauveria bassiana* comercial; <sup>5</sup>*Beauveria bassiana* não comercial; <sup>6</sup>*Metarhizium anisopliae* comercial; <sup>7</sup>*Metarhizium anisopliae* não comercial; <sup>8</sup>*Bacillus thuringiensis* comercial e <sup>9</sup>Clorantraniliprole comercial.

#### 4.4 Efeitos dos produtos nos estágios de ovo, larva e pupa de *Trichogramma galloi*

Quando os ovos de *D. saccharalis* foram tratados dois dias após o parasitismo por *T. galloi* (fase de ovo do parasitoide), verificou-se que a aplicação de *B. bassiana* proveniente da biofábrica causou diminuição no número de ovos parasitados (11,6 ovos parasitados), sendo considerado, segundo a IOBC, como levemente nocivo, assim como os tratamentos à base de *B. bassiana* comercial e de *B. thuringiensis*. Os tratamentos com água e espalhante (22,4), água (21,2) e a testemunha (22,2), além daqueles à base de *M. anisopliae* comercial (25,4) e o proveniente da usina (21,7), apresentaram os maiores números de ovos parasitados (Tabela 4).

Quando os produtos foram aplicados quatro dias após o parasitismo (fase de larva do parasitoide), observou-se um menor número de ovos parasitados nos tratamentos com *B. bassiana* comercial (14,7), *B. thuringiensis* (18,1), Clorraniliprole (17,3) e o tratamento água com espalhante (17,9). *B. bassiana* comercial foi considerado levemente nocivo nesse período. Houve maior número de ovos parasitados nos tratamentos com produtos à base dos fungos *M. anisopliae* (49,6 ovos parasitados para o comercial e o 50,7 ovos parasitados para o proveniente da usina) e *B. bassiana* proveniente da usina (49,9) (Tabela 4).

Quando os produtos foram aplicados seis dias após o parasitismo (fase de pupa do parasitoide), o menor número de ovos parasitados foi verificado nos tratamentos com Clorraniliprole (14,0), com o produto químico e o *B. thuringiensis* considerados levemente nocivos ao parasitoide nesse período. E o maior número de ovos parasitados foi no tratamento com *B. bassiana* comercial, com 30,3 (Tabela 4).

**Tabela 4.** Número de ovos de *Diatraea saccharalis* parasitados por *Trichogramma galloi* nos diferentes tratamentos e fases de desenvolvimento do parasitoide (2, 4 e 6 dias pós-parasitismo).

| Tratamento                                                   | <sup>1</sup> NOP (2 dias) | <sup>2</sup> RP (%) | <sup>3</sup> C | <sup>1</sup> NOP (4 dias) | <sup>2</sup> RP (%) | <sup>3</sup> C | <sup>1</sup> NOP (6 dias) | <sup>2</sup> RP (%) | <sup>3</sup> C |
|--------------------------------------------------------------|---------------------------|---------------------|----------------|---------------------------|---------------------|----------------|---------------------------|---------------------|----------------|
| Testemunha                                                   | 22,2 ± 2,06 a             | -                   | -              | 23,4 ± 1,43 b             | -                   | -              | 24,7 ± 1,27 ab            | -                   | -              |
| <sup>4</sup> Água                                            | 21,2 ± 2,01 a             | 4,50                | 1              | 24,1 ± 1,77 b             | (2,99)              | 1              | 24,1 ± 1,77 ab            | 2,43                | 1              |
| <sup>5</sup> Água + espalhante                               | 22,4 ± 1,19 a             | (0,90)              | 1              | 17,9 ± 1,90 c             | 23,50               | 1              | 23,7 ± 1,91 ab            | 4,05                | 1              |
| <sup>6</sup> ( <i>B. bassiana</i> ) Granada <sup>®</sup>     | 14,7 ± 1,93 bc            | 33,7                | 2              | 14,7 ± 1,91 c             | 37,1                | 2              | 30,3 ± 2,60 a             | (22,61)             | 1              |
| <sup>7</sup> ( <i>B. bassiana</i> ) Usina                    | 11,6 ± 1,93 c             | 47,7                | 2              | 49,9 ± 1,42 a             | (113,3)             | 1              | 18,3 ± 1,82 bcd           | 26,13               | 1              |
| <sup>8</sup> ( <i>M. anisopliae</i> ) Opala <sup>®</sup>     | 25,4 ± 1,72 a             | (14,4)              | 1              | 49,6 ± 0,98 a             | (111,9)             | 1              | 21,9 ± 1,47 bc            | 11,24               | 1              |
| <sup>9</sup> ( <i>M. anisopliae</i> ) Usina                  | 21,7 ± 1,21 a             | 1,94                | 1              | 50,7 ± 1,34 a             | (116,9)             | 1              | 20,7 ± 1,26 bcd           | 16,26               | 1              |
| <sup>10</sup> ( <i>B. thuringiensis</i> ) Dipel <sup>®</sup> | 14,9 ± 1,41 bc            | 32,9                | 2              | 18,1 ± 1,36 c             | 22,8                | 1              | 15,6 ± 1,85 cd            | 37,01               | 2              |
| <sup>11</sup> (Clorantraniliprole) Altacor <sup>®</sup>      | 18,8 ± 1,30 ab            | 15,2                | 1              | 17,3 ± 1,84 c             | 26,0                | 1              | 14,0 ± 1,81 d             | 43,36               | 2              |
| F                                                            | 7,75                      |                     |                | 107,02                    |                     |                | 7,71                      |                     |                |
| GL                                                           | 8                         |                     |                | 8                         |                     |                | 8                         |                     |                |
| P                                                            | <0,0001                   |                     |                | <0,0001                   |                     |                | <0,0001                   |                     |                |

<sup>1</sup>NOP (Número de ovos parasitados) – Letras diferentes indicam diferença entre os tratamentos na coluna (Tukey P < 0,05); <sup>2</sup>RP é o efeito do produto inseticida sobre o parasitismo, comparado ao controle negativo. RP (%) =  $(1 - Pt/Pc) \times 100$ ; Pt é o parasitismo no tratamento e Pc é o parasitismo no controle negativo. Valor entre parênteses caracteriza aumento no parasitismo; <sup>3</sup>Classes da IOBC/WPRS para teste de seletividade sobre *Trichogramma*: 1 = inócuo (<30%), 2 = levemente nocivo (30-79%), 3 = moderadamente nocivo (80-99%), 4 = nocivo (>99%); <sup>4</sup> Tratamento com água deionizada autoclavada; <sup>5</sup> Tratamento com água deionizada autoclavada acrescida de espalhante Tween<sup>®</sup> 20 (0,01%); <sup>6</sup> *Beauveria bassiana* comercial; <sup>7</sup> *Beauveria bassiana* não comercial; <sup>8</sup> *Metarhizium anisopliae* comercial; <sup>9</sup> *Metarhizium anisopliae* não comercial; <sup>10</sup> *Bacillus thuringiensis* comercial e <sup>11</sup> Clorantraniliprole comercial.

O percentual de parasitismo de *T. galloi* aos 2 e 4 dias de desenvolvimento foi menor em ovos tratados com produtos à base de *B. bassiana*— comercial ou não comercial (<25%). Aos 6 dias, o percentual de parasitismo foi menor em ovos tratados com *B. thuringiensis* (30,7%) e Clorantraniliprole (30,1%) (Tabela 5). Adultos do parasitoide podem carregar esporos de fungos aderidos a seu corpo e, por serem difíceis de serem retirados, podem se fixar aos ovos dos hospedeiros no momento do parasitismo e influenciarem no seu desenvolvimento (Sosa-Gómez et al., 1998; Potrich et al., 2020). Nesse estudo não foi avaliado os efeitos nas gerações do parasitoide obtidos dos ovos após aplicação dos tratamentos, porém, é provável que as próximas gerações do parasitoide sejam afetadas por efeitos de longo prazo no comportamento e fisiologia (efeitos transgeracionais) (Desneux et al., 2007).

O maior percentual de parasitismo aos 2 dias de desenvolvimento foi maior para os ovos tratados com *M. anisopliae* comercial (51,8%). Aos 4 dias os tratamentos à base de *M. anisopliae* proveniente da usina e comercial (48,4% e 51,2%, respectivamente) e no tratamento com água (46,7%) apresentaram o maior percentual de parasitismo. Já aos 6 dias de desenvolvimento, o maior percentual de parasitismo foi observado no tratamento com água (49,9%) (Tabela 5).

