



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Campus de Botucatu



JOANINA GLADENUCCI

**SELETIVIDADE DE EXTRATOS BOTÂNICOS A *Trichogramma pretiosum* RILEY,
1879 (HYMENOPTERA: TRICHOGRAMMATIDAE)**

Botucatu

2018

JOANINA GLADENUCCI

**SELETIVIDADE DE EXTRATOS BOTÂNICOS AO PARASITOIDE DE OVOS
Trichogramma pretiosum RILEY, 1879 (HYMENOPTERA:
TRICHOGRAMMATIDAE)**

Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências Agronômicas da Unesp Campus de Botucatu, para obtenção do título de Mestre em Agronomia (Proteção de Plantas)

Orientadora: Profa. Dra. Regiane Cristina Oliveira de Freitas Bueno

Coorientador: Prof. Dr. Filipe Pereira Giardini Bonfim

Botucatu

2018

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉCNICA DE AQUISIÇÃO E TRATAMENTO DA INFORMAÇÃO - DIRETORIA TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - UNESP - FCA - LAGEADO - BOTUCATU (SP)

G542s Gladenucci, Joanina, 1969-
Seletividade de extratos botânicos a *Trichogramma pretiosum* Riley, 1879 (Hymenoptera: Trichogrammatidae)
/ Joanina Gladenucci. - Botucatu: [s.n.], 2018
66 p.: grafs., tabs.

Dissertação (Mestrado)- Universidade Estadual Paulista Faculdade de Ciências Agrônomicas, Botucatu, 2018
Orientador: Regiane Cristina Oliveira de Freitas Bueno
Coorientador: Filipe Pereira Giardini Bonfim
Inclui bibliografia

1. Controle biológico. 2. Parasitoide de ovos. 3. Manejo integrado de pragas. 4. Inseticidas botânicos. I. Bueno, Regiane Cristina Oliveira de Freitas. II. Bonfim, Filipe Pereira Giardini. III. Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" (Câmpus de Botucatu). Faculdade de Ciências Agrônomicas. IV. Título.

Elaborada por Ana Lucia G. Kempinas - CRB-8:7310

"Permitida a cópia total ou parcial deste documento, desde que citada a fonte"

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO: SELETIVIDADE DE EXTRATOS BOTÂNICOS A *Trichogramma pretiosum* RILEY, 1879
(HYMENOPTERA: TRICHOGRAMMATIDAE)

AUTORA: JOANINA GLADENUCCI

ORIENTADORA: REGIANE CRISTINA OLIVEIRA DE FREITAS BUENO

COORIENTADOR: FILIPE PEREIRA GIARDINI BONFIM

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


Profa. Dra. REGIANE CRISTINA OLIVEIRA DE FREITAS BUENO
Dep de Proteção Vegetal / Faculdade de Ciências Agrônômicas de Botucatu


Dr. PAULO CESAR BOGORNI
Pesquisa / Bug Agentes Biológicos


Prof. Dr. EDSON LUIZ LOPES BALDIN
Dep de Proteção Vegetal / Faculdade de Ciências Agrônômicas de Botucatu

Botucatu, 24 de abril de 2018.

Ao meu filho

Claudio Gladenucci Sena,

dedico

AGRADECIMENTOS

A Deus, força invisível que torna o impossível possível, quando deixamos de ser acomodados.

À Faculdade de Ciências Agrônômicas da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Campus de Botucatu-SP, por toda infraestrutura fornecida na realização das etapas de ensino e pesquisa.

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

Aos professores do Programa de Pós-Graduação em Agronomia (Proteção de Plantas) e (Horticultura), pelos ensinamentos e funcionários, pelo suporte durante este período, em especial Nivaldo Antonio Diez, Adriana Oliveira Mariano e Luciana Vicente.

À orientadora Profa. Dra. Regiane Cristina Oliveira de Freitas Bueno, pela minha integração em sua equipe, incentivo, paciência, apoio, oportunidade de amadurecimento profissional e realização deste trabalho, você é um exemplo de profissionalismo.

Ao Prof. Dr. Filipe Pereira Giardini Bonfim pela coorientação, oportunidade concedida ao usar o Laboratório de Plantas Medicinais com liberdade, e seus orientados pela ajuda com os extratos.

A todos integrantes do AGRIMIP - Grupo de Pesquisa em Manejo Integrado de Pragas na Agricultura, pela ajuda na execução e avaliação desta pesquisa e convivência durante os momentos de café e discussões.

Ao mestrando José Carlos de Almeida Pernambuco Filho, amigo de graduação e pós, pela alegria dos risos soltos. À Indiamara Marasca e Reni Saath, pela amizade e exemplo.

Aos meus pais João Gladenucci e Irene Aparecida Martinez Gladenucci, pela Fé. A minha irmã Joanalice Gladenucci de Souza, seu esposo Luciano Donizeti Pereira de Souza e filho João Pedro Gladenucci de Souza, ao meu irmão Irenildo Gladenucci, sua esposa Paula Fabiane Sartori Gladenucci e filhas Angelina Sartori Gladenucci e Cecilia Sartori Gladenucci pelo apoio, confiança e amor presente mesmo distante.

Ao meu filho Claudio Gladenucci Sena, pelas sábias críticas, você me ensinou muito mais do que eu a você, por você que estou aqui e não desisti.

Ao Prof. Dr. Carlos Gilberto Raetano, pelo uso do Laboratório de Tecnologia de Aplicação, seus orientados e estagiários.

A todos que de alguma forma me ajudaram, apoiaram e estiveram presentes durante minha jornada em Botucatu-SP.

Gratidão!!!

“Onde não há obediência, não há virtude. Onde não há virtude, não há bem, não há amor; e onde não há amor, não há Deus; e sem Deus não se chega ao Paraíso. Tudo isso é como uma escada: se faltar um degrau, caímos”.

Padre Pio de Pietrelcina

RESUMO

O parasitoide de ovos, *Trichogramma pretiosum* Riley, 1879 (Hymenoptera: Trichogrammatidae), comumente utilizado no controle biológico de lepidópteros-praga em diversas culturas, como uma das alternativas nos programas de Manejo Integrado de Pragas, ainda entre os métodos alternativos ao químico, existem os inseticidas botânicos, obtidos de plantas com potencial inseticida. Para que essa interação tenha sucesso é necessário analisar a seletividade destes produtos para que não causem efeitos deletérios sobre os inimigos naturais. Sendo assim, foi avaliada a seletividade e efeitos sub-letais de extratos botânicos em pupas e adultos de *T. pretiosum*. O experimento foi conduzido em laboratório com 11 tratamentos: *Rosmarinus officinalis* (alecrim), *Mikania glomerata* (guaco), *Varronia curassavica* (erva baleeira), *Chenopodium ambrosioides* (erva de santa maria), *Vermonia polyanthes* (assapeixe), *Plectranthus amboinicus* (boldo chinês), *Tetradenia riparia* (mirra), *Artemisia absinthium* (losna), *Cymbopogon citratus* (capim limão), água destilada como testemunha negativa e clorpirifós como testemunha positiva, o delineamento foi em blocos casualizados com cinco repetições para seletividade e inteiramente casualizados com vinte repetições para efeitos sub letais. Para a extração, as plantas foram coletadas no período da manhã, em laboratório foram separadas 100 g de cada espécie, imersas em 300 ml de álcool metílico por 24 horas, em tríplex extração, evaporadas no rotavapor e diluídas na proporção 1000 mg para 250mL de água destilada. Seguindo os protocolos padronizados da Organização Internacional para Controle Biológico (IOBC) foram avaliados o parasitismo e a viabilidade (%) e a mortalidade dos parasitoides foram classificados em: classe 1 - inócuo ($E < 30\%$); classe 2 - levemente nocivo ($30 \leq E \leq 79\%$); classe 3 - moderadamente nocivo ($80 \leq E \leq 99\%$); classe 4 - nocivo ($E > 99\%$), e também efeitos sub letais. Na avaliação da seletividade em adultos foi observado redução do parasitismo nos extratos de guaco, erva-de-santa-maria e capim-limão, sendo classificados como levemente inócuos (Classe 2), apresentando também efeitos sub letais. Em fase de pupa, os extratos de guaco, losna e capim-limão apresentaram baixa seletividade, classificados como levemente inócuos (Classe 2), efeitos sub letais foram observados nos tratamentos com os extratos de alecrim e capim-limão. O clorpirifós em ambas as fases foi classificado como moderadamente nocivo (Classe 3), com redução significativa nos efeitos sub letais. Conclui-se que o extrato de capim-limão apresenta baixa seletividade e efeitos sub letais a *T. pretiosum* nas fases de adulto e pupa. Os extratos botânicos de guaco, erva-de-santa-maria mostraram baixa seletividade e também efeitos sub letais em adultos de *T. pretiosum*.

Palavras-chaves: controle biológico, parasitoide de ovos, manejo integrado de pragas, inseticidas botânicos.

ABSTRACT

The parasitoid of eggs, *Trichogramma pretiosum* Riley, 1879 (Hymenoptera: Trichogrammatidae), commonly used in the biological control of lepidoptera-pest in several crops, as one of the alternatives in the programs of Integrated Pest Management, among the alternative methods to the chemical, are botanical insecticides, obtained from plants with insecticidal potential. For this interaction to be successful it is necessary to analyze the selectivity of these products so that they do not cause deleterious effects on the natural enemies. Thus, the selectivity and sublethal effects of botanical extracts in pupae and adults of *T. pretiosum* were evaluated. The experiment was conducted in a laboratory with 11 treatments *Rosmarinus officinalis*, *Mikania glomerata*, *Varronia curassavica*, *Chenopodium ambrosioides*, *Vermonia polyanthes*, *Plectranthus amboinicus*, *Tetradenia riparia*, *Artemisia absinthium*, *Cymbopogon citratus*, distilled water and chlorpyrifos were the controls, randomized blocks with five replicates for selectivity and completely randomized with twenty replicates for sub lethal effect. For the extraction, the plants were collected in the morning and in the laboratory were separated 100 g of each species, immersed in 300 ml of methyl alcohol for 24 hours, in triple extraction, evaporated in the rotavapor and diluted in the proportion 1000 mg to 250 ml of distilled water. Parasitism and viability (%) and parasitoid mortality were classified according to the standard protocols of the International Organization for Biological Control (IOBC), class 1 - innocuous ($E < 30\%$); class 2 - slightly harmful ($30 \leq E \leq 79\%$); class 3 - moderately harmful ($80 \leq E \leq 99\%$); class 4 - harmful ($E > 99\%$), as well as sub-lethal effects. In the evaluation of the selectivity in adults, parasitism reduction was observed in the extracts of *Mikania glomerata*, *Chenopodium ambrosioides* and *Cymbopogon citratus*, being classified as slightly innocuous (Class 2), also presenting sub-lethal effects. In the pupae phase, the extracts of *Mikania glomerata*, *Artemisia absinthium* and *Cymbopogon citratus* presented low selectivity, classified as slightly innocuous (Class 2), sub lethal effects were observed in the treatments with the extracts of *Rosmarinus officinalis* and *Cymbopogon citratus*. Chlorpyrifos in both phases was classified as moderately harmful (Class 3), with a significant reduction in sub lethal effects. It is concluded that the extract of *Cymbopogon citratus* presents low selectivity and sub lethal effects to *T. pretiosum* in the adult and pupae phases. Botanical extracts of *Mikania glomerata*, *Chenopodium ambrosioides* provide low selectivity and also sub-lethal effects in adults of *T. pretiosum*.

Keywords: biological control, egg parasitoid, integrated pest management, botanical insecticides.

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO GERAL.....	17
CAPÍTULO 1 - SELETIVIDADE E EFEITO SUB-LETAL DE EXTRATOS BOTÂNICOS EM ADULTOS DE <i>Trichogramma pretiosum</i> RILEY, 1879 (HYMENOPTERA:TRICHOGRAMMATIDAE).....	19
1.1 INTRODUÇÃO.....	21
1.2.1 Preparo de extratos botânicos.....	22
1.2.2 Manutenção da criação de <i>Trichogramma pretiosum</i>	24
1.2.3 Aplicação dos extratos vegetais nos bioensaios de seletividade.....	24
1.2.4 Preparo das gaiolas para avaliação da seletividade dos extratos vegetais...	24
1.2.5 Seletividade a adultos de <i>T. pretiosum</i>	25
1.2.6 Efeitos sub letais a adultos de <i>T. pretiosum</i>	26
1.2.7 Parâmetros avaliados.....	26
1.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	27
1.3.1 Seletividade a adultos de <i>T. pretiosum</i>	27
1.3.2 Efeitos sub letais dos extratos aquosos em adultos de <i>T. pretiosum</i>	33
REFERÊNCIAS.....	38
CAPÍTULO 2 - SELETIVIDADE DE EXTRATOS BOTÂNICOS AO PARASITOIDE DE OVOS <i>Trichogramma pretiosum</i> RILEY, 1879 (HYMENOPTERA: TRICHOGRAMMATIDAE) EM FASE DE PUPA.....	42
2.1 INTRODUÇÃO.....	44
2.2 MATERIAIS E MÉTODOS.....	45
2.2.1 Preparo dos extratos botânicos.....	47
2.2.2 Manutenção da criação de <i>Trichogramma pretiosum</i>	47
2.2.3 Aplicação dos extratos vegetais nos bioensaios de seletividade.....	47
2.2.4 Preparo das gaiolas para avaliação da seletividade dos extratos vegetais ...	48
2.2.5 Seletividade a pupas de <i>T. pretiosum</i>	48
2.2.6 Efeitos sub letais dos extratos de plantas a pupas de <i>T. pretiosum</i>	49
2.2.7 Parâmetros avaliados.....	49
2.2 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	50
2.3.1 Seletividade a pupas de <i>T. pretiosum</i>	50
2.3.2 Efeitos sub letais dos extratos a pupas de <i>T. pretiosum</i>	56
REFERÊNCIAS.....	61
CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	64

REFERÊNCIAS65

INTRODUÇÃO GERAL

O Manejo Integrado de Pragas (MIP) é um conjunto de práticas utilizadas na supressão de pragas em diferentes culturas, com o intuito primordial de preservar a sustentabilidade do agroecossistema, buscando o equilíbrio biológico (BORTOLOTTO et al., 2015). Uma opção é o uso de inseticidas botânicos, alternativa bastante promissora no controle de insetos-praga, e que se enquadra nos preceitos do MIP.

No entanto, esses compostos podem apresentar ação tóxica a inimigos naturais e nem sempre serem seletivos. Podem servir como atrativos ou repelentes, estimular ou inibir a alimentação e a reprodutividade e até mesmo pode provocar vôos ou inibi-los, causando mortalidade direta e efeitos sub letais nas próximas gerações. Esta ação depende da concentração do princípio ativo da planta utilizada e do estágio de desenvolvimento do inseto benéfico (SINGH et al., 2018). Por vezes, a seletividade de produtos naturais é muito próxima aos inseticidas orgânicos sintéticos (BAHLAI et al., 2010).