**Tabela 5.** Porcentagem de parasitismo de ovos de *Diatraea saccharalis* por *Trichogramma galloi* com ovos expostos aos tratamentos nas diferentes fases de desenvolvimento do parasitoide (2, 4 e 6 dias pós-parasitismo).

| Tratamento                                      | <sup>1</sup> Parasitismo (%)<br>(2 dias) | <sup>1</sup> Parasitismo (%)<br>(4 dias) | <sup>1</sup> Parasitismo (%)<br>(6 dias) |
|-------------------------------------------------|------------------------------------------|------------------------------------------|------------------------------------------|
| Testemunha                                      | 43,1 ± 4,33 ab                           | 46,4 ± 2,88 a                            | 48,4 ± 2,76 a                            |
| <sup>2</sup> Água                               | 42,3 ± 4,33 ab                           | 46,7 ± 3,73 a                            | 49,9 ± 4,52 a                            |
| <sup>3</sup> Água + espalhante                  | 43,7 ± 2,36 ab                           | 36,8 ± 4,48 ab                           | 39,1 ± 3,57 abc                          |
| <sup>4</sup> ( <i>B. bassiana</i> ) Granada®    | 30,9 ± 4,22 bc                           | 29,8 ± 4,03 b                            | 33,3 ± 3,39 bc                           |
| <sup>5</sup> ( <i>B. bassiana</i> ) Usina       | 23,0 ± 3,69 c                            | 24,9 ± 4,53 b                            | 37,4 ± 3,92 abc                          |
| <sup>6</sup> ( <i>M. anisopliae</i> ) Opala®    | 51,8 ± 3,92 a                            | 51,2 ± 48,37 a                           | 46,7 ± 3,42 ab                           |
| <sup>7</sup> ( <i>M. anisopliae</i> ) Usina     | 43,7 ± 2,57 ab                           | 48,4 ± 3,96 a                            | 42,9 ± 3,09 abc                          |
| <sup>8</sup> ( <i>B. thuringiensis</i> ) Dipel® | 29,9 ± 3,07 bc                           | 36,7 ± 3,03 ab                           | 30,7 ± 3,50 c                            |
| <sup>9</sup> (Clorantraniliprole) Altacor®      | 35,6 ± 2,63 bc                           | 35,9 ± 3,99 ab                           | 30,1 ± 4,04 c                            |
| F                                               | 6,82                                     | 5,40                                     | 4,02                                     |
| DF                                              | 8                                        | 8                                        | 8                                        |
| P                                               | <0,0001                                  | <0,0001                                  | 0,0003                                   |

<sup>1</sup>Letras diferentes indicam diferença entre os tratamentos na coluna (Tukey P < 0,05); <sup>2</sup>Tratamento com água deionizada autoclavada; <sup>3</sup>Tratamento com água deionizada autoclavada acrescida de espalhante Tween® 20 (0,01%); <sup>4</sup>*Beauveria bassiana* comercial; <sup>5</sup>*Beauveria bassiana* não comercial; <sup>6</sup>*Metarhizium anisopliae* comercial; <sup>7</sup>*Metarhizium anisopliae* não comercial; <sup>8</sup>*Bacillus thuringiensis* comercial e <sup>9</sup>Clorantraniliprole comercial.

A emergência de *T. galloi* em ovos de *D. saccharalis* tratados em diferentes fases imaturas do parasitoide foi menor no segundo dia de desenvolvimento do parasitoide na testemunha (73,6%), diferindo apenas do tratamento de água com espalhante, onde ocorreu a maior porcentagem de parasitismo (92,6%). Todos os tratamentos com produtos químicos e biológicos foram estatisticamente semelhantes, variando de 75,9% (Clorantraniliprole) a 90,1% (*M. anisopliae* comercial). Após 4 e 6 dias, o percentual de emergência foi semelhante em todos os tratamentos, sendo sempre superior a 80% (Tabela 6).

O efeito de diferentes produtos em parasitoides pode ocorrer por diversos fatores, tais como a formulação, a concentração do produto e a metodologia usada na aplicação (Luckmann et al., 2014; Battisti et al., 2020). No campo, a aplicação de produtos químicos nas folhas da cana para controlar lagartas neonatas pode atingir o ovo, o que influenciaria indiretamente no parasitoide. De acordo com Consôli et al. (2001), alguns produtos podem não penetrar o cório do ovo do hospedeiro de *T. galloi*, mas pode ocorrer a ingestão do produto no momento da emergência, quando o adulto começa a romper o cório com sua mandíbula, ingerindo o produto. Mesmo havendo esse comportamento do parasitoide, problemas na emergência não foram observados quando houve aplicação nos ovos do hospedeiro aos 4 ou 6 dias após o parasitismo.

**Tabela 6.** Porcentagem de emergência de *Trichogramma galloi* em ovos de *Diatraea saccharalis* expostos aos tratamentos nas diferentes fases de desenvolvimento do parasitoide (2, 4 e 6 dias pós-parasitismo).

| Tratamento                                                   | <sup>1</sup> Emergência (%)<br>(2 dias) | <sup>2</sup> RE (%) | <sup>3</sup> C | <sup>1</sup> Emergência (%)<br>(4 dias) | <sup>2</sup> RE (%) | <sup>3</sup> C | <sup>1</sup> Emergência (%)<br>(6 dias) | <sup>2</sup> RE (%) | <sup>3</sup> C |
|--------------------------------------------------------------|-----------------------------------------|---------------------|----------------|-----------------------------------------|---------------------|----------------|-----------------------------------------|---------------------|----------------|
| Testemunha                                                   | 73,6 ± 5,24 b                           | -                   | -              | 79,4 ± 3,62 a                           | -                   | -              | 84,2 ± 5,88 a                           | -                   | -              |
| <sup>4</sup> Água                                            | 88,2 ± 5,64 ab                          | (19,84)             | 1              | 85,0 ± 4,00 a                           | (7,05)              | 1              | 82,9 ± 4,18 a                           | 1,54                | 1              |
| <sup>5</sup> Água + espalhante                               | 92,6 ± 1,91 a                           | (25,82)             | 1              | 86,9 ± 3,74 a                           | (9,45)              | 1              | 88,9 ± 2,34 a                           | (5,58)              | 1              |
| <sup>6</sup> ( <i>B. bassiana</i> ) Granada <sup>®</sup>     | 84,9 ± 4,87 ab                          | (15,45)             | 1              | 89,1 ± 2,22 a                           | (16,64)             | 1              | 87,6 ± 1,81 a                           | (3,99)              | 1              |
| <sup>7</sup> ( <i>B. bassiana</i> ) Usina                    | 84,0 ± 5,42 ab                          | (14,11)             | 1              | 86,9 ± 2,67 a                           | (9,51)              | 1              | 81,3 ± 6,06 a                           | 3,43                | 1              |
| <sup>8</sup> ( <i>M. anisopliae</i> ) Opala <sup>®</sup>     | 90,1 ± 2,93 ab                          | (22,36)             | 1              | 88,4 ± 3,14 a                           | (12,03)             | 1              | 89,9 ± 2,66 a                           | (6,80)              | 1              |
| <sup>9</sup> ( <i>M. anisopliae</i> ) Usina                  | 81,2 ± 3,90 ab                          | (4,49)              | 1              | 88,1 ± 1,74 a                           | (10,97)             | 1              | 89,9 ± 1,58 a                           | (6,80)              | 1              |
| <sup>10</sup> ( <i>B. thuringiensis</i> ) Dipel <sup>®</sup> | 83,3 ± 3,98 ab                          | (13,12)             | 1              | 81,3 ± 3,79 a                           | (2,40)              | 1              | 84,3 ± 3,96 a                           | (0,16)              | 1              |
| <sup>11</sup> (Clorantraniliprole) Altacor <sup>®</sup>      | 75,9 ± 3,20 ab                          | (3,13)              | 1              | 83,1 ± 3,26 a                           | (4,72)              | 1              | 83,4 ± 3,28 a                           | (0,90)              | 1              |
| X <sup>2</sup>                                               | 29,39                                   |                     |                | 8,44                                    |                     |                | 6,70                                    |                     |                |
| GL                                                           | 8                                       |                     |                | 8                                       |                     |                | 8                                       |                     |                |
| P                                                            | 0,0042                                  |                     |                | 0,3911                                  |                     |                | 0,5683                                  |                     |                |

<sup>1</sup>Letras diferentes indicam diferença entre os tratamentos na coluna (Tukey P < 0,05); <sup>2</sup>RE é o efeito do produto inseticida sobre a emergência, comparado ao controle negativo. RE (%) =  $(1 - Et/Ec) \times 100$ ; Et é a emergência no tratamento e Ec é a emergência no controle negativo. Valor entre parênteses caracteriza aumento na emergência; <sup>3</sup>Classes da IOBC/WPRS para teste de seletividade sobre *Trichogramma*: 1 = inócuo (<30%), 2 = levemente nocivo (30-79%), 3 = moderadamente nocivo (80-99%), 4 = nocivo (>99%); <sup>4</sup>Tratamento com água deionizada autoclavada; <sup>5</sup>Tratamento com água deionizada autoclavada acrescida de espalhante Tween<sup>®</sup> 20 (0,01%); <sup>6</sup>*Beauveria bassiana* comercial; <sup>7</sup>*Beauveria bassiana* não comercial; <sup>8</sup>*Metarhizium anisopliae* comercial; <sup>9</sup>*Metarhizium anisopliae* não comercial; <sup>10</sup>*Bacillus thuringiensis* comercial e <sup>11</sup>Clorantraniliprole comercial.