O termo seletividade é o potencial do produto em controlar o inseto praga e ter mínima influência sobre a atividade da entomofauna benéfica (FOERSTER, 2002). A seletividade pode ser fisiológica e/ou ecológica. A seletividade fisiológica apresenta maior atividade à praga que sobre ao inimigo natural, quando ambos são expostos diretamente a produtos fitossanitários, (RIPPER et al., 1951). A seletividade ecológica consiste no controle de insetos-praga e menor exposição aos inimigos naturais, com aplicações diferentes no espaço e tempo de acordo com o comportamento e habitat, portanto é necessário o conhecimento amplo dos aspectos bioecológicos das pragas e dos indivíduos benéficos (DEGRANDE, 1996),

Com o intuito de padronizar pesquisas de seletividade, em 1974 foi criado pela Organização Internacional para o Controle Biológico (IOBC), padrões metodológicos de laboratório, semi-campo e campo para testes de efeitos secundários a produtos fitossanitários em organismos benéficos.

Nas avaliações de seletividade a inseticidas, o parasitoide de ovos, o gênero *Trichogramma* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) é o mais utilizado, pela facilidade de criação, agressividade no controle de lepidópteros-praga e uso amplo na agricultura, (PARRA; ZUCCHI, 2004; SIQUEIRA et al., 2012). No Brasil, 26 espécies de *Trichogramma* são descritas, sendo as mais utilizadas são *Trichogramma galloi* Zucchi, 1988 (Hymenoptera: Trichogrammatidae) e *T. pretiosum*

(PARRA et al. 2014). São microhimenópteros, holometabólicos com tamanho variando de 0,2 a 1,5 mm de comprimento, sendo exclusivamente parasitoides, com desenvolvimento embrionário e larval no interior do ovo hospedeiro (AYVAZ et al., 2008; GAUER et al., 2014). Com o desenvolvimento dos ovos parasitados se tornam mais escuro devido ao acúmulo de sais de urato na região abdominal, com ciclo total de desenvolvimento em média de dez dias (CÔNSOLI et al., 1999). A longevidade média é influenciada inversamente pela temperatura, à 18°C, sobrevivem por 17,75 dias, em 32°C, a longevidade foi de 4,0 dias (BUENO et al., 2012).

Os parasitóides em geral, são agentes de controle biológico, podendo servir como um substituto aos produtos químicos (KUMAR et al., 2011) e também como aliado a estes. Assim, pesquisas resultam na descoberta de novos inseticidas que atuam sítios bioquímicos seletivos, sem causar danos aos inimigos naturais contribuindo para o sucesso do MIP.

Assim objetivou-se avaliar a seletividade de extratos botânicos de plantas medicinais e os efeitos subletais em adultos e pupas de *T. pretiosum* em condições de laboratório.

CAPÍTULO 1

SELETIVIDADE E EFEITO SUB-LETAL DE EXTRATOS BOTÂNICOS SOBRE ADULTOS DE *Trichogramma pretiosum* RILEY, 1879 (HYMENOPTERA: TRICHOGRAMMATIDAE)

RESUMO

Extratos de plantas com ação inseticidas são comumente usados no Manejo Integrado de Pragas (MIP), no entanto podem apresentar ação tóxica entre os inimigos naturais, para que essa interação tenha sucesso se faz necessária a avaliação destes produtos para que não ocorram efeitos negativos na entomofauna benéfica. Sendo assim, o objetivo foi avaliar a seletividade e efeitos sub letais sobre adultos de *T. pretiosum* a extratos botânicos. O experimento foi conduzido em laboratório com 11 tratamentos *Rosmarinus officinalis* (alecrim), *Mikania glomerata* (guaco), *Varronia curassavica* (erva-baleeira), *Chenopodium ambrosioides* (erva-de-santa-maria), *Vermonia polyanthes* (assa-peixe), *Plectranthus amboinicus* (boldo-chinês), *Tetradenia riparia* (mirra), *Artemisia absinthium* (losna), *Cymbopogon citratus* (capim-limão), água destilada e clorpirifós foram testemunhas, o delineamento foi em blocos casualizados com cinco repetições para seletividade e inteiramente casualizados com vinte repetições para efeitos sub letais, seguindo os protocolos padronizados da Organização Internacional para o Controle Biológico (IOBC). Para a extração as plantas foram coletadas no período da manhã, em laboratório foram separadas 100 g de cada espécie e imersas em 300 mL de álcool metílico por 24 horas, em tríplex extração, o solvente foi evaporado em rotavapor e o extrato bruto foi diluído na proporção 1000 mg para 250mL de água destilada, e pulverizados em superfície de vidro para que os adultos de *T. pretiosum* entrassem em contato com os tratamentos, para o efeito sub letal os ovos ofertados ao parasitismo foram pulverizados com os devidos tratamentos. Foi avaliado o parasitismo, a viabilidade (%) e a mortalidade dos parasitoides foram classificados em: classe 1 - inócuo ($E < 30\%$); classe 2 - levemente nocivo ($30 \leq E \leq 79\%$); classe 3 - moderadamente nocivo ($80 \leq E \leq 99\%$); classe 4 - nocivo ($E > 99\%$) e também os efeitos sub letais. Para seletividade os extratos de guaco, erva-de-santa-maria, assa-peixe, boldo-chinês, losna e capim-limão foram levemente nocivos (classe 2), a testemunha positiva (clorpirifós) foi classificado como moderadamente nocivo (classe 3). Na avaliação dos efeitos sub letais os extratos de erva-de-santa-maria e capim-limão teve redução no número de ovos parasitados inicialmente, redução no número total de ovos parasitados e menor longevidade das fêmeas, assim como a testemunha positiva (clorpirifós). Conclui-se que os extratos de erva-de-santa-maria e capim-limão possuem baixa seletividade e apresentam efeitos sub letais no desempenho de adultos de *T. pretiosum*.

PALAVRAS-CHAVE: controle biológico, parasitoide de ovos, manejo integrado de pragas, inseticidas botânicos.

ABSTRACT

Plant extracts with action insecticides are commonly used in Integrated Pest Management (IPM), however they may present toxic action among natural enemies, so that this interaction is successful if it is necessary to evaluate these products so that no negative effects occur in the entomofauna beneficial. Thus, the objective was to evaluate the selectivity and sub lethal effects on *T. pretiosum* adults to botanical extracts. The experiment was conducted in a laboratory with 11 treatments *Rosmarinus officinalis*, *Mikania glomerata*, *Varronia curassavica*, *Chenopodium ambrosioides*, *Vermonia polyanthes*, *Plectranthus amboinicus*, *Tetradenia riparia*, *Artemisia absinthium*, *Cymbopogon citratus*, distilled water and chlorpyrifos were all randomized blocks with five replications for selectivity and completely randomized to twenty repetitions for sub-lethal effects, following the standard protocols of the International Organization for Biological Control (IOBC). For the extraction the plants were collected in the morning, in laboratory were separated 100 g of each species and immersed in 300 mL of methyl alcohol for 24 hours, in triple extraction, the solvent was evaporated in the rotavapor and the crude extract was diluted in the 1000 mg to 250 ml of distilled water, and sprayed on a glass surface so that the adults of *T. pretiosum* came in contact with the treatments, for the sub lethal effect the eggs offered to the parasitism were sprayed with the appropriate treatments. Parasitism was evaluated and viability (%) and mortality of parasitoids were classified as: class 1 - innocuous ($E < 30\%$); class 2 - slightly harmful ($30 \leq E \leq 79\%$); class 3 - moderately harmful ($80 \leq E \leq 99\%$); class 4 - harmful ($E > 99\%$) and also sub-lethal effects. For selectivity, the extracts of *Mikania glomerat*, *Chenopodium ambrosioides*, *Vermonia polyanthes* and *Cymbopogon citratus* were slightly harmful (class 2), the positive control (chlorpyrifos) was classified as moderately harmful (class 3). In the evaluation of the sub-lethal effects, the aqueous extracts of *Chenopodium ambrosioides*, *Plectranthus amboinicus*, *Artemisia absinthium* and *Cymbopogon citratus* had a reduction in the number of eggs initially parasitized a reduction in the total number of parasitized eggs and in the longevity of the females, as well as the positive control (chlorpyrifos). It is concluded that the extracts of *Chenopodium ambrosioides* and *Cymbopogon citratus* have low selectivity and have subliterate effects on the performance of *T. pretiosum* adults.

Keywords: biological control, egg parasitoid, integrated pest management, botanical insecticides.

1.1 INTRODUÇÃO

Extratos botânicos são produtos naturais usados no controle de insetos-praga na agricultura. Intensamente utilizados entre as décadas de 30 a 50, foram substituídos por inseticidas sintéticos no controle de pragas de importância agrícola e médica (MACHADO et al., 2007; MARTINEZ, 2011). Esses produtos podem ser derivados de raízes, folhas, frutos ou sementes e obtidos através de destilação ou extração, diluídos em água ou solventes orgânicos (AGUIAR- MENEZES, 2005). Destes compostos são obtidas inúmeras substâncias químicas sintetizadas no metabolismo secundário das plantas, que podem ser utilizadas como inseticidas, possibilitando a expansão de produtos agroecológicos (SILVA et al., 2017).

O uso de extratos de origem vegetal se enquadra nos preceitos dos programas de Manejo Integrado de Pragas (MIP), geralmente estabelecido para fomentar um sistema agrícola que favoreça a sustentabilidade ambiental e a biodiversidade no agroecossistema. O MIP é projetado para controlar pragas de culturas usando processos naturais e reduzindo o uso de produtos fitossanitários (SIMONATO et al. 2014).

No entanto, a utilização de extratos vegetais no MIP somente é viável se estes produtos forem seletivos aos inimigos naturais. Muitas espécies de inimigos naturais são utilizadas comercialmente (VAN LENTEREN, 2012), sendo o *Trichogramma pretiosum* Riley, 1879 (Hymenoptera: Trichogrammatidae) o parasitoides de ovos mais utilizados, pela facilidade de criação massal em hospedeiros alternativos, o que contruibui para o grande uso na agricultura (PARRA et al., 2015). Esse parasitoide é o inseto recomendado para avaliações de seletividade dos protocolos padronizados pela Organização Internacional para o Controle Biológico (IOBC).

Uma gama de efeitos nocivos de inseticidas em *Trichogramma* spp. foram descritos por diferentes trabalhos (DESNEUX et al, 2007; VIANA et al 2009). Os inseticidas podem afetar a eficácia dos inimigos naturais, seja causando mortalidade direta ou influenciando sua reprodução, comportamento, forrageamento e movimento em busca do hospedeiro (JOHNSON et al, 2018).

Existe grande variedade de estudos com espécies de *Trichogramma* spp. No entanto, os efeitos de extratos botânicos em *T. pretiosum* são limitados, sendo esta toxicidade essencial, onde os agricultores poderiam usar o extrato bruto no controle

de pragas e conveniente para pesquisadores na formulação de novos inseticidas. O neem, *Azadirachta indica*, A. Juss (Sapindales: Meliaceae) é a planta com mais estudos do efeito de inseticidas botânicos (MARTINEZ, 2011; RAMPELOTTI-FERREIRA et al, 2017).

Nesse contexto, o objetivo deste trabalho foi avaliar a seletividade e efeitos sub letais de extratos de plantas medicinais sobre adultos de *T. pretiosum*.

1.2 MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram conduzidos no laboratório do Grupo de Pesquisa em Manejo Integrado de Pragas na Agricultura (AGRIMIP), Tecnologia de Aplicação, do Departamento de Proteção Vegetal e Laboratório de Plantas Medicinais do Departamento de Horticultura da FCA/UNESP - Faculdade de Ciências Agrônomicas, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" - Campus de Botucatu.

O delineamento experimental para seletividade foi em blocos casualizado com 11 tratamentos e cinco repetições e na avaliação dos efeitos sub letais foi utilizado delineamento inteiramente casualizado com os 11 tratamentos e 20 repetições. Os tratamentos consistiram em aplicações de diferentes extratos botânicos (Tabela 1).

1.2.1 Preparo de extratos botânicos

Os extratos foram preparados no Laboratório de Plantas Medicinais do Departamento de Horticultura da UNESP - Faculdade de Ciências Agrônomicas, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" - FCA/UNESP, Campus de Botucatu. As plantas foram colhidas no horto medicinal, situado a 22°51'S e 48°26'O, a 786 m de altitude, no período da manhã. Este material foi colhido de plantas sem que apresentassem danos visíveis causados por insetos, em laboratório foram separadas 100 g de folhas frescas de cada espécie, as quais foram imersas em 300 mL de álcool metílico por 24, 48 e 72 horas, em tríplice extração. Posteriormente, o solvente foi evaporado em evaporador rotativo e o extrato bruto foi diluído em água na proporção 1000 mg para 250 mL de água destilada, conservados em recipiente de vidro coloração âmbar. Estas plantas foram selecionadas com base em trabalho anterior, onde foi avaliada a ação inseticida sobre a biologia de *Spodoptera frugiperda* J. E. Smith, 1797 (Lepidoptera : Noctuidae).

Tabela 1 – Tratamentos e extratos avaliados na seletividade de extratos botânicos em adultos de *Trichogramma pretiosum*.

NOME COMUM	NOME CIENTÍFICO	FAMÍLIA	COMPOSTOS SECUNDÁRIOS
Alecrim	<i>Rosmarinus officinalis</i> L.	Lamiaceae	Cineol (MATOS, 2002)
Guaco	<i>Mikania glomerata</i> Spreng.	Asteraceae	Cumarina (MATOS, 2002)
Erva-baleeira	<i>Varronia curassavica</i> Jacq.	Boraginaceae	Artemetina (SERTIÉ, 1990)
Erva-sta-maria	<i>Chenopodium ambrosioides</i> L.	Chenopodiaceae	Ascaridol (SOUSA, 1991)
Assa-peixe	<i>Vermonia polyanthes</i> Spreng.	Asteraceae	Alcaloides (PANIZZA, 1998)
Boldo-chinês	<i>Plectranthus amboinicus</i> Spreng.	Lamiaceae	Timol (VASQUEZ, 1998)
Mirra	<i>Tetradenia riparia</i> Codd.	Lamiaceae	Alfa-pironas (PUYVELDE, 1986)
Losna	<i>Artemisia absinthium</i> L.	Asteraceae	Absintina (SOUSA, 1991)
Capim-limão	<i>Cymbopogon citratus</i> Stapf.	Poaceae	Citral (SOUSA, 1991)
Testemunha negativa	Água destilada		
Testemunha positiva	Clorpirifós		

1.2.2 Manutenção da criação de *Trichogramma pretiosum*

Para a multiplicação de *T. pretiosum* foram usados ovos frescos de *Anagasta kuehniella* Zeller, 1879 (Lepidoptera: Pyralidae). Os ovos de *A. kuehniella* foram aderidos em papel couchê por meio de fita adesiva dupla face transparente e acondicionada em recipientes plásticos de 4 litros. Na parede interna foi colocada pequenos filetes de mel puro para a alimentação dos parasitoides; a borda foi selada com filme plástico de PVC e reforçada com pulseiras elásticas. Após a emergência foram ofertadas cartelas com ovos frescos de *A. kuheniella* para o parasitismo durante 24 horas. Transcorrido esse período as cartelas recém-parasitadas foram individualizadas em novos recipientes, até a emergência dos indivíduos, iniciando-se assim um novo ciclo na criação. A criação de *T. pretiosum* foi mantida em condições controladas de temperatura ($25\pm 2^{\circ}\text{C}$), umidade relativa ($70\pm 10\%$) e fotofase (14 horas).

1.2.3 Aplicação dos extratos vegetais nos bioensaios de seletividade

As pulverizações foram realizadas no Laboratório de Tecnologia de Aplicação, do Departamento de Proteção Vegetal da FCA/UNESP - Faculdade de Ciências Agrônomicas, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" - Campus de Botucatu. Para os testes de seletividade, a aplicação dos tratamentos (Tabela1) foi realizada em Torre de Potter® pre-calibrada para aplicação de 250 L ha^{-1} com pressão variando de 5 a 7 psi e deposição de $1,75 \pm 0,25 \text{ mg cm}^2$, aferido mediante balança eletrônica de precisão, seguindo as normas padronizadas pela IOBC. A calda foi pulverizada com auxílio de uma bomba do modelo EL 504 da marca Eletrolab. Para a pulverização, foi separado o volume de 1,13 mL para cada tratamento e colocado em tubos do tipo Eppendorf® e pulverizado sobre o alvo.

1.2.4 Preparo das gaiolas para avaliação da seletividade dos extratos vegetais

As gaiolas utilizadas para os testes de seletividade foram preconizadas pela IOBC. Cada gaiola foi confeccionada em armação de alumínio apresentando 13 cm de largura, 13 cm de comprimento, 2 cm de altura e 1 cm de espessura, justapostas por parafusos. Em três lados da gaiola, existe 6 orifícios de 1 cm de diâmetro para ventilação e vedados internamente com tecido preto, garantindo o aprisionamento

dos parasitoides nas gaiolas e as trocas gasosas com meio externo (HASSAN et al., 2000). No quarto lado da gaiola, encontra-se uma abertura de 3,5 cm de largura x 1 cm de altura para introdução de cartelas com ovos do hospedeiro alternativo e um outro orifício de 1 cm de diâmetro, para liberação dos parasitoides nas gaiolas. Essas aberturas foram fechadas com cartolina preta e fita adesiva, sendo abertas somente no momento da introdução das cartelas ou dos parasitoides. As partes superior e inferior da gaiola, são vedadas com placas de vidro e 2 mm de espessura e presas com pulseiras elásticas. A fim de evitar o contato direto das superfícies de vidro com a armação de alumínio, delimitou-se externamente a armação, com espuma adesiva anti-ruído. Para evitar possíveis acúmulos de vapores tóxicos dos tratamentos dentro das gaiolas de seletividade, as mesmas foram interligadas por um sistema de mangueiras de silicone a uma bomba de vácuo, de modo que todo o ar das gaiolas fosse removido por sucção.

1.2.5 Seletividade sobre adultos de *T. pretiosum*

Para os testes de seletividade aos extratos botânicos sobre a fase adulta de *T. pretiosum*, foram separados 1,5 cm² (\pm 600 ovos) de cartelas com ovos parasitados (parasitismo médio de 80% e razão sexual de 60%) em tubos de Duran® que possuem 1 cm de diâmetro 7,5 cm de comprimento com fundo arredondado, para a emergência e obtenção de uma média de 200 indivíduos fêmeas por gaiola (HASSAN et al., 2000), vedados com filme plástico PVC e disposto um pequeno filete de mel para alimentação dos parasitoides (HASSAN; ABDELGADER, 2001). Após a emergência, os tubos foram envolvidos por papel alumínio e conectados as gaiolas para colonizá-la, os indivíduos com até 24 horas de idade foram expostos aos tratamentos em placas de vidro. As placas de vidro superiores e inferiores receberam aplicação dos tratamentos e as gaiolas foram montadas fim de expor os indivíduos às partes contaminadas. As bordas exteriores foram cobertas com placas de cartão preto, com uma porção central de 7 x 7 cm livre, para impedir que os parasitoides permaneçam em algum dos lados, estabelecendo uma área útil de contato dos insetos para os resíduos de pulverização. Após a emergência dos parasitoides e a colonização do interior das gaiolas, foram ofertadas, no período de 24, 48 e 72 horas, cartões com 6,25 cm² de ovos frescos de *A. kuehniella* para o parasitismo. No quarto dia após a emergência dos parasitoides (96 horas), as gaiolas foram desmontadas e as cartelas oferecidas

coletadas e individualizadas por data e tratamento em sacos plásticos 4,0 cm x 23 cm.

1.2.6 Efeitos sub letais a adultos de *T. pretiosum*

Neste ensaio, foram separadas 5 cartelas de 6,25 cm² (\pm 600 ovos) com ovos parasitados, por tratamento e colocadas em tubos de fundo chato, vedado com filme plástico PVC, após a emergência, as fêmeas *T. pretiosum*, foram separadas com base em estrutura de antena (QUERINO; ZUCCHI, 2011), em tubo de Duran®, totalizando 20 fêmeas (repetições) por tratamento e alimentadas com uma gotícula de mel. Foram ofertados cartões de 0,25 cm² de ovos frescos (\pm 180 ovos) de *A. kuehniella* diariamente, pulverizados com os tratamentos, em Torre de Potter®, durante o período em que as fêmeas sobreviveram, as cartelas com 24 horas de exposição ao parasitismo foram etiquetadas e armazenadas em sacos plásticos 4,0 cm x 23 cm para posterior avaliação.

1.2.7 Análise estatística

Para seletividade foi avaliado o parasitismo (P) através da equação $P = \text{número de ovos parasitados} / \text{número de ovos ofertados} \times 100$; a viabilidade (V) foi determinada por meio da equação $V = \text{número de ovos com orifício} / \text{número de ovos parasitados} \times 100$, os resultados foram submetidos a análise de variância (ANOVA) e as médias comparadas por teste de Tukey a 5% de significância por meio do programa SISVAR 5.6.

A redução do parasitismo e viabilidade do parasitoide em relação ao tratamento com água destilada correspondente a testemunha negativa, foi avaliado por meio da seguinte equação: $E (\%) = (1 - (\text{porcentagem média geral do tratamento} / \text{porcentagem média geral do tratamento testemunha})) \times 100$, Onde: E (%) é a porcentagem de redução da capacidade benéfica do parasitoide (MANZONI et al., 2006; STERK et al., 1999). Assim os produtos foram classificados em função da média de redução de acordo com as normas da IOBC em: classe 1 - inócuo ($E < 30\%$); classe 2 - levemente nocivo ($30 \leq E \leq 79\%$); classe 3 - moderadamente nocivo ($80 \leq E \leq 99\%$); classe 4 - nocivo ($E > 99\%$) (HASSAN, 1992).

Na avaliação dos efeitos sub letais foram analisados o número total de ovos parasitados e a longevidade dos parasitoides, sendo que o efeito sub letal dos

produtos pode afetar a fisiologia do inseto e interferir nos parâmetros avaliados (DESNEUX et al., 2007). Os resultados foram submetidos a análise de variância (ANOVA) e as médias comparadas por teste de Tukey a 5% de significância através do programa SISVAR 5.6.

1.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

1.3.1 Seletividade a adultos de *T. pretiosum*

As maiores taxas de parasitismo ocorreram no primeiro dia após a emergência, em que os adultos de *T. pretiosum* entraram em contato com as superfícies pulverizadas, sendo que os tratamentos com extrato de alecrim, erva-baleeira e mirra proporcionaram menor alteração no parasitismo quando comparado com a testemunha negativa (água destilada), classificados como inócuo (Classe 1). Os extratos guaco, erva-de-santa-maria, assa-peixe, boldo-chinês, losna e capim-limão ocasionaram alteração no parasitismo, sendo classificados como levemente nocivo (classe 2), no entanto, o extrato de capim-limão apresentou maior modificação no parasitismo, com valor na redução do parasitismo de 76,44 %, próxima a classificação moderadamente nociva (classe 3). A testemunha positiva (clorpirifós) proporcionou o menor parasitismo e foi classificado como moderadamente nocivo (classe 3) (Tabela 2).

No segundo dia após a emergência os extratos de erva-baleeira, boldo-chinês, mirra, losna não diferiram da capacidade e da redução do parasitismo da testemunha negativa (água), sendo classificados como inócuo (classe 1). Os extratos de alecrim, guaco, erva-de-santa-maria e assa-peixe apresentou redução no parasitismo e foram classificados como levemente nocivo (classe 2) assim como o extrato de capim-limão, com menor proporção de parasitismo dentre os extratos e maior redução do parasitismo. A testemunha negativa (clorpirifós) teve maior redução no parasitismo e foi classificado como moderadamente nocivos (classe 3) (Tabela 2).

No terceiro dia após a emergência os tratamentos com extratos de alecrim, erva-baleeira, boldo-chinês, mirra e losna não diferiram da testemunha negativa (água) sendo classificados como inócuos (classe 1). Os extratos de guaco, erva-de-santa-maria e assa-peixe foram classificados como levemente nocivo (classe 2), do mesmo modo que o tratamento com extrato de capim-limão, que apresentou maior

redução no parasitismo e também no parasitismo. Na testemunha positiva (clorpirifós) ocorreram maiores reduções no parasitismo e foi classificado como levemente nocivo (classe 2) (Tabela 2).

De modo geral, os tratamentos com extratos de guaco e erva-de-santa-maria assa-peixe, boldo-chinês, Losna e capim-limão foram classificados como levemente nocivo (classe 2) com redução no parasitismo para adultos de *T. pretiosum* (Tabela 2), sendo que os valores do parasitismo e redução do parasitismo do tratamento com o extrato de capim-limão, 9,06% e 74,08% respectivamente, sendo o extrato com resultados que mais se aproximaram da testemunha positiva (clorpirifós), 3,65% e 87,57%. Diante destes valores podemos concluir que o capim-limão apresenta baixa seletividade em adultos de *T. pretiosum*, assim como a testemunha positiva (clorpirifós) (Tabela 2).

O guaco apresenta na composição química a cumarina com atividade antimicrobiana (SANTOS et al., 2009). Testes sobre ação inseticida em lagartas da espécie *Papilio thoas brasiliensis*, Roth. & Jordan 1907, (Lepidoptera: Papilionidae) com extratos aquosos de nim, guaco entre outros, o extrato de nim apresentou 100% e o guaco com 86,3% de deterrência, baixo consumo foliar pelas lagartas, e também observou-se o efeito de repelência, visto que as lagartas ao final do experimento estavam vivas (CUPERTINO DE SOUZA; MARA-MUSSURY, 2010), este efeito também pode ter influenciado o parasitismo do *T. pretiosum*.

A erva-de-santa-maria, entre os constituintes químicos fixos são citados proteína, ácido palmítico, oleico e linoleico, além de compostos flavônicos, sendo o ascaridol o constituinte majoritário (LORENZI; MATOS, 2008). Experimento para avaliar a atividade inseticida do extrato aquoso com erva-de-santa-maria, a partir da dose 40 g.mL, com 24 horas após a aplicação do extrato aquoso apresentou mortalidade de 26%, em maiores concentrações a mortalidade aumentou, concluindo-se que o extrato aquoso de erva-de-santa-maria provoca mortalidade no pulgão dos citros (SILVA et al., 2010), este efeito também pode estar relacionada a baixa seletividade a *T. pretiosum*.

O assa-peixe possui flavonoides, óleos essenciais e glicosídeos e alcaloides em sua composição química (LORENZI; MATOS, 2008). Entre os alcaloides naturais, a nicotina é o mais importante utilizados no controle de pragas, o que possivelmente influenciou o parasitismo de *T. pretiosum*.

O boldo-chinês possui em sua composição alta concentração de timol e carvacrol substâncias que estão apresentando nos últimos anos várias atividades farmacológicas relevantes (ROSHAN; NAVEEN, 2010). Em estudos com pulgas de gato da espécie *Ctenocephalides felis* Bouché, 1835 (Siphonaptera: Pulicidae), apresentou ação repelente de 90,6% e esse efeito durou quatro horas (SU; LI CHONG et al., 2014).

A losna, utilizada na medicina tradicional por apresentar propriedades diurética, abortiva e anti-helmitica e também propriedades inseticida e herbicida (GONZALEZ-COLOMA et al, 2012), em experimentos apresentou ação repelente de pragas em hortas, afastando Lepidópteras do repolho e da couve (BURG; MAYER, 2009),

O capim-limão possui muitas propriedades terapêuticas como bactericida, fungicida, e utilizado na medicina popular contra piolhos (LORENZI; MATOS, 2008), esta atividade deve-se principalmente à presença de terpenos, como o citral (mistura de isômeros neral e geranial), mirceno, citronelol e nerol (CARRICONDE et al.,1996). Em teste com três concentrações (1, 5 e 10%) de óleo essencial de capim limão em *Thyrinteina arnobia*, Stoll, 1782 (Lepidoptera: Geometridae) apresentou atividade inseticida causando 100% de mortalidade nos tratamentos com 5,0 e 10,0% de óleo essencial (SOARES et al., 2011), este efeito inseticida em *T. arnobia* pode ser a causa da baixa seletividade do parasitoide *T. pretiosum*.

A testemunha positiva (clorpirifós) foi classificada como moderadamente nociva (classe 3) com expressiva redução no parasitismo, sendo considerado não seletivo (Tabela 2). O clorpirifós é comumente incluído nos testes de seletividade como um controle positivo de toxicidade para comparação com os demais inseticidas, devido aos efeitos nocivos sobre espécies de *Trichogramma* (STEFANELLO JÚNIOR et al., 2008; AMARO et al., 2015).

Com relação à redução na viabilidade todos os tratamentos foram classificados como inócuo (classe 1) a adultos de *T. pretiosum*. Quanto à viabilidade, os adultos de *T. pretiosum* que entraram em contato com os tratamentos, nos três dias avaliados, o extrato de erva-baleeira proporcionou valores próximo à testemunha positiva (clorpirifós) (Tabela 3).

A erva baleeira possui efeito anti-inflamatório, com vários compostos na parte aérea, dentre eles estão taninos, flavonóides e os óleos essenciais (FERNANDES et al., 2007). Experimentos para avaliação do efeito de extratos macerados com

infusão em lagartas e pupas de *Spodoptera frugiperda*, J. E. Smith, 1797 (Lepidoptera: Noctuidae) a erva-baleeira apresentou prolongamento destes estágios, este efeito pode estar associado à redução na eficiência de conversão do alimento ingerido (TANZUBIL; MCCAFFERY, 1990) e isto pode estar relacionado à viabilidade do parasitoide *T. pretiosum*.

O ingrediente ativo clorpirifós (testemunha positiva), pertencente ao grupo químico dos organofosforados, inseticidas muito tóxicos, no entanto pode haver uma variação na toxicidade entre as espécies de parasitoides testadas, fase de desenvolvimento do parasitoide de avaliação e etapa de avaliação (YOUSSEF et al., 2004).