De uma maneira geral, os produtos testados diminuíram o período ovo-adulto de *T. galloi*. Quando os ovos parasitados foram submetidos aos tratamentos 2 dias após o parasitismo, o período ovo-adulto variou de 9,9 a 10,1 dias, tendo a testemunha o maior valor (10,8 dias). Aos 4 dias de desenvolvimento do *T. galloi*, os menores períodos foram observados com *M. Anisopliae* comercial (8,1 dias) e *B. bassiana* comercial (7,9 dias), enquanto o maior período foi no tratamento água com espalhante (10,2 dias). Aos 6 dias os menores períodos de ovo-adulto foram observados nos tratamentos com *B. bassiana* não comercial e *B. thuringiensis* (ambos com 5,0 dias), com o maior período (10,4 dias) encontrado no tratamento água com espalhante (Tabela 7).

**Tabela 7.** Período de ovo a adulto de *Trichogramma galloi* em ovos de *Diatraea saccharalis* expostos aos tratamentos nas diferentes fases de desenvolvimento do parasitoide (2, 4 e 6 dias pós-parasitismo).

| Tratamento                                                  | <sup>1</sup> Período ovo-adulto<br>(2 dias) | <sup>1</sup> Período ovo-adulto<br>(4 dias) | <sup>1</sup> Período ovo-adulto<br>(6 dias) |
|-------------------------------------------------------------|---------------------------------------------|---------------------------------------------|---------------------------------------------|
| Testemunha                                                  | 10,8 ± 0,25 a                               | 8,2 ± 0,12 cd                               | 6,4 ± 0,15 c                                |
| <sup>2</sup> Água                                           | 10,6 ± 0,15 ab                              | 8,5 ± 0,14 c                                | 6,7 ± 0,14 b                                |
| <sup>3</sup> Água + espalhante                              | 10,6 ± 0,12 ab                              | 10,2 ± 0,12 a                               | 10,4 ± 0,17 a                               |
| <sup>4</sup> ( <i>B. bassiana</i> ) Granada <sup>®</sup>    | 10,1 ± 0,12 c                               | 7,9 ± 0,09 d                                | 5,8 ± 0,13 d                                |
| <sup>5</sup> ( <i>B. bassiana</i> ) Usina                   | 9,9 ± 0,05 c                                | 9,5 ± 0,16 b                                | 5,0 ± 0,00 e                                |
| <sup>6</sup> ( <i>M. anisopliae</i> ) Opala <sup>®</sup>    | 10,3 ± 0,10 bc                              | 8,1 ± 0,05 d                                | 6,1 ± 0,05 cd                               |
| <sup>7</sup> ( <i>M. anisopliae</i> ) Usina                 | 10,1 ± 0,07 c                               | 9,8 ± 0,12 ab                               | 6,2 ± 0,09 c                                |
| <sup>8</sup> ( <i>B. thuringiensis</i> ) Dipel <sup>®</sup> | 9,9 ± 0,06 c                                | 9,8 ± 0,14 ab                               | 5,0 ± 0,00 e                                |
| <sup>9</sup> (Clorantraniliprole) Altacor <sup>®</sup>      | 9,9 ± 0,07 c                                | 9,9 ± 0,15 ab                               | 6,3 ± 0,10 c                                |
| X <sup>2</sup>                                              | 51,56                                       | 109,43                                      | 104,93                                      |
| GL                                                          | 8                                           | 8                                           | 8                                           |
| P                                                           | <0,0001                                     | <0,0001                                     | <0,0001                                     |

<sup>1</sup>Letras diferentes indicam diferença entre os tratamentos na coluna (Tukey P < 0,05). As médias foram comparadas pelo teste de Tukey (P < 0,05); <sup>2</sup>Tratamento com água deionizada autoclavada; <sup>3</sup>Tratamento com água deionizada autoclavada acrescida de espalhante Tween<sup>®</sup> 20 (0,01%); <sup>4</sup>*Beauveria bassiana* comercial; <sup>5</sup>*Beauveria bassiana* não comercial; <sup>6</sup>*Metarhizium anisopliae* comercial; <sup>7</sup>*Metarhizium anisopliae* não comercial; <sup>8</sup>*Bacillus thuringiensis* comercial e <sup>9</sup>Clorantraniliprole comercial.

A razão sexual de *T. galloi* foi afetada pelos tratamentos, pois na testemunha aos 2 dias após o parasitismo, foi de 0,59, sendo a maior razão encontrada no tratamento de água com espalhante (0,92). Entretanto, aos 4 dias após o parasitismo, os maiores valores foram para Clorantraniliprole (0,89) e o tratamento água com espalhante (0,94), os quais diferiram apenas de *M. anisopliae* produzido pela usina (0,69). Aos 6 dias após o parasitismo a menor a razão sexual ocorreu com *B. bassiana* comercial (0,55), enquanto o maior valor foi para *M. anisopliae*

comercial (0,99), *B. thuringiensis* (0,84) e no tratamento água com espalhante (0,89) (Tabela 8). Os valores da razão sexual obtidos sendo maiores que 0,5 indicam boa qualidade dos insetos utilizados, pois um maior número de machos indicaria condições inadequadas de criação (Prezotti e Parra, 2002).

**Tabela 8.** Razão sexual de *Trichogramma galloi* em ovos de *Diatraea saccharalis* expostos aos tratamentos nas diferentes fases de desenvolvimento do parasitoide (2, 4 e 6 dias pós-parasitismo).

| Tratamento                                                  | <sup>1</sup> Razão sexual<br>(2 dias) | <sup>1</sup> Razão sexual<br>(4 dias) | <sup>1</sup> Razão sexual<br>(6 dias) |
|-------------------------------------------------------------|---------------------------------------|---------------------------------------|---------------------------------------|
| Testemunha                                                  | 0,59 ± 0,12 b                         | 0,71 ± 0,10 ab                        | 0,70 ± 0,12 ab                        |
| <sup>2</sup> Água                                           | 0,83 ± 0,07 ab                        | 0,79 ± 0,09 ab                        | 0,83 ± 0,08 ab                        |
| <sup>3</sup> Água + espalhante                              | 0,92 ± 0,01 a                         | 0,94 ± 0,01 a                         | 0,89 ± 0,01 a                         |
| <sup>4</sup> ( <i>B. bassiana</i> ) Granada <sup>®</sup>    | 0,83 ± 0,05 ab                        | 0,75 ± 0,07 ab                        | 0,55 ± 0,02 b                         |
| <sup>5</sup> ( <i>B. bassiana</i> ) Usina                   | 0,84 ± 0,03 ab                        | 0,78 ± 0,07 ab                        | 0,74 ± 0,08 ab                        |
| <sup>6</sup> ( <i>M. anisopliae</i> ) Opala <sup>®</sup>    | 0,64 ± 0,10 ab                        | 0,74 ± 0,08 ab                        | 0,99 ± 0,00 a                         |
| <sup>7</sup> ( <i>M. anisopliae</i> ) Usina                 | 0,68 ± 0,08 ab                        | 0,69 ± 0,08 b                         | 0,72 ± 0,08 ab                        |
| <sup>8</sup> ( <i>B. thuringiensis</i> ) Dipel <sup>®</sup> | 0,80 ± 0,04 ab                        | 0,81 ± 0,06 ab                        | 0,84 ± 0,06 a                         |
| <sup>9</sup> (Clorraniliprole) Altacor <sup>®</sup>         | 0,87 ± 0,01 ab                        | 0,89 ± 0,01 a                         | 0,83 ± 0,06 ab                        |
| X <sup>2</sup>                                              | 12,32                                 | 20,49                                 | 53,49                                 |
| GL                                                          | 8                                     | 8                                     | 8                                     |
| P                                                           | 0,1374                                | 0,0086                                | <0,0001                               |

<sup>1</sup>Letras diferentes indicam diferença entre os tratamentos na coluna (Tukey P < 0,05); <sup>2</sup>Tratamento com água deionizada autoclavada; <sup>3</sup>Tratamento com água deionizada autoclavada acrescida de espalhante Tween<sup>®</sup> 20 (0,01%); <sup>4</sup>*Beauveria bassiana* comercial; <sup>5</sup>*Beauveria bassiana* não comercial; <sup>6</sup>*Metarhizium anisopliae* comercial; <sup>7</sup>*Metarhizium anisopliae* não comercial; <sup>8</sup>*Bacillus thuringiensis* comercial e <sup>9</sup>Clorraniliprole comercial.