Tabela 2 - Parasitismo de *Trichogramma pretiosum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) sobre ação dos tratamentos na fase de adulta. Temperatura 25±2°C, UR 70±10% e fotofase de 14 horas, Botucatu, SP, 2017.

Tratamentos	1° D.A.E ¹			2° D.A.E ¹			3° D.A.E ¹			TOTAL		
	P ²	% E ³	C ⁴	P ²	% E ³	C ⁴	P ²	% E ³	C ⁴	P ²	% E ³	C ⁴
Alecrim	54,64±0,71 b	20,43	1	19,91±0,43 d	37,92	2	7,98±0,20 cd	25,43	1	82,53 ± 0,46 b	26,77	1
Guaco	36,85±1,59 d	46,34	2	14,17±0,86 e	55,82	2	6,20±0,45 e	42,10	2	57,84 ± 0,84 d	48,11	2
Erva-Baleeira	52,20±1,94 b	23,98	1	25,74±2,11 b	19,74	1	8,50±0,16 c	20,50	1	86,44 ± 1,25 b	22,06	1
Erva-sta-maria	36,73±2,51 d	46,52	2	16,30±1,36 e	49,19	2	5,30±0,27 f	50,51	2	58,33 ± 1,11 d	47,74	2
Assa-peixe	42,70±2,80 c	37,52	2	16,33±1,09 e	49,07	2	6,72±0,74 e	37,22	2	65,75 ± 1,12 d	41,42	2
Boldo chinês	44,60±2,43 c	35,07	2	22,89±1,25 bcd	28,65	1	7,70±0,33 d	28,10	1	75,18 ± 1,13 c	32,46	2
Mirra	51,12±4,89 b	25,57	1	23,54±2,49 bc	26,61	1	9,44±0,14 b	11,82	1	84,10 ± 2,12 b	22,05	1
Losna	43,76±2,90 c	36,27	2	22,90±1,40 cd	28,60	1	9,55±0,09 b	10,74	1	76,21 ± 1,17 c	31,19	2
Capim-limão	16,18±0,59 e	76,44	2	6,74±0,90 f	78,99	2	4,87±0,46 f	54,54	2	27,79 ± 0,23 e	76,08	2
Água destilada	68,67±0,93 a	0	1	32,07±2,44 a	0	1	10,79±0,22 a	0	1	111,53 ± 0,93 a	0	1
Clorpirifós	6,23±0,85 f	90,92	3	1,83±0,16 g	94,3	3	3,10±0,10 g	71,04	2	11,16 ± 0,29 f	90,57	3
CV (%)	6,51			8,39			4,45			5,48		

Médias ± Erro Padrão seguidos pela mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey (P>0,05).

¹ D.A.E: Dia (s) após a emergência; ² Parasitismo; ³ Redução na capacidade de parasitismo; ⁴ Classes: classe 1 - inócuo (E < 30%), classe 2 - levemente nocivo (30 ≤ E ≤ 79%), classe 3 - moderadamente nocivo (80 ≤ E ≤ 99%) e classe 4 - nocivo (E > 99%).

Tabela 3 - Viabilidade de *Trichogramma pretiosum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) sobre ação dos tratamentos na fase de adulta. Temperatura 25±2°C, UR 70±10% e fotofase de 14 horas, Botucatu, SP, 2017.

Tratamentos	1° D.A.E ¹			2° D.A.E ¹			3° D.A.E ¹			Total		
	V ²	% E ³	C ⁴	V ²	% E ³	C ⁴	V ²	% E ³	C ⁴	V ²	% E ³	C ⁴
Alecrim	95,22±0,51 ab	4,47	1	92,96±0,58 a	6,00	1	87,69±0,41 cd	10,53	1	275,87±0,46 abc	6,32	1
Guaco	96,73±1,42 ab	2,96	1	94,07±1,42 a	4,88	1	94,83±2,43 ab	3,26	1	285,65±0,93 abc	3,04	1
Erva-Baleeira	78,34±5,58 c	21,41	1	93,19±6,19 a	5,77	1	84,31±5,85 d	13,98	1	255,89±5,13 d	13,97	1
Erva-sta-maria	99,09±0,05 a	0,11	1	97,67±1,53 a	1,31	1	90,69±2,86 bcd	7,08	1	287,06±0,30 ab	2,29	1
Assa-peixe	95,05±1,15 ab	4,65	1	94,55±1,65 a	4,40	1	91,42±2,10 abc	6,74	1	281,02±0,76 abc	4,46	1
Boldo-chinês	97,61±0,35 a	2,08	1	87,78±3,74 ab	11,26	1	87,82±4,61 cd	10,41	1	273,34±1,09 bc	7,15	1
Mirra	95,53±1,99 ab	4,16	1	97,12±0,45 a	1,79	1	96,21±1,37 ab	1,84	1	288,08±1,27 abc	2,19	1
Losna	90,63±3,77 b	9,07	1	95,84±2,05 a	3,09	1	97,60±1,04 a	0,43	1	284,07±2,73 bc	3,11	1
Capim-limão	93,15±3,10 ab	6,55	1	91,60±6,59 ab	7,39	1	86,91±5,34 cd	11,33	1	271,66±2,88 c	7,86	1
Água destilada	99,67±0,09 a	0,00	1	96,31±3,21 a	0,00	1	98,02±0,56 a	0,00	1	294,00±0,18 a	0,00	1
Clorpirifós	79,01±6,56 c	20,74	1	81,34±11,72 b	23,10	1	92,26±1,19 abc	5,88	1	252,61±4,10 c	14,28	1
CV (%)	3,71			5,42			3,43			2,72		

Médias ± Erro Padrão seguidos pela mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey (P>0,05).

¹ D.A.E: Dia (s) após a emergência; ²viabilidade; ³ Redução na capacidade de viabilidade; ⁴ Classes: classe 1 - inócuo (E < 30%), classe 2 - levemente nocivo (30 ≤ E ≤ 79%), classe 3 - moderadamente nocivo (80 ≤ E ≤ 99%) e classe 4 - nocivo (E > 99%).

1.3.2 Efeitos sub letais dos extratos aquosos em adultos de *T. pretiosum*

Quando ovos de *A. kuehniella* foram pulverizados, com os devidos tratamentos e ofertados a fêmeas recém-emergidas de *T. pretiosum*, os tratamentos com água destilada (testemunha negativa), alecrim, guaco, erva-baleeira, mirra e losna apresentaram elevado número de ovos parasitados inicialmente, em média 30 ovos parasitados, diminuindo com a longevidade das fêmeas. Esses tratamentos diferiram da testemunha negativa (água), pela irregularidade no parasitismo ao longo dos dias em que as fêmeas sobreviveram. Nos tratamentos com extratos de assa-peixe, boldo-chinês foi obtido 50 % a menos no número de ovos parasitados inicialmente, quando comparados com a testemunha negativa (água destilada), no entanto, os extratos de erva-de-santa-maria e capim-limão proporcionaram número de ovos parasitados inicialmente menor que a testemunha negativa (água). O tratamento com clorpirifós (testemunha positiva) provocou redução na quantidade de ovos parasitados (Figura 1).

No parasitismo acumulado, a testemunha negativa (água destilada) ao oitavo dia atingiu 80 % de parasitismo, assim como os tratamentos com extratos de alecrim, erva-baleeira, erva-de-santa-maria, assa-peixe, mirra e losna. Os tratamentos com boldo-chinês, e capim-limão em torno do quinto dia atingiram 80% do parasitismo acumulado e o tratamento com guaco teve 80% do parasitismo acumulado em torno do décimo terceiro dia. A testemunha positiva (clorpirifós) não proporcionaram fêmeas sobreviventes após o segundo dia (Figura 1).

Em ovos pulverizados e ofertados ao parasitismo também foram avaliados o total de ovos parasitados e a longevidade, a testemunha negativa (clorpirifós) não apresentou ovos parasitados e as fêmeas sobreviveram somente um dia, nos tratamentos com extratos de erva-de-santa-maria e capim-limão, assim como a testemunha negativa (clorpirifós) não houve ovos parasitados e as fêmeas sobreviveram na média de 3,92 e 2,6 dias, respectivamente (Tabela 4).

Os tratamentos com alecrim e boldo-chinês proporcionou redução no total de ovos parasitados e na longevidade quando comparados com a testemunha positiva (água). Nos outros tratamentos, guaco, erva-balleira, assa-peixe, mirra e losna houve maior número total de ovos parasitados, diferindo pouco da testemunha negativa (água), sendo que ovos tratados com os extratos de guaco e erva-baleeira,

as fêmeas apresentaram a maior longevidade dentre os extratos avaliados (Tabela 4).

Acredita-se que a falta de ovos parasitados e a mortalidade inicial das fêmeas, no tratamento com clorpirifós deve-se à elevada toxicidade de compostos pertencente ao grupo químico dos organofosforados, Moura et al., (2006) constataram 100% de redução no parasitismo de *T. pretiosum* em ovos de *A. kuehniella*, como consequência da alta mortalidade dos adultos devido a exposição dos parasitoides a resíduos de clorpirifós.

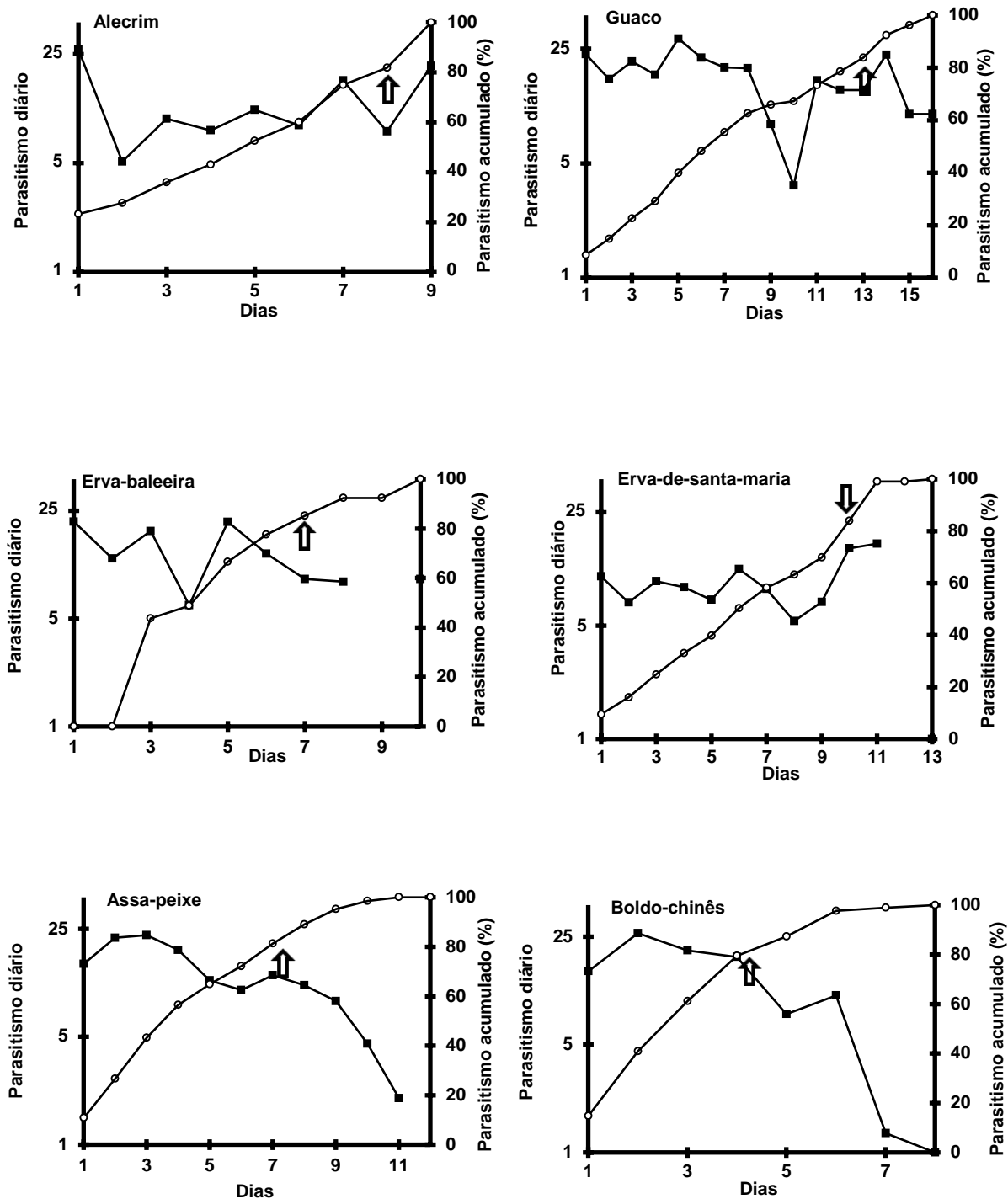
Com relação ao atraso no parasitismo acumulado no tratamento com extrato de guaco, que apresenta a cumarina como principal composto secundário e exerce efeito sobre os insetos, deixando-os com desenvolvimento lento e paralisia de seus movimentos (NICHOLSON; ZHANG 1995; MELO et al., 2015).

A relativa sobrevivência e a falta de parasitismo das fêmeas que entraram em contato com o extrato de erva-de-santa-maria, pode ter ocorrido devido a presença do composto secundário, ascaridol. Em experimentos com óleo essencial das folhas e caule de erva-de-santa-maria em gorgulho-do-milho, *Sitophilus zeamais*, Motschulsky 1885, (Coleoptera: Curculionidae) apresentou uma mortalidade de 100% na dose de 500 µL de óleo/L, após 24 h de exposição (JARAMILLO et al., 2012).

O capim-limão apresenta entre seus compostos secundários o citrol, que pode ter contribuído pela sobrevivência das fêmeas por poucos dias e o baixo número de ovos parasitados, assim como nos experimentos realizados com *S. frugiperda* com óleos essenciais de *Pelargonium graveolens* L. (Geraniales: Geraniaceae) e *Lippia alba* Mill. (Lamiales: Verbenaceae), que possuem geraniol, linalol, carvona e citral nos compostos majoritários presentes nos óleos essenciais estudados, ocasionaram significativa mortalidade larval de *S. frugiperda* em comparação com o bioinseticida natural (Azamax[®]) e com o controle negativo. (NICULAU et al., 2013).

De modo geral, os extratos de erva-de-santa-maria e capim-limão proporcionam baixa seletividade e efeitos sub letais a adultos de *T. pretiosum*.

Figura 1 - Parasitismo diário e acumulado de *T. pretiosum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) sobre ação dos tratamentos em fase adulta. Temperatura $25\pm 2^{\circ}\text{C}$, UR $70\pm 10\%$ e fotofase de 14 horas. Botucatu, SP, 2017.



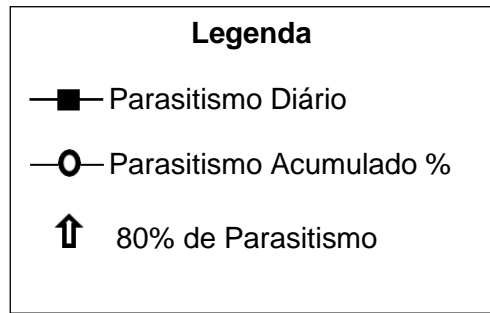
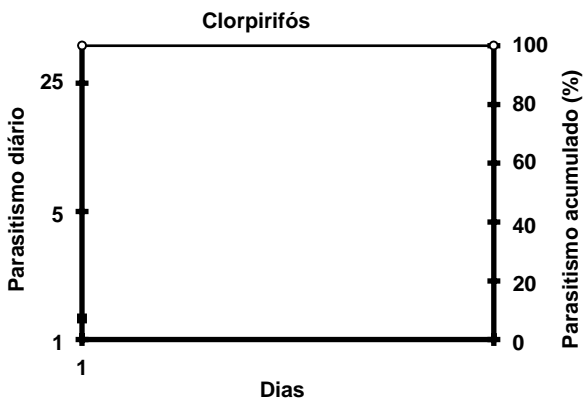
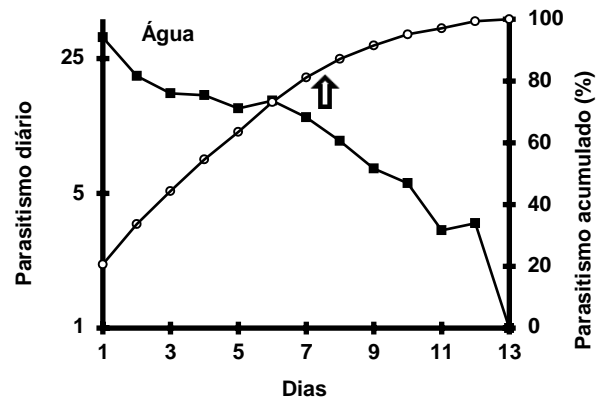
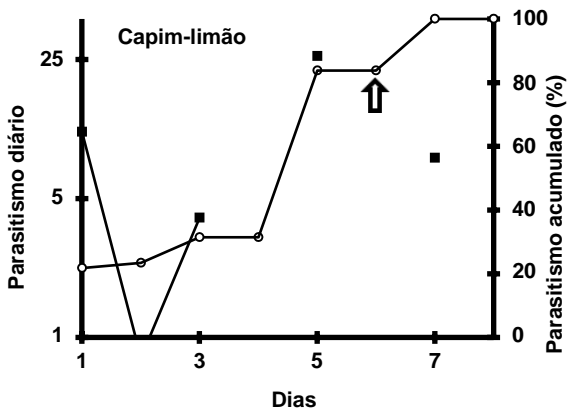
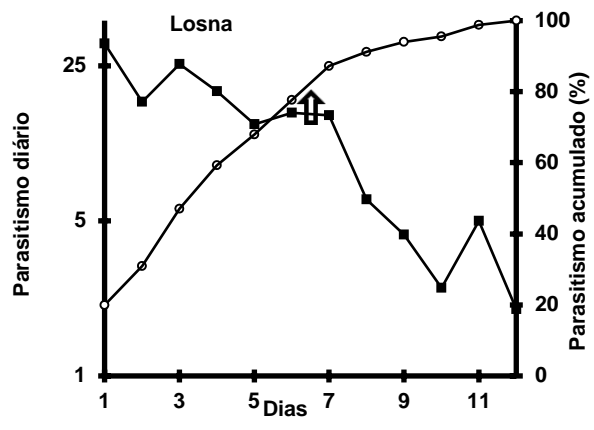
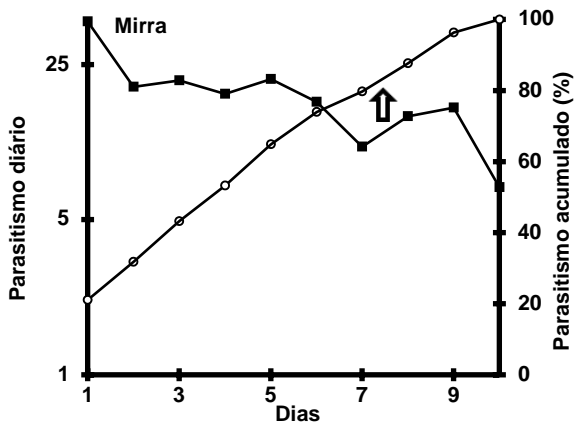


Tabela 4 - Parâmetros biológicos de *Trichogramma pretiosum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) sobre ação dos tratamentos na fase adulta. Temperatura 25±2°C, UR 70±10% e fotofase de 14 horas. Botucatu, SP, 2017.

Tratamento	Número total de ovos parasitados/fêmea	Longevidade (dias)
Alecrim	44,60 ± 2,34 f	3,20 ± 0,39 bcd
Guaco	107,28 ± 7,29 bc	5,28 ± 0,50 bc
Erva-Baleeira	95,50 ± 6,01 cd	6,16 ± 0,57 b
Erva-sta-Maria	2,08 ± 1,78 g	3,92 ± 0,49 bcd
Assa-peixe	80,71 ± 4,83 de	3,14 ± 0,30 cde
Boldo-Chinês	65,44 ± 6,97 e	4,33 ± 0,54 bcd
Mirra	80,88 ± 3,95 de	3,88 ± 0,38 bcd
Losna	119,90 ± 5,37 bc	4,80 ± 0,38 bcd
Capim-Limão	2,66 ± 1,39 g	2,60 ± 0,24 def
Água Destilada	165,57 ± 6,82 a	10,42 ± 0,57 a
Clorpirifós	0,00 ± 0,00 g	1,05 ± 0,05 f
CV (%)	10,93	19,80

Médias ± Erro Padrão seguidos pela mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey (P>0,05).

REFERÊNCIAS

- AGUIAR-MENEZES, E.L. Inseticidas botânicos: seus princípios ativos, modo de ação e uso agrícola. Embrapa Agrobiologia. **Embrapa**. Centro Nacional de Pesquisa de Agrobiologia. 58 p. 2005.
- AMARO, J.T.; BUENO, A.F.; POMARI-FERNANDES, A.F.; NEVES, P.M.O.J. Selectivity of organic products to *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae). **Neotropical Entomology**, v.44, p.489-497, 2015.
- BURG I.C., MAYER P.H., Alternativas Ecológicas Para Prevenção de Pragas e Doenças. **Grafit Gráfica e Editora Ltda**. 153p. 2006.
- DESNEUX, N.; DECOURTYE, A.; DELPUECH, J.M. The Sublethal effects of pesticides on beneficial arthropods. **Annual Review of Entomology**, v.52, p.81-106, 2007.
- CARRICONDE, C.; MORES, D.; VON FRITSCHEN, M.; CARDOZO JÚNIOR, E.L. Plantas medicinais e alimentícias. **Centro Nordeste de Medicina Popular**, v.1, p.45-47, 1996.
- CUPERTINO DE SOUZA, D.M.; MARA-MUSSURY, R. Avaliação do efeito deterrente de extratos vegetais sobre *Papilio thoas brasiliensis* (Lepidoptera: Papilionidae) Rothschild & Jordan. **Journal of the Selva Andina Research Society**, v.1, p.19-23, 2010.
- FERNANDES, E.S., et al. Anti-inflammatory effects of compounds alpha-humulene and trans-caryophyllene isolated from the essential oil of *Cordia verbenacea*. **Journal of Pharmacology**, v.569, p.228-236, 2007.
- GONZALEZ-COLOMA, A. et al. Major componentes of Spanish cultivated *Artemisia absinthium* populations: Antifeedant, antiparasitic, and antioxidant effects Industrial. **Crops & Products** v.37, p.401-407. 2012.
- HASSAN, S.A.; ABDELGADER, H. A sequential testing program to assess the effects of pesticides on *Trichogramma cacoeciae* Marchal (Hymenoptera: Trichogrammatidae). **IOBC/WRPS Bulletin**, v.24, p.71-81, 2001.
- HASSAN, S.A. Guidelines for testing the effects of pesticides on beneficial organisms: description of test methods. In: Guidelines for testing the effects of pesticides on beneficial organisms, **Bulletin OILB/SROP**, p.18-39, 1992.
- HASSAN, S.A., et al. A laboratory method to evaluate the side effects of plant protection products on *Trichogramma cacoeciae* Marchal (Hymenoptera: Trichogrammatidae). In: CANDOLFI, M.P.; BLÜMEL, S.; FORSTER, R.; BAKKER, F.M.; GRIMM, C.; HASSAN, S.A.; HEIMBACH, U.; MEADBRIGGS, M.A.; REBER, B.; SCHMUCK, R.; VOGT, H. (eds.): Guidelines to evaluate side-effects of plant protection products to non-target arthropods. **Reinheim: IOBC/WPRS**, p.107-119, 2000.

JARAMILLO B.E.; DUARTE E DELGADO W. Bioactividad del aceite esencial de *Chenopodium ambrosioides* colombiano. **Revista Cubana de Plantas Medicinales**, v.17, p.54-64, 2012.

JOHNSON W.; RAUT A.M.; MANDAL S.K.; NAJITHA BANU A. Efficacy of new generation insecticides against *Trichogramma chilonis* Ishii and *trichogramma pretiosum* Riley. **Journal of Entomology and Zoology Studies**, v.6, p.1361-1365, 2018.

LORENZI, H.; MATOS, F.J.A. Plantas Mediciniais no Brasil: nativas e exóticas. **Instituto Plantarum de Estudos da Flora Ltda**. 3ª edição, 512 p., 2008.

MACHADO, L. A.; SILVA, V. B.; OLIVEIRA, M. M. Uso de extratos vegetais no controle de pragas em horticultura. **O Biológico**, v.69, p.103-106, 2007.

MANZONI, C.G. et al. Seletividade de agroquímicos utilizados na produção integrada de maçã aos parasitoides *Trichogramma pretiosum* Riley e *Trichogramma atopovirilia* Oatman & Platner (Hymenoptera: Trichogrammatidae). **Bio Assay**, v.2, p.1-11, 2007.

MARTINEZ, S.S., O nim: *Azadirachta indica* - natureza, usos múltiplos, produção. **Instituto Agronômico do Paraná**, 2011.

MATOS, F.J.A. Plantas Mediciniais – guia de seleção e emprego de plantas usadas em fitoterapia no nordeste do Brasil. **Edições UFC**, 344p, 2002.

MELO, B.A.; ALMEIDA F.A.C.; SILVA J.F.; SILVA R.M. Atividade inseticida do óleo de *Copaifera langsdorffii* Desf.(copaiba) sobre *Tribolium castaneum* (Coleoptera: Tenebrionidae) **Revista Cubana de Plantas Medicinales** v.20, n.4, 2015.

MOURA, A.P. et al. Selectivity evaluation of insecticides used to control tomato pests to *Trichogramma pretiosum*. **BioControl**, v.51, p.769-778, 2006.

NICHOLSON R.A.; ZHANG A.; SURANGIN B. Insecticidal properties and mechanism underlying its transmitter releasing action in nerve terminal fractions isolated from mammalian brain. **Pesticide Biochemistry and Physiology**. v.53, p.152-63, 1995.

NICULAU E.S., et al. Atividade inseticida de óleos essenciais de *Pelargonium graveolens* l'Herit e *Lippia alba* (Mill) N. E. Brown sobre *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith). **Química Nova** v.36, 2013.

PANIZZA, S. Plantas que curam (Cheiro de Mato), **IBRASA**, 280p, 1998.

PARRA, J.R.P., ZUCCHI, R.A., COELHO JR., A., GEREMIAS, L.D., CÔNSOLI, F.L., *Trichogramma* as a tool for IPM in Brazil. In: Vinson, B., Greenberg, S.M., Liu, T., Rao, A., Volosciuk, L.F. (Eds.), *Augmentative Biological Control using Trichogramma spp.* **Current Status and Perspectives**, p.472-496, 2015.

PUYVELDE-VAN, L.; De KIMPE, N. Tetradenolide, an a-pyrone from *Tetradenia riparia*. *Phytochemistry*, 115p, 1998.

QUERINO, R.B.; ZUCCHI, R.A. Guia de Identificação de *Trichogramma* para o Brasil. Brasília: **Embrapa Informação Tecnológica**, 103 p., 2011.

RAMPELOTTI-FERREIRA F.T.; COELHO JR A.; PARRA J.R.P.; VENDRAMIM J.D. Selectivity of plant extracts for *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae). **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v.138, p.78-82, 2017.

ROSHAN, P.; NAVEEN, M. *Plectranthus amboinicus* (Lour) Spreng: an overview. **Pharma Res**, v.4, p.1–15, 2010.

SANTOS A., et al. Determinação do rendimento e atividade antimicrobiana do óleo essencial de *Cymbopogon citratus* Stapf em função de sazonalidade e consorciamento. **Revista Brasileira Farmacogn**. v.19, p.436-441, 2009.

SERTIÉ, J. A.A., et al. Pharmacological assay of *Cordia verbenacea*: Part II. Anti-inflammatory activity and sub-acute toxicity of artemetion. **Planta Médica**, p.36-40, 1990.

SILVA C.P.; RICCI T. G.; ARRUDA A.L.; PAGLIOSA F.M.; MACEDO M.L.R. Extratos vegetais de espécies de plantas do cerrado Sul-Matogrossense com potencial de bioherbicida e bioinseticida. **Uniciências**, v.21, p.25-34, 2017.

SILVA, M.P.L.; ALVES, L.S.; CARVALHO, R.S. Bioatividade de extrato aquoso de *Chenopodium ambrosioides* L., no controle de *Toxoptera citricida* (Hemiptera: Aphididae) em citros. **Revista Brasileira de Agroecologia**, v.4, p.543-545, 2010.

SIMONATO J, GRIGOLLI J.F. J, OLIVEIRA H.N. Controle biológico de insetos-praga na soja. **Tecnologia e Produção: Soja**. p. 178–193, 2014.

STEFANELLO JÚNIOR, G.J., et al. Efeito de inseticidas usados na cultura do milho sobre a capacidade de parasitismo de *Trichogramma pretiosum* Riley, 1879 (Hymenoptera: Trichogrammatidae). **Arquivos do Instituto Biológico**, v.75, p.187-194, 2008.

SOARES, C.S.A.; SILVA, M.; COSTA, M.B.; BEZERRA, C.E S. Ação inseticida de óleos essenciais sobre a lagarta desfolhadora *Thyrintina arnobia* (STOLL) (LEPIDOPTERA: GEOMETRIDAE) **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável Grupo Verde de Agricultura Alternativa (GVAA)**. v.6, p.154-157, 2011.

SOUSA, M.P.; MATOS, F.J.A. Constituintes químicos de plantas medicinais brasileiras, **Impressão Universitária/UFC**, 416p, 1991.

STERK, G., et al. Results of the seventh joint pesticide testing programme carried out by the IOBC/WPRS- Working Group 'Pesticides and Beneficial Organisms'. **BioControl**, v.44, p.99-117, 1999.

SU, et al. An improved bioassay facilitates the screening of repellents against cat flea, *Ctenocephalides felis* (Siphonaptera: Pulicidae). **Pest management science**, v.70, p.264-270, 2014.