De forma geral, os maiores valores para a longevidade do parasitoide, sem alimentação, com os ovos tratados aos 2, 4 e 6 dias de desenvolvimento foram obtidos nos tratamentos à base de *B. thuringiensis*, *B. bassiana* comercial e Clorraniliprole, sendo eles próximos de 3 dias (Tabela 9).

**Tabela 9.** Longevidade de *Trichogramma galloi* oriundo de ovos de *Diatraea saccharalis* expostos aos tratamentos nas diferentes fases de desenvolvimento do parasitoide (2, 4 e 6 dias pós-parasitismo).

| Tratamento                                                  | <sup>1</sup> Longevidade<br>(2 dias) | <sup>1</sup> Longevidade<br>(4 dias) | <sup>1</sup> Longevidade<br>(6 dias) |
|-------------------------------------------------------------|--------------------------------------|--------------------------------------|--------------------------------------|
| Testemunha                                                  | 2,3 ± 0,12 c                         | 2,5 ± 0,18 abc                       | 2,5 ± 0,18 abc                       |
| <sup>2</sup> Água                                           | 2,4 ± 0,14 bc                        | 2,6 ± 0,21 abc                       | 2,2 ± 0,29 bc                        |
| <sup>3</sup> Água + espalhante                              | 2,1 ± 0,17 c                         | 2,1 ± 0,20 c                         | 2,1 ± 0,20 c                         |
| <sup>4</sup> ( <i>B. bassiana</i> ) Granada <sup>®</sup>    | 2,5 ± 0,16 abc                       | 3,3 ± 0,31 a                         | 3,3 ± 0,31 a                         |
| <sup>5</sup> ( <i>B. bassiana</i> ) Usina                   | 2,7 ± 0,18 abc                       | 2,5 ± 0,21 abc                       | 2,5 ± 0,21 abc                       |
| <sup>6</sup> ( <i>M. anisopliae</i> ) Opala <sup>®</sup>    | 2,5 ± 0,11 abc                       | 2,3 ± 0,28 bc                        | 2,3 ± 0,28 bc                        |
| <sup>7</sup> ( <i>M. anisopliae</i> ) Usina                 | 2,6 ± 0,14 abc                       | 2,8 ± 0,14 abc                       | 2,8 ± 0,14 abc                       |
| <sup>8</sup> ( <i>B. thuringiensis</i> ) Dipel <sup>®</sup> | 3,0 ± 0,14 a                         | 3,3 ± 0,18 a                         | 3,3 ± 0,18 a                         |
| <sup>9</sup> (Clorantiraniliprole) Altacor <sup>®</sup>     | 3,1 ± 0,08 a                         | 3,1 ± 0,14 ab                        | 3,1 ± 0,14 ab                        |
| X <sup>2</sup>                                              | 26,21                                | 29,00                                | 25,84                                |
| GL                                                          | 8                                    | 8                                    | 8                                    |
| P                                                           | <0,0001                              | 0,0003                               | 0,0011                               |

<sup>1</sup>Letras diferentes indicam diferença entre os tratamentos na coluna (Tukey P < 0,05); <sup>2</sup>Tratamento com água deionizada autoclavada; <sup>3</sup>Tratamento com água deionizada autoclavada acrescida de espalhante Tween<sup>®</sup> 20 (0,01%); <sup>4</sup>*Beauveria bassiana* comercial; <sup>5</sup>*Beauveria bassiana* não comercial; <sup>6</sup>*Metarhizium anisopliae* comercial; <sup>7</sup>*Metarhizium anisopliae* não comercial; <sup>8</sup>*Bacillus thuringiensis* comercial e <sup>9</sup>Clorantiraniliprole comercial.

É provável que algum espalhante adesivo, como o presente na formulação do *M. anisopliae* comercial (Opala<sup>®</sup>), pode causar algum efeito, por razões ainda não conhecidas, no comportamento do parasitoide. De acordo com Araujo et al. (2020), bioinseticidas à base de fungos entomopatogênicos carregam em suas formulações substâncias tidas como inertes que podem causar fortes efeitos em espécies de *Trichogramma*.

Os bioinseticidas podem modificar a cor, a forma, o odor ou o comportamento do hospedeiro, o que pode interferir no parasitismo, porém informações indicam que pode haver a utilização conjunta de alguns bioinseticidas e parasitoides de ovos (Amaro et al., 2015). Nesse sentido, Alsaedi et al. (2017) recomendam a associação de inimigos naturais para controle de ovos de lepidópteros, com a ação conjunta de inseticidas químicos, fungos e bactérias entomopatogênicos com parasitoides, sendo interessante e até fundamental para o MIP da broca da cana-de-açúcar, uma vez que na ausência da ação do inimigo natural, o controle da praga é compensado pela químico e vice-versa.

## 6 CONCLUSÕES

O produto à base de *B. thuringiensis* e o químico, Clorantraniliprole, afetam a sobrevivência dos adultos quando expostos aos resíduos secos;

Há efeito residual do produto químico e dos biológicos à base de *B. thuringiensis* e *B. bassiana* no adulto do parasitoide, provocam redução nos percentuais de parasitismo e de emergência de *T. galloi*;

Os bioinseticidas à base de *B. thuringiensis* e *B. bassiana* afetam os estágios imaturos do parasitoide.

## 7 REFERÊNCIAS

- Adang MJ, Crickmore N, Jurat-Fuentes JL (2014) Diversity of *Bacillus thuringiensis* crystal toxins and mechanism of action. **Advances in Insect Physiology** 47:39-87.
- Alsaedi G, Ashouri A, Talaei-Hassanloui R (2017) Assessment of two *Trichogramma* species with *Bacillus thuringiensis* var. *krustaki* for the control of the tomato leafminer *Tuta absoluta* Meyrick (Lepidoptera: Gelechiidae) in Iran. **Open Journal of Ecology** 7:112-124.
- Alves SB (1998) **Controle microbiano de insetos**. Piracicaba: Fealq, 1163 p.
- Amaro JT, Bueno AF, Pomari-Fernandes AF, Neves PMOJ (2015) Selectivity of organic products to *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae). **Neotropical Entomology** 44:489-497.
- Araújo ES, Poltronieri AS, Poitevin CG, Mirás-Avalo JM, Zawadneak MAC, Pimentel IC (2020) Compatibility between entomopatogenic fungi and egg parasitoids (Trichogrammatidae): a laboratory study for their combined use to control *Duponchelia fovealis*. **Insects** 11:630.
- Asma C, Nos I, Sabrine BA, Kaouthar LG (2018) Life-stage-dependent side effects of selected insecticides on *Trichogramma cacoeciae* (Marchal) (Hymenoptera: Trichogrammatidae) under laboratory conditions. **Phytoparasitica** 46:105-113.
- Barbosa APFPL, Gatti Júnior W (2012) Cenários tecnológicos para a demanda por cana de açúcar. **Future Studies Research Journal Trends and Strategies** 27:92-113.
- Barreto MJ (2018) **Novas e velhas formas de degradação do trabalho no agrohidronegócio canavieiro nas regiões administrativas de Presidente Prudente e Ribeirão Preto (SP)**. 377 f. Tese (Doutorado em Geografia) - Universidade Estadual Paulista, Presidente Prudente.
- Battisti L, Warmling JV, Vieira CF, Oliveira DHR, Lima YRA, Potrich M, Bueno AF, Lozano ER (2020) Side effects of organic products on *Telenomus podisi* (Hymenoptera: Platygastridae). **Journal of Economic Entomology** 113:1694-1701.

Beloti VH, Alves GR, Moral RA, Demétrio CGB, Yamamoto PT (2018) The toxicity of fresh and aged residues of pesticides to the parasitoid *Tamarixia radiata* and to the HLB-bacteria vector *Diaphorina citri*. **Neotropical Entomology** 47:403-411.

Ben-Dov E (2014) *Bacillus thuringiensis* subsp. *israelensis* and its dipteran-specific toxins. **Toxins** 6:1222-1243.

Bordonal RO, Carvalho JLN, Lal R, Figueiredo EB, Oliveira BG, La Scala Júnior N (2018) Sustainability of sugarcane production in Brazil. A review. **Agronomy Sustainable Development** 38:13.

Borges Filho RC, Sturza VS, Bernardi D, Cunha US, Pinto AS, Silva DAS, Nava DE (2019) Population dynamics of pests and natural enemies on sugarcane grown in a subtropical region of Brazil. **Florida Entomologist** 102:526-530.

Botelho AAA, Monteiro AC (2011) Sensitivity of entomopathogenic fungi to pesticides used in management of sugarcane. **Bragantia** 70:361-369.

Botelho PSM, Macedo N (2002) *Cotesia flavipes* para controle de *Diatraea saccharalis*. In.: Parra JRP, Botelho PSM, Correa-Ferreira BS, Bento JMS (Eds.) **Controle biológico no Brasil: parasitoides e predadores**. São Paulo: Manole, 409-425.

Botelho PSM, Parra JRP, Chagas Neto JF, Oliveira CPB (1999) Associação do parasitoide de ovos *Trichogramma galloi* Zucchi (Hymenoptera: Trichogrammatidae) e do parasitoide larval *Cotesia flavipes* (Cam.) (Hymenoptera: Braconidae) no controle de *Diatraea saccharalis* (Fabr.) (Lepidoptera: Crambidae) em cana-de-açúcar. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil** 28:491-496.

Box HE (1931). The crambine genera *Diatraea* and *Xanthopherne* (Lep., Pyral.). **Bulletin of Entomological Research** 22:1-50.

Broglio-Micheletti SMF, Santos AJN, Pereira-Barros JL (2006) Ação de alguns produtos fitossanitários para adultos de *Trichogramma galloi* Zucchi, 1988 (Hymenoptera: Trichogrammatidae). **Ciência e Agrotecnologia** 30:1051–1055.

Brugger KE, Cole PG, Newman IC, Parker N, Scholz B, Suvagia P, Walker G, Hammond TG (2010) Selectivity of chlorantraniliprole to parasitoid wasps. **Pest Management Science** 66:1075–1081.

Carson R (1962) **Silent spring**. Boston: Houghton

Carvalho JLN, Nogueiro RC, Menandro LMS, Bordolnal RO, Borges CD, Cantarella F, Franco HCJ (2017) Agronomic and environmental implications of sugarcane straw removal: a major review. **Global Bioenergy** 9:1181-1165.

Castro SGQ, Dinardo-Miranda L, Fracasso JV, Bordonal RO, Menandro LMS, Franco HCJ, Carvalho JLN (2019) Changes in soil pest populations caused by sugarcane straw removal in Brazil. **Bioenergy Research** 12:878-887.

Cícero EAS, Ferraudo AS, Lemos MVF (2009) Identification of cry genes from *Bacillus thuringiensis* effective against *Sphenophorus levis*, the sugarcane borer. **Bragantia** 68:817-823.

CONAB – Companhia Nacional de Abastecimento (2020) **Acompanhamento da safra brasileira de cana-de-açúcar v.7 - Safra 2020/21** - Terceiro levantamento. Brasília: CONAB, 62 p.

Cônsoli FL, Botelho PSM, Parra JRP (2001) Selectivity of insecticides to the egg parasitoid *Trichogramma galloi* Zucchi, (1988) (Hym., Trichogrammatidae). **Journal of Applied Entomology** 125:37-43.

Cônsoli FL, Parra JRP (1996) Biology of *Trichogramma galloi* and *T. pretiosum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) reared in vitro and in vivo. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil** 89:828-834.

Cordova D, Benner EA, Sacher MD, Rauh JJ, Sopa JS, Laham GP, Selby TP, Stevenson TM, Flexener L, Gutteridge S, Rhodes DF, Wu L, Smith RM, Tao Y (2006) Anthranilic diamides: a new class of insecticides with a novel mode of action, ryanodine receptor activation. **Pesticide Biochemistry and Physiology** 84:196-214.

Costa MA, Moscardini VF, Gontijo PC, Carvalho GA, Oliveira RL, Oliveira HN (2014) Sublethal and transgenerational effects of insecticides in developing *Trichogramma galloi* (Hymenoptera: Trichogrammatidae). **Ecotoxicology** 23:1399-1408.

Cristofolletti PT, Kemper EL, Capelia AN, Camargo SR (2018) Development of transgenic sugarcane resistant to sugarcane borer. **Tropical Plant Biology** 11:17-30.

Cruz I (2008) **Manual de identificação de pragas do milho e de seus principais agentes de controle biológico**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 192 p.

Daquila BV, Scudeler EL, Dossi FCA, Moreira DR, Pamphile A, Conte H (2019) Action of *Bacillus thuringiensis* (Bacillales: Bacillaceae) in the midgut of the sugarcane borer *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794) (Lepidoptera: Crambidae). **Ecotoxicology and Environmental Safety** 184:109642.

Desneux N, Decourtye A, Delpuech JM (2007) The sublethal effects of pesticides on beneficial arthropods. **Annual Review of Entomology** 52:81-106.

Desneux N, O'neil RJ, Yoo HJS (2006) Suppression of population growth of the soybean aphid, *Aphis glycines* Matsumura, by predators: the identification of a key predator and the effects of prey dispersion, predator abundance, and temperature. **Environmental Entomology** 35:342-1349.

Dinardo-Miranda LL (2008) Pragas. In.: Dinardo-Miranda LL, Vasconcelos ACM, Landell MGA (Eds.) **Cana-de-açúcar**. Campinas: Instituto Agrônômico. 349-404.

Dinardo-Miranda LL, Fracasso JV (2013) Sugarcane straw and the populations of pests and nematoids. **Scientia Agricola** 70:305-310.

Dinardo-Miranda LL, Fracasso JV, Costa VP, Anjos IA, Lopes DOP (2013) Reação de cultivares de cana-de-açúcar à broca do colmo. **Bragantia** 72:29-34.

DongaTK, Veja FE, Klingen I (2018) Establishment of the fungal entomopathogen *Beauveria bassiana* as an endophyte in sugarcane, *Saccharum officinarum*. **Fungal Ecology** 35:70-77.

Donovan WP, Rugar MJ, Slaney AC, Malvar T, Gawron-Burke MC, Johnson TB (1992) Characterization of two genes encoding *Bacillus thuringiensis* insecticidal crystal proteins toxic to Coleoptera species. **Applied Environment Microbiology** 58:3921-3927.

Duarte M, Marconato G, Specht A, Casagrande MM (2012) Lepidoptera. In: Rafael JA, Melo GAR, Carvalho CJB, Casari AS, Constantino R (Eds.). **Insetos do Brasil: Diversidade e Taxonomia**. Ribeirão Preto: Holos, 625-682.

Estruch JJ, Warren GW, Mullins MA, Nye GJ, Craig JA, Koziel MG (1996) Vip3A, a novel *Bacillus thuringiensis* vegetative insecticidal protein with a wide spectrum of activities against lepidopteran insects. **Proceedings of the National Academy of Sciences** 93:5389-5394.

FAO (2019) **Sugarcane potentials.** Disponível em: <<http://www.fao.org/ag/AGL/agll/gaez/ds/ds.htm>>. Acesso em: 20 dez. 2020.

Fiuza LM, Polanczyk RA, Crickmore N (2017) ***Bacillus thuringiensis* and *Lysinibacillus sphaericus***: characterization and use in the field of biocontrol. New York: Springer. 288 p.

Fontes J, Roja IS, Tavares J, Oliveira L (2018) Lethal and sublethal effects of various pesticides on *Trichogramma achaeae* (Hymenoptera: Trichogrammatidae). **Journal of Economic Entomology** 111:1219-1226.

Freitas AF, Loureiro ES, Almeida MEB, Pessoa LGA (2012) Selection of *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok. (Deuteromycotina: Hyphomycetes) isolates for the control of *Mahanarva fimbriolata* (Stal, 1854) (Hemiptera: Cercopidae) in sugarcane. **Arquivos do Instituto Biológico** 79:247-254.

Gay H (2012) Before and after *Silent Spring*: from chemical pesticides to biological control and integrated pest management – Britain, 1945–1980. **Ambix** 59:88-108.

Geremias LD, Parra JRP (2014) Dispersal of *Trichogramma galloi* in corn for the control of *Diatraea saccharalis*. **Biocontrol Science and Technology** 24:751-762.

Gilio L, Moraes MAFD (2016) Sugarcane industry's socioeconomic impact in São Paulo, Brazil: a spatial dynamic panel approach. **Energy Economics** 58:27-37.

Goettel MS, Inglis GD (1997) Fungi: Hyphomycetes. In.: Lacey LA (Ed.) **Manual of the techniques in insect pathology**. New York: Academic Press. 213-249.

Goulart RM, Volpe HXL, Vacari AM, Thuler RT, De Bortoli SA (2012) Insecticide selectivity to two species of *Trichogramma* in three different hosts, as determined by IOBC/WPRS methodology. **Pest Management Science** 68:240-244.