TANZUBIL, P.B.; MCCAFFERRY A.R. Effects of *azadirachtin* and aqueous neem seed extracts on survival, growth and development of the *African armyworm*, *Spodoptera exempta*. **Crop Protection**, v.9, p.383-386. 1990.

YOUSSEF, A.I., et al. The side-effects of plant protection products used in olive cultivation on the hymenopterous egg parasitoid *Trichogramma cacoeciae* Marchal. **Journal of Applied Entomology**, v.128, p.593-599, 2004.

VAN LENTEREN, J.C. The state of commercial augmentative biological control: plenty of natural enemies, but a frustrating lack of uptake. **Bio Control**, v.57, p1-20, 2012.

VASQUES, E.A.; GUTE, H.J.; ROSS, G. Chemical and biological studies on essential oil of *Coleus anboinicus* Lour. **Medicinal Plant Research**, p.66, 1998.

VIANNA U.R., et al. Insecticide toxicity to *Trichogramma pretiosum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) females and effect on descendant generation. **Ecotoxicology**, v.18, p.180-186, 2009.

CAPÍTULO 2

SELETIVIDADE DE EXTRATOS BOTÂNICOS SOBRE PUPAS DE *Trichogramma pretiosum* RILEY, 1879 (HYMENOPTERA: TRICHOGRAMMATIDAE)

RESUMO

O uso de extratos botânicos pode ser incluído como uma das várias táticas usada no Manejo Integrado de Pragas (MIP). No entanto se faz necessária a avaliação da seletividade para que não ocorra impacto sobre a atividade dos inimigos naturais. Sendo assim, o objetivo foi avaliar a seletividade e efeitos sub letais em pupas de *Trichogramma pretiosum* Riley, 1879 (Hymenoptera: Trichogrammatidae) a extratos botânicos. O experimento foi conduzido em laboratório com 11 tratamentos: *Rosmarinus officinalis* (alecrim), *Mikania glomerata* (guaco), *Varronia curassavica* (erva-baleeira), *Chenopodium ambrosioides* (erva-de-santa-maria), *Vermonia polyanthes* (assa-peixe), *Plectranthus amboinicus* (boldo-chinês), *Tetradenia riparia* (mirra), *Artemisia absinthium* (losna), *Cymbopogon citratus* (capim-limão), água destilada e clorpirifós foram testemunhas, o delineamento foi em blocos casualizados com cinco repetições para seletividade e inteiramente casualizados com vinte repetições para efeitos sub letais, seguindo os protocolos padronizados da Organização Internacional para o Controle Biológico (IOBC). As plantas foram coletadas no período da manhã, em laboratório foram separadas 100 g de cada espécie, as quais foram imersas em 300 ml de álcool metílico por 24 horas, em tríplex extração. Posteriormente, o solvente foi evaporado no rotavapor e o extrato bruto foi diluído na proporção 1000 mg para 250mL de água destilada. Foi avaliado o parasitismo e a viabilidade (%). A mortalidade dos parasitoides foram classificadas em: classe 1 - inócuo ($E < 30\%$); classe 2 - levemente nocivo ($30 \leq E \leq 79\%$); classe 3 - moderadamente nocivo ($80 \leq E \leq 99\%$); classe 4 - nocivo ($E > 99\%$); parasitismo diário e acumulado, total de ovos parasitados e longevidade. Na avaliação de seletividade na fase de pupas o tratamento com extrato de guaco, assa-peixe, boldo-chinês, mirra, losna e capim-limão foram classificados como levemente nocivo (classe 2), sendo que os extratos de capim-limão e alecrim proporcionaram efeitos sub letais. O clorpirifós foi classificado como moderadamente nocivo (classe 3), com feitos sub letais, comprovando ser um inseticida não seletivo. Conclui-se que o extrato de capim-limão apresenta baixa seletividade e efeitos sub letais a pupas de *T. pretiosum*, pois proporcionou alterações em todos os ensaios.

Palavras-chaves: controle biológico, parasitoide de ovos, manejo integrado de pragas, inseticidas botânicos.

ABSTRACT

The use of botanical extracts can be included as one of several strategies used in Integrated Pest Management (IPM), however, it is necessary to evaluate the selectivity so that there is no impact on the activity of the natural enemies. Therefore, the objective was to evaluate the selectivity and sub-lethal effects in pupae of *Trichogramma pretiosum* Riley, 1879 (Hymenoptera: Trichogrammatidae) to aqueous botanical extracts. The experiment was conducted in a laboratory with 11 treatments *Rosmarinus officinalis*, *Mikania glomerata*, *Varronia curassavica*, *Chenopodium ambrosioides*, *Vermonia polyanthes*, *Plectranthus amboinicus*, *Tetradenia riparia*, *Artemisia absinthium*, *Cymbopogon citratus*, distilled water and chlorpyrifos were all randomized blocks with five replications for selectivity and completely randomized to twenty repetitions for sub-lethal effects, following the standard protocols of the International Organization for Biological Control (IOBC). The plants were collected in the morning, in laboratory were separated 100 g of each species, which were immersed in 300 ml of methyl alcohol for 24 hours in a triple extraction. Subsequently, the solvent was evaporated on the rotary evaporator and the crude extract was diluted 1000 mg to 250 mL of distilled water. Parasitism and viability (%) were evaluated. The mortality of parasitoids were classified as: class 1 - innocuous ($E < 30\%$); class 2 - slightly harmful ($30 \leq E \leq 79\%$); class 3 - moderately harmful ($80 \leq E \leq 99\%$); class 4 - harmful ($E > 99\%$); daily and accumulated parasitism, total parasitized eggs and longevity. In the evaluation of selectivity in the pupae phase the treatment with aqueous extract of *Mikania glomerata*, *Varronia curassavica*, *Chenopodium ambrosioides*, *Plectranthus amboinicus*, *Tetradenia riparia*, *Artemisia absinthium* and *Cymbopogon citratus* were classified as slightly harmful (class 2), and the aqueous extracts of *Cymbopogon citratus* and *Rosmarinus officinalis* provided sub-lethal effects. Chlorpyrifos was classified as moderately harmful (class 3), with sub-lethal effects, proving to be a nonselective insecticide. It is concluded that the aqueous extract of *Cymbopogon citratus* presents low selectivity and sub-lethal effects to pupae of *T. pretiosum*, because it provided alterations in all the trials.

Keywords: biological control, egg parasitoid, integrated pest management, botanical insecticides

2.1 INTRODUÇÃO

Com demanda cada vez maior por alimentos, a agricultura expandiu o cultivo em monoculturas com amplo uso de produtos fitossanitários (AGUIAR-MENEZES, 2005). Uma maneira encontrada para amenizar este problema é a adoção do Manejo Integrado de Pragas (MIP), conceito estabelecido no final dos anos 50, preconiza o emprego racional de várias táticas de controle na condução de culturas, aliando o uso de inimigos naturais com agroquímicos. O uso de produtos fitossanitários seletivos favorece o controle biológico, sendo importante avaliação em inimigos naturais, neste sentido, desde 1974 a Organização Internacional para Controle Biológico (IOBC), coordena estudos de seletividade (DEGRANDE et al., 2002).

Nessas avaliações, os parasitoides de ovos das espécies de *Trichogramma* são amplamente utilizados, pois são criados em laboratório com relativa facilidade, em hospedeiros alternativos (PARRA, 2010), e amplamente usado no controle de lepidópteros-praga. Somente no Brasil, cerca de 750 mil hectares são tratados com *Trichogramma* anualmente (PARRA et al., 2015). Estes microhimenópteros apresentam o desenvolvimento embrionário e larval no interior do ovo hospedeiro (AYVAZ et al., 2008), o córion do ovo acaba atuando como proteção para ao desenvolvimento do parasitoide (BUENO et al., 2008; CARMO et al., 2010).

Uma tática aliada ao MIP é o uso de extratos botânicos com ação inseticida, provenientes do metabolismo secundário das plantas, moléculas produzidas pelas plantas, que servem para a sua adaptação no ambiente em que se encontram, e também como um mecanismo de defesa contra a herbívoros, não estando envolvidos na rota bioquímica primária para seu crescimento, nutrição e reprodução (BASER, 2012). O uso de extratos vegetais oferece uma promessa de desenvolvimento de novas estruturas moleculares de constituintes naturais (BATISTA et al., 2013). No entanto, a detecção de novas fontes de compostos inseticidas, é uma das lacunas ser preenchidas, necessitando de pesquisas (ANSANTE et al. 2015).

Estes extratos contêm metabolitos secundários produzidos por plantas que têm o potencial de fornecer proteção ao ataque de insetos, em estudos com

extratos da planta *Cnidoscolus aconitifolius* Miller (Malpighiales: Euphorbiaceae) que pertence a família Euphorbiaceae, estudados em várias partes do mundo, revelam efeitos letais, subletais e repelentes em insetos (CALDERÓN-MONTANO et al. 2011; FERREIRA; MOORE 2011)

Neste contexto, o objetivo deste trabalho foi avaliar a seletividade de espécies de plantas medicinais em pupas de *t. pretiosum* e efeitos sub letais dos adultos sobreviventes que receberam os tratamentos.

2.2 MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram conduzidos no laboratório do Grupo de Pesquisa em Manejo Integrado de Pragas na Agricultura (AGRIMIP), Tecnologia de Aplicação, do Departamento de Proteção Vegetal e Laboratório de Plantas Mediciniais do Departamento de Horticultura da FCA/UNESP - Faculdade de Ciências Agrônômicas, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" - Campus de Botucatu.

O delineamento experimental utilizado foi em blocos casualizado para seletividade, sendo 11 tratamentos e cinco repetições, para efeitos sub letais foi usado o delineamento inteiramente casualizado com 11 tratamentos e 20 repetições. Os tratamentos consistiram em aplicações de diferentes extratos aquosos botânicos (Tabela 1).

Tabela 1 – Tratamentos e extratos aquosos avaliados na seletividade de extratos botânicos ao *T. pretiosum*

NOME COMUM	NOME CIENTÍFICO	FAMÍLIA	COMPOSTOS SECUNDÁRIOS
Alecrim	<i>Rosmarinus officinalis</i> L.	Lamiaceae	Cineol (MATOS, 2002)
Guaco	<i>Mikania glomerata</i> Spreng.	Asteraceae	Cumarina (MATOS, 2002)
Erva-baleeira	<i>Varronia curassavica</i> Jacq.	Boraginaceae	Artemetina (SERTIÉ, 1990)
Erva-sta-maria	<i>Chenopodium ambrosioides</i> L.	Chenopodiaceae	Ascaridol (SOUSA, 1991)
Assa-peixe	<i>Vermonia polyanthes</i> Spreng.	Asteraceae	Alcaloides (PANIZZA, 1998)
Boldo-chinês	<i>Plectranthus amboinicus</i> Spreng	Lamiaceae	Timol (VASQUEZ, 1998)
Mirra	<i>Tetradenia riparia</i> Codd.	Lamiaceae	Alfa-pironas (PUYVELDE, 1986)
Losna	<i>Artemisia absinthium</i> L.	Asteraceae	Absintina (SOUSA, 1991)
Capim-limão	<i>Cymbopogon citratus</i> Stapf.	Poaceae	Citral (SOUSA, 1991)
Testemunha negativa	Água destilada		
Testemunha positiva	Clorpirifós		

2.2.1 Preparo dos extratos botânicos

Os extratos foram preparados no Laboratório de Plantas Medicinais do Departamento de Horticultura da UNESP - Faculdade de Ciências Agrônomicas, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" - FCA/UNESP, Campus de Botucatu. O material vegetal foi colhido no horto medicinal, situado a 22°51'S e 48°26'O, a 786 m de altitude, no período da manhã. Este material foi colhido de plantas sem que apresentassem danos visíveis causados por insetos, em laboratório foram separadas 100 g de cada espécie e imersas em 300 ml de álcool metílico por 24, 48 e 72 horas, em tríplice extração. O solvente resultante evaporado em evaporador rotativo e o extrato bruto diluído em água na proporção 1000 mg para 250 ml de água destilada e conservados em recipiente de vidro com coloração âmbar. Estas plantas foram selecionadas com base em trabalho anterior, onde foi avaliada a ação inseticida sobre a biologia de *Spodoptera frugiperda* J. E. Smith, 1797 (Lepidoptera : Noctuidae).

2.2.2 Manutenção da criação de *Trichogramma pretiosum*

Para multiplicação de *T. pretiosum* foram utilizados ovos frescos de *Anagasta kuehniella* Zeller, 1879 (Lepidoptera: Pyralidae). Os ovos de *A. kuehniella* foram aderidos em papel couchê por meio de fita adesiva dupla face transparente e acondicionado em recipientes plásticos de 4 litros, e alimentado com pequenos filetes de mel puro, a borda selada com filme plástico de PVC e reforçada com pulseiras elásticas. Após a emergência foram ofertadas cartelas com ovos frescos de *A. kuheniella* para o parasitismo durante 24 horas. Transcorrido esse período as cartelas recém parasitadas foram individualizadas em novos recipientes, até a emergência dos indivíduos, iniciando-se assim um novo ciclo na criação. A criação de *T. pretiosum* foi mantida em condições controladas de temperatura ($25\pm 2^{\circ}\text{C}$), umidade relativa ($70\pm 10\%$) e fotofase (14 horas).

2.2.3 Aplicação dos extratos vegetais nos bioensaios de seletividade

As pulverizações foram realizadas no Laboratório de Tecnologia de Aplicação, do Departamento de Proteção Vegetal da FCA/UNESP - Faculdade de Ciências Agrônomicas, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita

Filho" - Campus de Botucatu. Para os testes de seletividade, a aplicação dos tratamentos (Tabela 1), foi realizada em Torre de Potter®, calibrada para aplicação de 250 L ha⁻¹ com pressão variando de 5 a 7 psi e deposição de 1,75 ± 0,25 mg cm⁻², aferido mediante balança eletrônica de precisão, seguindo as normas padronizadas pela IOBC. A calda foi pulverizada com auxílio de uma bomba do modelo EL 504 da marca Eletrolab. Para a pulverização, foram separados 1,13 mL dos tratamentos em tubos do tipo Eppendorf® e, posteriormente, pulverizado sobre o alvo.

2.2.4 Preparo das gaiolas para avaliação da seletividade dos extratos vegetais

As gaiolas utilizadas para os testes de seletividade foram às preconizadas pela IOBC. Confeccionada em armação de alumínio apresentando 13 cm de largura, 13 cm de comprimento, 2 cm de altura e 1 cm de espessura, justapostas por parafusos. Em três, observa-se 6 orifícios de 1 cm de diâmetro cada, para ventilação e vedados internamente com tecido preto garantindo o aprisionamento dos parasitoides nas gaiolas e as trocas gasosas com meio externo (HASSAN et al., 2000). No quarto, existe uma abertura de 3,5 cm de largura x 1 cm de altura para introdução de cartelas contendo ovos do hospedeiro alternativo com outro orifício, ao lado de 1 cm de diâmetro, para liberação dos parasitoides nas gaiolas, aberturas esta, fechadas com cartolina preta e fita adesiva, sendo abertas somente no momento da introdução das cartelas ou dos parasitoides. As partes superior e inferior da gaiola, são vedadas com placas de vidro (13 cm de largura x 13 cm de comprimento e 2 mm de espessura) presas com pulseiras elásticas. A fim de evitar o contato direto das superfícies de vidro com a armação de alumínio, delimitou-se externamente a armação, com espuma adesiva anti-ruído. Para evitar possíveis acúmulos de vapores tóxicos dos tratamentos dentro das gaiolas de seletividade, as mesmas foram interligadas por um sistema de mangueiras de silicone a uma bomba de vácuo, de modo que todo o ar das gaiolas fosse removido por sucção.

2.2.5 Seletividade a pupas de *T. pretiosum*

Nos testes de seletividade a fase de pupa de *T. pretiosum*, foi pulverizado 1,5 cm² (± 600 ovos) de cartelas com ovos parasitados, aproximadamente 200

fêmeas a serem expostas nesta situação (HASSAN et al., 2000). Os ovos estavam com 168 a 192 horas de parasitismo, correspondendo ao estágio de desenvolvimento de pupa do parasitoide (CONSOLI et al., 1999). Após secagem em condições naturais, as cartelas foram colocadas no interior das gaiolas, sendo cobertas com placas de cartolina preta, deixando livre porção exposta iluminada de 7 cm largura x 7 cm comprimento, para impedir que os parasitoides permaneçam em algum dos lados. Após a emergência os parasitoides foram alimentados com um filete de mel puro e colonizaram do interior das gaiolas, no período de 24, 48 e 72 horas, foram ofertados cartões com 6,25cm² de ovos frescos de *A. kuehniella* para o parasitismo. No quarto dia após a emergência dos parasitoides (96 horas), as gaiolas foram desmontadas e as cartelas oferecidas coletadas e individualizadas por data e tratamento em sacos plásticos 4,0 cm x 23 cm.

2.2.6 Efeitos sub letais dos extratos de plantas a pupas de *T. pretiosum*

Neste ensaio, foram separadas 5 cartelas de 6,25 cm² (\pm 1.200 ovos) com ovos parasitados, por tratamento e colocadas em tubos de fundo chato, vedado com filme plástico PVC. No momento em que os ovos estavam com 168 a 192 horas de parasitados, correspondendo ao estágio de desenvolvimento de pupa do parasitoide (CONSOLI et al., 1999), formaram pulverizadas com os devidos tratamentos e colocadas de volta aos tubos vedados com filme plástico PVC até a emergência. Após a emergência, fêmeas *T. pretiosum*, foram separadas com base em estrutura de antena (QUERINO; ZUCCHI, 2011), e individualizadas em tubo de Duram®, totalizando 20 fêmeas (repetições) por tratamento, diariamente foram ofertados cartões de 0,25cm² (\pm 180 ovos) de ovos frescos de *A. kuehniella* durante o período em que as fêmeas sobreviveram, as cartelas oferecidas foram coletadas e armazenadas em sacos plásticos 4,0 cm x 23 cm para posterior avaliação.

2.2.7 Análise estatística

Para seletividade foi avaliado o parasitismo (P) através da equação $P = \text{número de ovos parasitados} / \text{número de ovos ofertados} \times 100$; a viabilidade (V) foi determinada por meio da equação $V = \text{número de ovos com orifício} /$

número de ovos parasitados x 100, os resultados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e as médias comparadas por teste de Tukey a 5% de significância através do programa SISVAR 5.6.

A redução do parasitismo e viabilidade do parasitoide em relação ao tratamento com água destilada correspondente a testemunha negativa, foi avaliado por meio da seguinte equação: $E (\%) = (1 - (\text{porcentagem média geral do tratamento} / \text{porcentagem média geral do tratamento testemunha}) \times 100)$, Onde: E (%) é a porcentagem de redução da capacidade benéfica do parasitoide (MANZONI et al., 2006; STERK et al., 1999). Assim os produtos foram classificados em função da média de redução de acordo com as normas da IOBC em: classe 1 - inócuo ($E < 30\%$); classe 2 - levemente nocivo ($30 \leq E \leq 79\%$); classe 3 - moderadamente nocivo ($80 \leq E \leq 99\%$); classe 4 - nocivo ($E > 99\%$) (HASSAN, 1992).

Na avaliação dos efeitos sub letais foram analisados o número total de ovos parasitados e a longevidade dos parasitoides, sendo que o efeito sub letal dos produtos pode afetar a fisiologia do inseto e interferir nos parâmetros avaliados (DESNEUX et al., 2007). Os resultados foram submetidos a análise de variância (ANOVA) e as médias comparadas por teste de Tukey a 5% de significância através do programa SISVAR 5.6.

2.2 RESULTADOS E DISCUSSÃO

2.3.1 Seletividade a pupas de *T. pretiosum*

Quando os ovos de *A. kuehniella* parasitados por *T. pretiosum* receberam os tratamentos na fase de pupas, na testemunha negativa (água) não proporcionou ação na redução da capacidade de parasitismo nos três de avaliação, sendo classificada como inócuo (classe 1), assim como os ovos tratados com o extrato de alecrim, com leve redução na capacidade de parasitismo (Tabela 2).

O extrato de erva-baleeira, inicialmente não apresentou redução na capacidade de parasitismo, porém no terceiro dia foi muito acentuada sendo classificado como levemente nocivo (classe 2), sendo que na média geral foi classificado como inócuo (classe 1) (Tabela 2).

Os extratos de guaco, erva-de-santa-maria e assa-peixe apresentaram baixa diferença estatística em comparação com a testemunha negativa (água) quanto ao parasitismo e redução de parasitismo sendo classificados como inócuo (classe 1), quando avaliados no primeiro dia após a emergência. No segundo e terceiro dia o efeito sobre o parasitismo proporcionou maior diferença quando comparados com a testemunha negativa (água), sendo classificados como levemente nocivo (classe 2). Em média os tratamentos com extratos de erva-de-santa-maria foi classificado como inócuo (classe 1), os extratos de guaco e assa-peixe foram considerados levemente nocivos (classe 2) com porcentagens de 33,48 e 30,32 %, respectivamente, sendo que os valores do extrato de assa-peixe bem próximo a classificação de inócuo, assim o extrato de guaco proporcionou maior efeito no parasitismo e na redução do parasitismo (Tabela 2).

Os tratamentos com extratos de boldo-chinês, mirra e capim-limão, no primeiro dia após a emergência proporcionaram alteração no parasitismo, no entanto foram classificados como inócuo (classe 1). No segundo dia após a emergência o extrato de mirra não apresentou diminuição no parasitismo, classificados como inócuo (classe 1), nos tratamentos com extrato de boldo-chinês e capim-limão proporcionaram acentuada diminuição no parasitismo, sendo classificados como levemente nocivos (classe 2). No terceiro dia após a emergência os tratamentos com extrato de boldo-chinês, mirra e capim-limão proporcionaram acentuada redução na capacidade de parasitismo, sendo classificados como levemente nocivo (classe 2). Na média foram classificados como levemente nocivo (classe 2), sendo que a porcentagem na redução do parasitismo com o extrato de capim-limão foi maior 37,88%, e também com maior efeito no parasitismo em relação aos tratamentos com boldo-chinês e mirra com 31,83 e 31,04% respectivamente (Tabela 2).

As pupas de *T. pretiosum* tratadas com o extrato de losna proporcionaram diminuição no parasitismo e redução de parasitismo nos três dias de avaliação, classificado como levemente nocivo (classe 2), sendo acentuada a interferência deste tratamento no parasitismo (Tabela 2).

O guaco, em análises fitoquímicas revela a presença de cumarina, que apresenta potencial inseticida, agindo como inibidores da alimentação e

influenciam o potencial reprodutivo de insetos (KAUR; RUP, 2002). Em experimentos realizados com óleo de *Copaifera langsdorffii* Desf. (Fabales: Caesalpiniaceae) que possui cumarina em sua composição, concluiu-se toxicidade a *Tribolium castaneum*, Herbst (Coleoptera: Tenebrionidae), em diluições a partir de 50 %, por contato, controlando totalmente os adultos de *T. castaneum* (MELO et al., 2015).

O óleo da citronela (*Cymbopogon* spp), muito utilizado como repelente de insetos, e assim como o capim-limão é uma planta aromática que fornece matéria prima para fabricação de repelentes contra mosquitos e borrachudos. Com óleo rico em citronelal e geraniol, já o óleo essencial de capim limão, mesmo sendo do mesmo gênero é rico em nerol e citral (AGUIAR-MENEZES, 2005), sendo o citral o composto em maior quantidade em plantas de capim-limão.

Plantas de losna são comumente utilizadas na medicina popular e apresentam ação inseticida. É uma planta rica em óleo essencial, terpenos e absintina (OMER et al., 2007). Em experimentos com óleo essencial de losna aplicado sobre grãos de trigo em diferentes doses e tempo, sendo contatado efeito inseticida e repelente a *Tribolium castaneum* Herbst, 1797 (Coleoptera: Tenebrionidae), na dosagem de 60 μ L e maior mortalidade observada após 48 horas (CAMPOS et al, 2013). Provavelmente esta ação de repelência pode ter causado diminuição no parasitismo em *T. pretiosum*.

A testemunha positiva (clorpirifós) proporcionou redução no parasitismo sendo classificada como moderadamente nocivo (classe 3) (Tabela 2). Indicando que o produto penetra através do córion e atingindo o parasitoide mesmo com a proteção da pupa (SCHULD; SCHMUCK, 2000), e também a possibilidade de ingestão de resíduos na abertura do orifício de emergência do parasitoide (CÔNSOLI et al.; 2001).

Quanto a viabilidade no parasitismo, todos os tratamentos foram classificados como inócuo (classe 1) inclusive a testemunha negativa (clorpirifós), mesmo com as menores porcentagens na capacidade de parasitismo (98,53; 99,16 e 96,71 respectivamente) nos três dias avaliados (Tabela 3).

Os parasitoides receberam os tratamentos em fase de pupa, prestes a emergir, neste estágio do desenvolvimento, além da proteção do corion estão

protegidos também pelo envoltório formado pela pupa. Estes microhimenópteros apresentam o desenvolvimento embrionário e larval no interior do ovo de lepidópteros pragas (AYVAZ et al., 2008), sob a proteção do córion do ovo do hospedeiro o que acaba atuando como proteção para o parasitoide (BUENO et al., 2008; CARMO et al., 2010). Portanto a aplicação dos tratamentos foi bloqueada por essas barreiras, ocorrendo alta viabilidade.

Diante disso, pode-se afirmar que os extratos de guaco, losna e capim-limão proporciona ação seletiva em pupas de *T. pretiosum*.

Tabela 2 - Parasitismo de *Trichogramma pretiosum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) sobre ação dos tratamentos em fase de pupa. Botucatu, SP, 2017. Temperatura 25±2°C, UR 70±10% e fotofase de 14 horas

Tratamentos	1° D.A.E ¹			2° D.A.E ¹			3° D.A.E ¹			TOTAL		
	P (%) ²	% E ³	C ⁴	P (%) ²	% E ³	C ⁴	P (%) ²	% E ³	C ⁴	P (%) ²	% E ³	C ⁴
Alecrim	63,08±0,75 cd	21,60	1	57,52±0,58 b	15,83	1	34,92±0,43 b	13,03	1	155,52±0,41 b	17,98	1
Guaco	65,92±6,17 bc	18,07	1	46,75±1,76 c	31,59	2	15,15±0,83 de	62,27	2	127,82±1,90 de	32,80	2
Erva-Baleeira	75,27±4,81 ab	6,44	1	57,51±2,36 b	15,85	1	10,98±0,77 f	72,88	2	143,76±1,79 c	24,13	1
Erva-sta-maria	65,62±3,53 bc	18,45	1	44,74±1,63 c	34,53	2	23,30±1,93 c	42,01	2	133,66±0,65 cd	29,62	1
Assa-peixe	66,90±6,67 bc	16,85	1	42,47±2,35 cd	37,85	2	22,50±1,55 c	43,96	2	131,78±2,51 d	30,68	2
Boldo-chinês	63,77±3,05 cd	20,74	1	46,40±1,87 c	32,12	2	20,12±1,57 c	49,91	2	130,29±1,02 d	31,83	2
Mirra	59,81±7,11 cd	25,67	1	59,70±4,37 b	12,65	1	12,18±2,43 ef	69,68	2	131,69±1,27 d	30,04	2
Losna	55,85±4,44 e	30,59	2	33,28±3,29 e	51,31	2	9,15±0,56 f	77,20	2	98,28±2,23 f	48,02	2
Capim-limão	64,12±3,74 cd	20,32	1	37,20±2,89 de	45,57	2	16,36±1,40 d	59,26	2	117,68±0,36 e	38,35	2
Água destilada	80,46±1,71 a	0,00	1	68,34±1,55 a	0,00	1	40,16±1,37 a	0,00	1	188,96±1,19 a	0,00	1
Clorpirifós	12,93±0,99 f	83,94	3	15,31±1,52 f	77,60	2	2,48±0,23 g	93,82	3	30,72±0,68 g	84,12	3
CV (%)	7,48			5,47			7,99			3,5		

Médias ± Erro Padrão seguidos pela mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey (P>0,05).

¹D.A.E: Dia (s) após a emergência; ²Parasitismo; ³Redução na capacidade de parasitismo; ⁴Classes: classe 1 - inócuo (E < 30%), classe 2 - levemente nocivo (30 ≤ E ≤ 79%), classe 3 - moderadamente nocivo (80 ≤ E ≤ 99%) e classe 4 - nocivo (E > 99%).

Tabela 3 - Viabilidade de *Trichogramma pretiosum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) sobre ação dos tratamentos em fase de pupa. Botucatu, SP, 2017. Temperatura 25±2°C, UR 70±10% e fotofase de 14 horas

Tratamentos	1° D.A.E ¹			2° D.A.E ¹			3° D.A.E ¹			TOTAL		
	V (%) ²	% E ³	C ⁴	V (%) ²	% E ³	C ⁴	V (%) ²	% E ³	C ⁴	V (%) ²	% E ³	C ⁴
Alecrim	99,56±0,14 ab	0,14	1	99,62±0,19 a	0,18	1	99,45±0,72 b	9,45	1	298,63±0,33 c	0,31	1
Guaco	99,50±0,25 ab	0,21	1	99,60±0,24 a	0,21	1	99,22±0,39 a	0,66	1	298,32±0,11 ab	0,30	1
Erva-Baleeira	99,50±0,26 ab	0,20	1	99,71±0,11 a	0,09	1	99,35±0,24 a	0,54	1	298,56±0,14 ab	0,30	1
Erva-sta-maria	99,20±0,37 ab	0,50	1	99,57±0,31 a	0,23	1	99,71±0,13 a	0,18	1	298,48±0,24 ab	0,30	1
Assa-peixe	99,71±0,04 a	0,00	1	99,43±0,48 a	0,38	1	99,43±0,27 a	0,46	1	298,56±0,19 ab	0,30	1
Boldo-chinês	99,66±0,33 a	0,04	1	99,64±0,22 a	0,17	1	99,20±0,82 a	0,69	1	298,58±0,23 ab	0,30	1
Mirra	99,39±0,53 ab	0,68	1	99,61±0,16 a	0,19	1	99,23±0,56 a	0,65	1	298,23±0,28 ab	0,30	1
Losna	99,44±0,23 ab	0,27	1	99,17±0,65 a	0,63	1	99,42±0,49 a	0,46	1	298,10±0,27 ab	0,29	1
Capim-limão	99,60±0,38 ab	0,10	1	99,31±0,49 a	0,50	1	99,35±0,33 a	0,54	1	298,26±0,34 ab	0,30	1
Água destilada	99,70±0,12 a	0,00	1	99,80±0,13 a	0,00	1	99,89±0,11 a	0,00	1	299,39±0,09 a	0,00	1
Clorpirifós	98,53±1,50 b	1,18	1	99,16±0,68 a	0,65	1	96,71±1,54 a	3,18	1	294,48±0,88 b	1,67	1
CV (%)	0,52			0,41			1,57			0,45		

Médias ± Erro Padrão seguidos pela mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey (P>0,05).