Groot AT, Dicke M (2003) Insect-resistant transgenic plants in a multitrophic context. **Plant Journal** 31:387-406.

Guo G, Zhang L, Zhou Z, Ma Q, Liu JP, Zhu C, Zhu L, Yu ZN, Sun M (2008) A new group of parasporal inclusions encoded by the S-layer gene of *Bacillus thuringiensis*. **FEMS Microbiology Letters** 282:1-7.

Han P, Becker C, Sentis A, Rostás M, Desneux N, Lavoie A-V (2019) Global change-driven modulation of bottom-up forces and cascading effects on biocontrol services. **Current Opinion in Insect Science** 35:27–33.

Harris-Schultz K, Knoll J, Punnett S, Niland E, Ni X (2020) Evaluation of strains of *Beauveria bassiana* and *Isaria fumosorosea* to control sugarcane aphids on grain sorghum. **Agroecosystems, Geosciences & Environment** 3:e20047.

Heckel DG (2012) Insecticide resistance after *Silent Spring*. **Science** 337:1612-1614.

IRAC- Insect Resistance Action Consortium (2017) IRAC Mode of Action Classification Scheme v. 8.3.

Iwanicki NA, Pereira AA, Botelho ABRZ, Rezende JM, Moral RA, Zucchi MI, Delalibera Júnior I (2019) Monitoring of the field application of *Metarhizium anisopliae* in Brazil revealed high molecular diversity to *Metarhizium* spp. in insects, soil and sugarcane roots. **Scientific Reports** 9:1-12.

James G (2004) **Sugarcane**. Oxford: Blackwell. 216 p.

Jamshidnia A, Abdoli S, Farrokhi S, Sadeghi R (2018) Efficiency of spinosad, *Bacillus thuringiensis* and *Trichogramma brassicae* against the tomato leafminer in greenhouse. **BioControl** 63:619-627.

Khan MA (2019) Integration of selected novel pesticides with *Trichogramma chilonis* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) for management of pests in cotton. **Journal of Agricultural Science and Technology** 21:873-882.

Khan MA, Ruberson JR (2017) Lethal effects of selected novel pesticides on immature stages of *Trichogramma pretiosum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae). **Pest Management Science** 73:2465-2472.

Knutson A (1998) The *Trichogramma* manual. Disponível em: <<http://hdl.handle.net/1969.1/160453>>. Acesso em: 15 jan. 2021.

Kogan M (1998) Integrated pest management: historical perspective and contemporary developments. **Annual Review Entomology** 43:2043-2070.

Ko K, Liu Y, Hou M, Babendreier D, Zhang F, Song K (2015) Toxicity of insecticides targeting rice planthoppers to adult and immature stages of *Trichogramma chilonis* (Hymenoptera: Trichogrammatidae). **Journal of Economic Entomology** 108:69-76.

Ksentini I, Jardak T, Zeghal N (2010) *Bacillus thuringiensis*, deltamethrin, and spinosad side-effects on three *Trichogramma* species. **Bulletin of Insectology** 63:31-37.

Kumar S, Chandra A, Pandey KC (2008) *Bacillus thuringiensis* (Bt) transgenic crop: an environment friendly insect-pest management strategy. **Journal of Environmental Biology** 29:641–653.

Lacey LA, Grzywacz D, Shapiro-Ilan DI, Frutos R, Brownbridge M, Goettel MS (2015) Insect pathogens as biological control agents: back to the future. **Journal of Invertebrate Pathology** 132:1-41.

Laurentis VL, Ramalho DG, Santos NA, Carvalho VFP, Vacari AM, De Bortoli SA, Veneziani RCS, Inácio GC, Dami BG (2019) Performance of *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae) on eggs of *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae). **Scientific Reports** 9:1156.

Leite LG, Tavares FM, Botelho PSM, Batista Filho A, Polanczyk RA, Schmidt FS (2012). Eficiência de nematoides entomopatogênicos e inseticidas químicos contra *Sphenophorus levis* e *Leucothyreus* sp. em cana-de-açúcar. **Pesquisa Agropecuária Tropical** 42:40-48.

Lemes ARN, Figueiredo CS, Sebastião I, Silva LM, Alves RC, Siqueira HAA, Lemos MVF, Fernandes OA, Desidério JA (2017) Cry1Ac and Vip3Aa proteins from *Bacillus thuringiensis* targeting Cry toxin resistance in *Diatraea flavipennella* and *Elasmopalpus lignosellus* from sugarcane. **Peer J** 5:e2866.

Lima Filho M, Lima JOG (2001) Massas de ovos de *Diatraea saccharalis* (Fabr.) (Lepidoptera: Crambidae) em cana-de-açúcar: número de ovos e porcentagem de parasitismo por *Trichogramma* spp. (Hymenoptera: Trichogrammatidae) em condições de campo. **Neotropical Entomology** 30:483-487.

Loureiro ES, Batista Filho A, Almeida JEM, Mendes JM, Pessoa LG (2012) Eficiência de isolados de *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok no controle da cigarrinha-da-raiz da cana-de-açúcar *Mahanarva fimbriolata* (Stal, 1854) (Hemiptera: Cercopidae) em condições de campo. **Arquivos do Instituto Biológico** 79:47-53.

Luckmann D, Gouvea A, Potrich M, Silva ERL, Puretz B, Dallacort S, Gonçalves TE (2014) Seletividade de produtos naturais comerciais a *Trichogramma pretiosum* (Riley, 1879) (Hymenoptera: Trichogrammatidae). **Revista Ceres** 61:924–931.

Macedo N, Macedo D, Campos MBS, Novaretti WRT, Ferraz LCCB (2015) Management of pests and nematodes. In.: Santos F, Borém A, Caldas C (Eds.) **Sugarcane: agricultural production, bioenergy and ethanol**. Amsterdam: Elsevier. 88-113.

MAPA (2020) Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento AGROFIT: Sistema de Agrotóxicos Fitossanitários. MAPA/CGAF/DFIA/DAS, Brasília, Brasil. Disponível em: <[http://www.extranet.agricultura.gov.br/agrofit\\_cons/principal\\_agrofit\\_cons](http://www.extranet.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons)>. Acesso em: 04 jan. 2021.

Marin F, Nassif DSP (2013) Mudanças climáticas e a cana-de-açúcar no Brasil: fisiologia, conjuntura e cenário futuro. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental** 17:232-239.

Marrone PG (2019) Pesticidal natural products—status and future potential. **Pest Management Science** 75:2325-2340.

Marvier M, McCreedy C, Regetz J, Kareiva P (2007) A meta-analysis of effects of *Bt* cotton and maize on nontarget invertebrates. **Science** 316:1475-1477.

Mascarin GM, Jaronski ST (2016) The production and uses of *Beauveria bassiana* as a microbial insecticide. **World Journal of Microbiology and Biotechnology** 32:2-26.

Mascarin GM, Lopes RB, Delalibera Júnior Í, Fernandes ÉKK, Luz C, Faria M (2019) Current status and perspectives of fungal entomopathogens used for microbial control of arthropod pests in Brazil. **Journal of Invertebrate Pathology** 165:46-53.

Matioli TF, Zanardi OZ, Yamamoto PT (2019) Impacts of seven insecticides on *Cotesia flavipes* (Cameron) (Hymenoptera: Braconidae). **Ecotoxicology** 28:1210-1219.

Meyling NV, Eilenberg J (2007) Ecology of the entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* in temperate agroecosystems: potential for conservation biological control. **Biological Control** 43:145-155.

Mills N (2010) Egg parasitoids in biological control and Integrated Pest Management. In.: Cõnsoli FL, Parra JRP, Zucchi RA (Eds.) **Egg parasitoids in agroecosystems with emphasis on *Trichogramma***. NewYork: Springer. 389-411.

Mills NJ, Beers EH, Shearer PW, Unruh TR, Amarasekare KG (2016) Comparative analysis of pesticide effects on natural enemies in western orchards: a synthesis of laboratory bioassay data. **Biological Control** 102:17-25.

Miranda-Fuentes P, Quesada-Moraga E, Aldebis HK, Yousef-Naef M (2020) Compatibility between the endoparasitoid *Hyposoter didymator* and the entomopathogenic fungus *Metarhizium brunneum*: a laboratory simulation for the simultaneous use to control *Spodoptera littoralis*. **Pest Management Science** 76:1060-1070.

Monnerat RG, Melatti V, Praça L, Martins É, Sujii E, Berry C (2010) Selection of *Bacillus thuringiensis* strains toxic against cotton aphid, *Aphis gossypii* Glover (Hemiptera: Aphididae). **Bio Assay** 5:1-4.

Mora MAE, Castilho AMC, Fraga ME (2017) Classification and infection mechanism of entomopathogenic fungi. **Arquivos do Instituto Biológico** 84:e0552015.

Moraes MAFD, Diaz-Chavez RA (2015) Socio-economic impacts of Brazilian sugarcane industry. **Environmental Development** 16:31-43.

Nicolopoulou-Stamati P, Maipas S, Kotampasi C, Stamatis P, Hens L (2016) Chemical pesticides and human health: the urgent need for a new concept in agriculture. **Frontiers in Public Health** 4:148.

Noronha RHF, Oliveira MF, Mendes AL, Damasceno AF, Zerbato C, Furlani CEA (2019) Application of signal correction for *Sphenophorus levis* control and higher quality production in mechanized harvesting of sugarcane ratoon. **Australian Journal of Crop Science** 13:1936-1942.

Oliveira HN, Santana DRS, Bellon PP, Oliveira FC (2014) Influência da idade dos ovos de *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae) no parasitismo de *Trichogramma galloi* (Hymenoptera: Trichogrammatidae). **Interciência** 39:46-48.

Oliveira HN, Rezende Antigo M, Carvalho GA, Glaeser DF, Pereira FF (2013) Seletividade de inseticidas utilizados na cana-de-açúcar a adultos de *Trichogramma galloi* Zucchi (Hymenoptera: Trichogrammatidae). **Bioscience Journal** 29:1267-1274.

Parra JRP (2010) Mass rearing of egg parasitoids for biological control programs. In.: Parra JRP, Zucchi RA (Eds.) **Egg parasitoids in agroecosystems with emphasis on *Trichogramma***. NewYork: Springer. 267-292.

Parra JRP (2011) Controle biológico de pragas no Brasil: histórico, situação atual e perspectivas. **Ciência e Ambiente** 43:7-18.

Parra JRP (2014) Biological control in Brazil: an overview. **Scientia Agricola** 71:420-429.

Parra JRP, Coelho JA (2019) Applied biological control in Brazil: from laboratory assays to field application. **Journal of Insect Science** 19:1-6.

Parra JRP, Zucchi RA (2004) *Trichogramma* in Brasil: feasibility of use after twenty years of research. **Neotropical Entomology** 33:271–281.

Pimentel GV, Tomaz AC, Brasileiro BP, Peternelli LA, Barbosa MHP (2017) Oviposition preference and larval performance of sugarcane borer in eight sugarcane genotypes. **Ciência e Agrotecnologia** 41:439-446.

Pinto AS (2006) O controle biológico de pragas da cana-de-açúcar. In.: Pinto AS (Ed.) **Controle de pragas da cana-de-açúcar**. Sertãozinho: Biocontrol. 9-13.

Pinto AS, Botelho PSM, Oliveira HN (2009) **Guia ilustrado de pragas e insetos benéficos da cana-de-açúcar**. Piracicaba: CP2. 108 p.

Potrich M, Alves LFA, Lozano ER, Bonini AK, Neves PMOJ (2017) Potential side effects of the entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae* on the egg parasitoid *Trichogramma pretiosum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) under controlled conditions. **Journal of Economic Entomology** 110:2318-2324.

Potrich M, Libardoni G, Alves LFA, Pietrowski V, Silva ERL, Neves PMOJ (2020) Is *Isaria fumosorosea* selective to *Trichogramma pretiosum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae)? **European Journal of Entomology** 117:110–117.

Prestes TMV, Pietrowski V, Zanini A, Formentini MA, Alves LFA (2015) Natural occurrence of *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. (Moniliales: Moniliaceae) and pathogenicity on *Protortonia navesi* Fonseca (Hemiptera: Monophlebiidae) in cassava plantation, in Marechal Cândido Rondon, Paraná. **Arquivos do Instituto Biológico** 82:1-4.

Prezotti L, Parra JRP (2002) Controle de qualidade em criações massais de parasitóides e predadores. In: Parra JRP, Botelho PSM, Correa-Ferreira BS, Bento JMS. (Eds.). **Controle biológico no Brasil: parasitóides e predadores**. São Paulo: Manole, 295-311.

Querino RB, Zucchi RA (2003) Caracterização morfológica de dez espécies de *Trichogramma* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) registradas na América do Sul. **Neotropical Entomology** 32:597-613.

Querino RB, Zucchi RA (2005) An illustrated key to the species of *Trichogramma* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) of Brazil. **Zootaxa** 1073:37-60.

Querino RB, Zucchi RA (2012) **Guia de identificação de *Trichogramma* para o Brasil**. Brasília: Embrapa. 103 p.

Rodhe C, Alves LF, Neves PMOJ, Alves SB, Silva ED, Almeida JD (2006) Seleção de isolados de *Beauveria bassiana* (Bals.) Vull. e *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok. contra o cascudinho *Alphitobius diaperinus* (Panzer) (Coleoptera: Tenebrionidae). **Neotropical Entomology** 35:231-240.

Rodriguez-del-Bosque LA, Smith JW, Browning HW (1990) Feeding and pupation sites of *Diatraea lineolata*, *D. saccharalis*, and *Eoreuma loftini* (Lepidoptera: Pyralidae) in relation to corn phenology. **Journal of Economic Entomology** 83:850-855.

Rolim GS, Plata-Rueda A, Martinez C, Ribeiro GT, Serrão JE, Zanuncio JC (2020) Side effects of *Bacillus thuringiensis* on the parasitoid *Palmistichus elaeisis* (Hymenoptera: Eulophidae). **Ecotoxicology and Environmental Safety** 189:109978.

Romeis J, Bartsch D, Bigler F, Candolfi MP, Gielkens MC, Hartley SE, Hellmich RL, Huesing JE, Jepson PC, Layton R, Quemada H, Raybould A, Rose RI, Schiemann J, Sears MK, Shelton AM, Sweet J, Vaituzis Z, Wolt JD (2008) Assessment of risk of insect-resistant transgenic crops to nontarget arthropods. **Nature Biotechnology** 26:203–208.

Rosas-García NM (2006) Laboratory and field tests of spray-dried granular formulations of a *Bacillus thuringiensis* strain with insecticidal activity against the sugarcane borer. **Pest Management Science** 62:855-861.

Rossato Júnior JAS, Costa GHG, Madaleno LL, Mutton MJR, Higley LG, Fernandes AO (2013) Characterization and impact of the sugarcane borer on sugarcane yield and quality. **Agronomy Journal** 105:643-648.

Ruberson JR, Kring TJ (1993) Parasitism of developing eggs by *Trichogramma pretiosum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae): host age preference and suitability. **Biological Control** 3:39-46.

Rudorff BFT, Aguiar DA, Silva WF, Sugawara LM, Adami M, Moreira MA (2010) Studies of the rapid expansion of sugarcane for ethanol production in São Paulo State (Brazil) using landsat data. **Remote Sensing** 2:1057-1076.

Rui L (2018) Microbial biopesticides in agroecosystems. **Agronomy** 8:235 p.

Saber M, Hejazi MJ, Hassan SA (2004) Effects of Azadirachtin/Neemazal on different stages and adult life table parameters of *Trichogramma cacoeciae* (Hymenoptera: Trichogrammatidae). **Journal of Economic Entomology** 97:905-910.

Sajjad A, Ahmad F, Makhdoom AH, Imran A (2012) Does trash burning harm arthropod biodiversity in sugarcane? **International Journal of Agriculture and Biology** 14:1021-1023.

Sandoval SS, Senô KCA (2010) Comportamento e controle de *Diatraea saccharalis* na cultura da cana-de-açúcar. **Nucleus** 7:243-258.

Santiago AD, Rossetto R (2008). **Árvore do conhecimento: cana-de-açúcar**. Brasília: AGEITEC–Agência Embrapa de Informação Tecnológica.

SAS Institute (2002) SAS/STAT User's Guide, version 9.00 TS level 2MO. **SAS Institute Incorporated** Cary, NC: SAS Institute Inc.

Shapiro SS, Wilk MB (1965) An analysis of variance test for normality (complete samples). **Biometrika** 52:591-611.

Silva MF, Funichello M, Souza DM (2020) Performance of insecticides in control of *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae) in sugarcane. **Arquivos do Instituto Biológico** 87:1-6.

Smaniotto LF, Gouvea A, Potrich M, Silva ERL, Silva J, Pegorini CS (2013) Seletividade de produtos alternativos a *Telenomus podisi* Ashmead (Hymenoptera: Scelionidae). **Semina: Ciências Agrárias** 34:3295–3306.

Snedecor GW, Cochran WG (1989) **Statistical methods**. Ames: Iowa State College Press. 503 p.

Sosa-Gomez DR, Boucias DG, Nation JL (1997) Attachment of *Metarhizium anisopliae* to the southern green stink bug *Nezara viridula* cuticle and fungistatic effect of cuticular lipids and aldehydes. **Journal of Invertebrate Pathology** 69:31–39.

Sosa-Gómez DR, Pereira RM, Alves S (1998) Impacto ambiental de entomopatógenos. Distúrbios fisiológicos provocados por entomopatógenos. In.: Alves SB (Ed.) **Controle microbiano de insetos**. Piracicaba: Fealq. 1075–1096.

Souza VC, Lorenzi H (2012) **Botânica sistemática**: guia ilustrado para identificação das famílias de fanerógamas nativas e exóticas no Brasil, baseado em APG III. Nova Odessa: Instituto Plantarum. 768 p.

Stecca CS, Bueno AF, Denez M, Silva DM, Montovani M (2014) Insecticide selectivity for *Doru lineare* (Dermptera: Forficulidae). **Revista Brasileira de Milho e Sorgo** 13:107-115.

Stecca CS, Bueno AF, Pasini A, Silva DM, Andrade K, Zironi Filho DM (2018) Impacts on insecticides used in soybean crops to the egg parasitoid *Telenomus podisi* (Hymenoptera: Platygasteridae). **Neotropical Entomology** 47:281-291.

Sterk G, Hassan SA, Baillod M, Bakker F, Bigler F, Blümel S, Bogenschütz H, Boller E, Bromand B, Brun J, Calis JNM, Coremans-Pelseneer J, Dusco C, Garrido A, Grove A, Heimbach U, Hokkanen H, Jacas J, Lewis G, Moreth L, Polgar L, Rovesti L, Samsoe-Peterson L, Sauphanor B, Schaub L, Stäubli A, Tuset JJ, Vainio A, van de Veire M, Viggiani G, Viñuela E, Vogt H (1999) Results of the seventh joint pesticide testing programme carried out by the IOBC/WPRS-Working Group 'Pesticides and Beneficial Organisms'. **BioControl** 44:99-117.

Strand MR (1986) Physiological interactions of parasitoids and hosts. In.: Waage J, Greathead D (Eds.) **Insect parasitoids**. London: Academic Press.109-118.

Svedese VM, Lima EALA, Porto ALF (2013) Horizontal transmission and effect of the temperature in pathogenicity of *Beauveria bassiana* against *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae). **Brazilian Archives of Biology and Technology** 56:413-419.

Thrubru DP, Firake DM, Behere GT (2016) Assessing risks of pesticides targeting lepidopteran pests in cruciferous ecosystems to eggs parasitoid, *Trichogramma brassicae* (Bezdenko). **Saudi Journal of Biological Sciences** 25:680-688.

Tohnishi M, Nakao H, Furuya T, Seo A, Kodama H, Tsubata K, Fujioka S, Kodama H, Hirooka T, Nishimatsu T (2005) Flubendiamide, a novel insecticide highly active against lepidopterous insect pests. **Journal of Pesticide Science** 30: 354-360.

Tomaz AC, Coutinho AE, Soares BO, Peternelli LA, Pereira EJG, Barbosa MHP (2018) Assessing resistance of sugarcane varieties to sugarcane borer *Diatraea saccharalis* Fab. (Lepidoptera: Crambidae). **Bulletin of Entomological Research** 108:1-9.

Uma S, Jacob S, Lyla KR (2014) Acute contact toxicity of selected conventional and novel insecticides to *Trichogramma japonicum* Ashmead (Hymenoptera: Trichogrammatidae). **Journal of Biopesticides** 7:133–136.

Usman M, Akram N, Imtiaz S, Haider SM (2020) Sugarcane: diseases due to pests, pest management strategies and factors influencing the production of sugarcane. **American Scientific Research Journal for Engineering, Technology, and Sciences** 65:126-139.

Vaez N, Iranipour SH, Hejazi MJ (2020) Effect of *Bacillus thuringiensis* on *Trichogramma brassicae* life history parameters on cotton bollworm eggs. **Journal of Applied Research in Plant Protection** 9:27-45.

Valente ECN, Broglio SMF, Dias-Pini NS, Micheletti LB, Lima AST, Barbosa T (2018) Selectivity of pesticides to egg parasitoid in sugarcane. **Sugar Tech** 20:765-769.

van den Bosch R, Messenger OS, Gutiérrez AP (1982) **An introduction to Biological Control**. New York: Plenum Press. 247 p.

van Lenteren JC (2000) Success in biological control of arthropods by augmentation of natural enemies. In.: Gurr G, Wratten S (Eds.) **Biological Control: measures of success**. Amsterdam: Kluwer. 77–103.

van Lenteren JC, Bolckmans K, Köhl J, Ravensberg WJ, Urbaneja A (2018) Biological control using invertebrates and microorganisms: plenty of new opportunities. **Bio Control** 63:39-59.

Vianna UR, Pratissoli D, Zanuncio JC, Lima ER, Brunner J, Pereira FF, Serrão JE (2009) Insecticide toxicity to *Trichogramma pretiosum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) females and effect on descendant generation. **Ecotoxicology** 18:180-186.

Vinson SB (1997) Comportamento de seleção hospedeira de parasitoides de ovos, com ênfase na família Trichogrammatidae. In.: Parra JRP, Zucchi RA (Eds.) **Trichogramma e o controle biológico plicado**. Piracicaba: Fealq. 67–120.

Vinson SB (2010) Nutritional ecology of insect egg parasitoids. In.: Cònsoli FL, Parra JRP, Zucchi RA (Eds.) **Egg parasitoids in agroecosystems with emphasis on Trichogramma**. New York: Springer. 25-55

Walker GP, Cameron PJ, MacDonald FM, Madhusudhan VV, Wallace AP (2007) Impacts of *Bacillus thuringiensis* toxins on parasitoids (Hymenoptera: Braconidae) of *Spodoptera litura* and *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae). **Biological Control** 40:142-151.

Wiendenmann RN, Smith JW, Darnell PO (1992) Laboratory rearing and biology of the parasite *Cotesia flavipes* (Hymenoptera: Braconidae) using *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Pyralidae) as a host. **Environmental Entomology** 21:1160-1167.

Zambiazzi EV, Guilherme SR, Corassa JDN, Bonaldo SM, Zuffo AM, Soares IO, Oliveira DDCDS (2016) Patogenicidade de *Beauveria bassiana* no controle “in vitro” da lagarta-da-espiga do milho (*Helicoverpa zea*). **Revista de Ciências Agrárias** 39:89-94.

Zhu JS, Lian ML, Wang J, Qin S (2009) Toxicity and safety evaluation of five insecticides on egg parasitoid, *Trichogramma evanescens* Westwood. **Chinese Journal of Eco-Agriculture** 17:715–720.

Zucchi RA, Querino RB, Monteiro RC (2009) Diversity and hosts of *Trichogramma* in the new world, with emphasis in South America. In: Consoli FL, Parra JRP, Zucchi RA (Eds.) **Egg parasitoids in agroecosystems with emphasis on Trichogramma**. New York: Springer. 219-236.

## 8 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A implementação de um manejo integrado de pragas na cultura da cana-de-açúcar baseia-se no conhecimento dos efeitos de produtos usados para controle de *D. saccharalis* como para outros insetos-praga que afetam economicamente a cultura, bem como em seus inimigos naturais. Apesar de ter sido observada mortalidade de adultos e terem sido observados efeitos no desenvolvimento do parasitoide, nenhum dos produtos utilizados nesta pesquisa foi considerado nocivo a *T. galloi*, de acordo com a classificação do IOBC/WPRS. Testes de seletividade baseados nessa classificação descrevem a toxicidade dos produtos ao organismo não alvo, todavia avaliações de efeitos subletais, bem como efeitos em gerações sucessivas do parasitoide devem ser sempre considerados.

A seletividade de produtos e efetividade de *T. galloi* para o controle biológico aplicado de *D. saccharalis*, além de conhecimentos sobre as interações com produtos biológicos e químicos, devem ser utilizados para auxiliar as tomadas de decisão sobre o controle de pragas pelos produtores. As interações desse parasitoide com produtos biológicos e químicos observadas nessa pesquisa são positivas, mas devem depender de outros fatores, como testes laboratoriais, por exemplo, a utilização conjunta de *C. flavipes* e *T. galloi* para controlar *D. saccharalis*, associados com a cana-de-açúcar transgênica (que expressa proteínas *Bt* contra a broca da cana-de-açúcar); como o manejo adotado nas aplicações desses produtos e na metodologia de liberação do parasitoide em campo.

Sugere-se estudos futuros para o estabelecimento das melhores interações a serem usadas no Manejo integrado de pragas, além de estudos de técnicas de liberação baseadas em amostragens atualizados.