¹D.A.E: Dia (s) após a emergência; ²Viabilidade; ³Redução na capacidade de viabilidade; ⁴Classes: classe 1 - inócuo (E < 30%), classe 2 - levemente nocivo (30 ≤ E ≤ 79%), classe 3 - moderadamente nocivo (80 ≤ E ≤ 99%) e classe 4 - nocivo (E > 99%).

2.3.2 Efeitos sub letais dos extratos a pupas de *T. pretiosum*

Quando o parasitismo de fêmeas que emergiram de ovos que receberam o tratamento, a média de ovos parasitados, no primeiro dia foi de 25 ovos nos tratamentos com água destilada (testemunha negativa), alecrim, guaco, erva-baleeira, erva-de-santa-maria, assa-peixe, boldo-chinês e losna diminuindo com a idade das fêmeas. O tratamento com o extrato de mirra proporcionou menor quantidade de ovos parasitados no primeiro dia (18 ovos) e também diminuição no parasitismo com a longevidade das fêmeas (Figura 1). Esse decréscimo no parasitismo ocorre naturalmente entre os parasitoides mesmo quando não expostos aos efeitos de produtos formulados (PRATISSOLI et al., 2004; BUENO, 2008).

As fêmeas que emergiram dos ovos que foram tratadas com os extratos de alecrim e guaco apresentaram variação na oviposição nos seis primeiros dias em relação a testemunha negativa (água) (Figura 1).

Em torno de 7,5 dias os tratamentos com água destilada, alecrim, guaco, erva-baleeira, erva-de-santa-maria, boldo-chinês, mirra, losna e capim-limão atingiram 80 % de parasitismo, somente o tratamento com assa-peixe apresentou no sexto dia 80% de parasitismo acumulado, a testemunha positiva (clorpirifós) teve em média de quatro ovos parasitados inicialmente, com 80% de parasitismo acumulado com 2,5 dias (Figura 1).

Em testes de seletividade em que ocorreu baixo número de insetos que emergiram quando ovos parasitados foram mergulhados na calda do inseticida Lorsban® e, pelo fato desses estarem debilitados e morrerem logo após a emergência, não foi possível a avaliação do efeito do produto nas gerações seguintes (PAIVA, 2016). Indicando que o produto pode penetrar através do córion, comprometendo a capacidade de parasitismo dos parasitoides que emergirem (SCHULD; SCHMUCK, 2000).

Quando foi avaliada a longevidade e número de ovos acumulados de fêmeas adultas, que receberam os tratamentos na fase de pupa, os extratos de guaco, erva-baleeira, erva-de-santa-maria, assa-peixe, boldo-chinês, mirra e losna proporcionaram número maior de ovos parasitados por fêmeas com relação a testemunha negativa (água), assim como na longevidade das fêmeas (Tabela 4).

Os extratos de alecrim e o capim-limão apresentaram diminuição na longevidade, assim como no número de ovos parasitados. (Tabela 4). Em testes

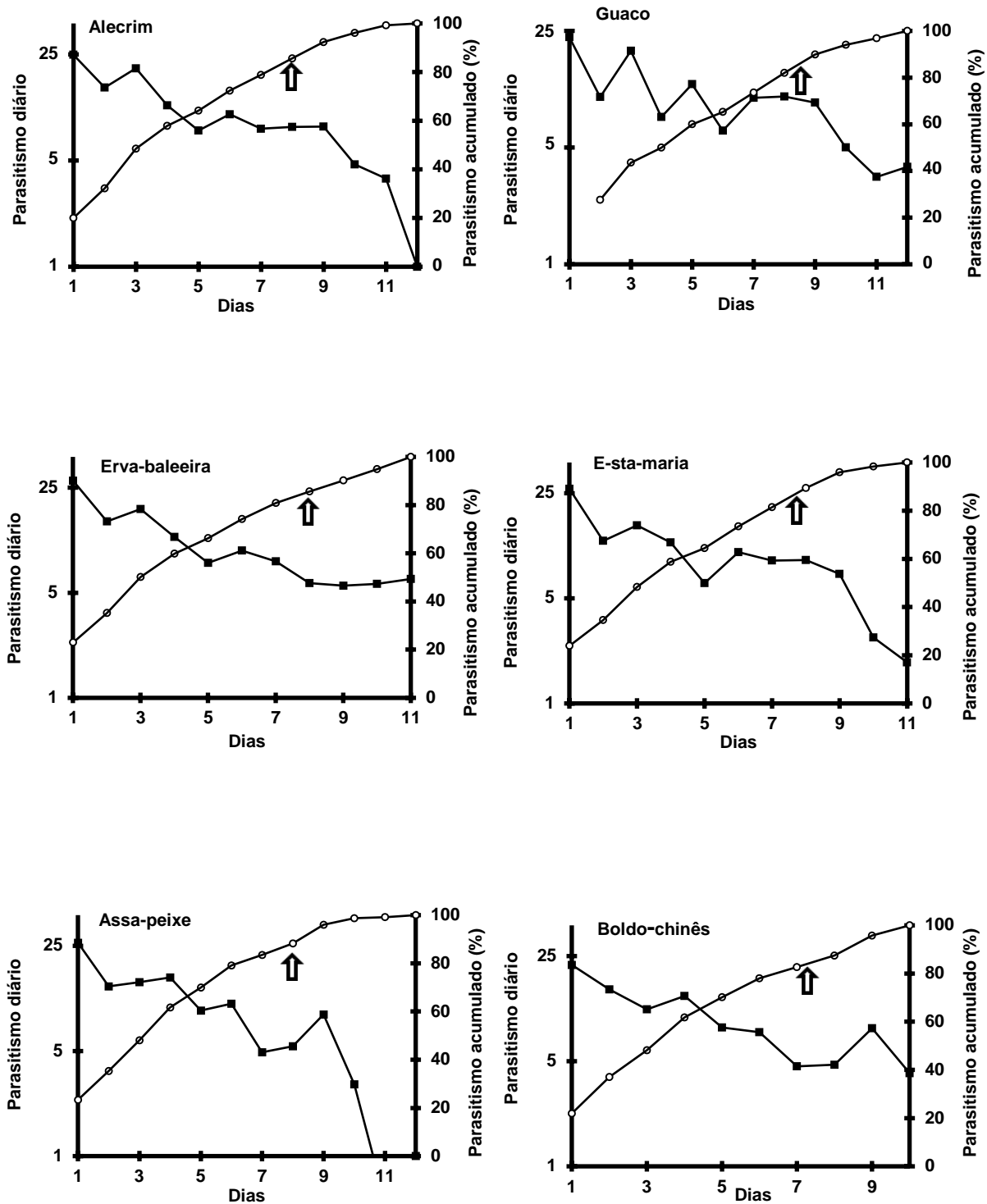
com extrato aquoso de alecrim, onde o extrato foi preparado com as folhas imersas em metanol por 48 horas, o metanol foi evaporado por meio de rotavapor, 0,070 gramas foi dissolvido em 8 mL de solução aquosa de tween 80 a 1%, folhas de café infestadas com *Leucoptera coffeella*, Guérin-Mènevill e Perrottet, 1842, (Lepidoptera: Lyonetiidae) mergulhadas na solução por 10 min, após 48 hs foram avaliadas e constatada mortalidade de 27 % das larvas, sendo atribuída a ação inseticida ao grupo de terpenos presentes nesta planta (ALVES et al, 2013).

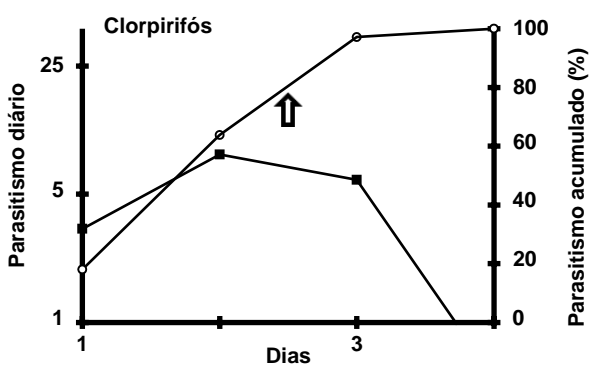
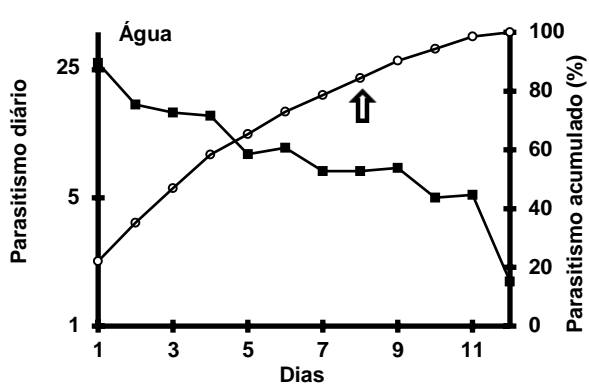
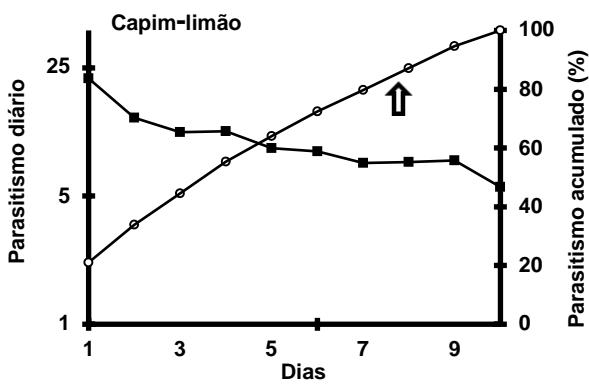
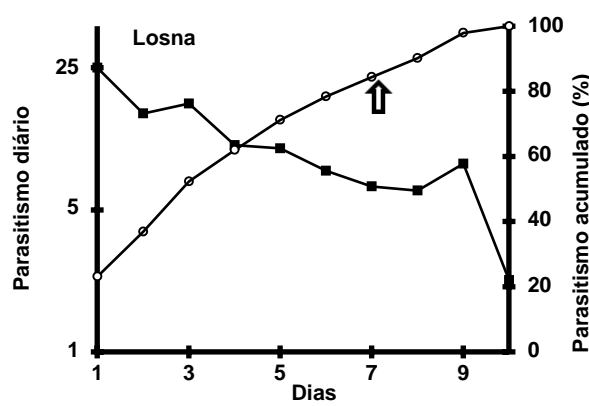
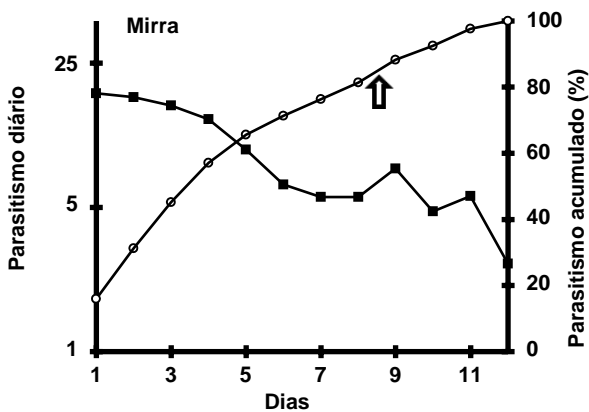
Em testes de eficácia de extrato aquoso de folhas de capim limão na concentração de 224 mg/mL de extrato em larvas de nematódeos da superfamília *Strongyloidea*, obtiveram 95% de mortalidade (ALMEIDA et al., 2003). Em larvas de *Musca domestica* Linnaeus, 1758 (Diptera: Muscidae) utilizando concentração de 1% de citral foi verificado mortalidade de 100%, demonstrando que o capim limão possui propriedades larvicidas (ZAFALON et al., 2006).

A testemunha negativa (clorpirifós) um inseticida organofosforado, que age inibindo a transmissão do impulso nervoso através das sinapses. Muito testado em avaliações de seletividade o ingrediente ativo clorpirifós é comprovadamente tóxico em espécies de *Trichogramma* (AMARO et al., 2015;). Contudo, dependendo da época em que o inseticida foi aplicado, não foi observado interferência na emergência dos parasitoides (MAIA et al., 2013), assim como foi constatado neste estudo, onde ovos parasitados que receberam a pulverização com clorpirifós, ocorreu emergência, no entanto apresentou interferência no parasitismo e longevidade dos adultos (Tabela 4).

O extrato de capim-limão apresenta ação seletiva e efeitos sub letais em pupas de *T. pretiosum*, os demais extratos avaliados necessitam de testes adicionais para confirmação, pois proporcionaram ação inseticida pontual nos diferentes ensaios.

Figura 1 - Parasitismo diário e acumulado de *Trichogramma pretiosum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) sobre ação dos tratamentos em fase pupal. Temperatura $25\pm 2^{\circ}\text{C}$, UR $70\pm 10\%$ e fotofase de 14 horas. Botucatu, SP, 2017.





Legenda Parasitismo

- Diário Parasitismo
- Acumulado %
- ↑ 80% de Parasitismo

Tabela 4 - Parâmetros biológicos de *Trichogramma pretiosum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) sobre ação dos tratamentos na fase de pupa. Temperatura 25±2°C, UR 70±10% e fotofase de 14 horas. Botucatu, SP, 2017.

Tratamento	Número total de ovos parasitados/fêmea			Longevidade (dias)		
	Média	±	Letra	Média	±	Letra
Alecrim	78,09	± 1,02	e	4,50	± 0,12	e
Guaco	98,60	± 1,08	bc	8,40	± 0,22	bc
Erva-Baleeira	101,36	± 0,63	b	7,45	± 0,23	bcd
Erva-Sta-Maria	101,18	± 0,60	b	7,54	± 0,12	bcd
Assa-peixe	95,90	± 0,73	c	7,40	± 0,12	cd
Boldo-Chinês	85,70	± 0,75	d	7,30	± 0,26	d
Mirra	94,90	± 0,73	c	8,50	± 0,16	b
Losna	82,20	± 0,86	de	6,60	± 0,12	d
Capim-Limão	60,50	± 1,46	f	4,50	± 0,12	e
Água Destilada	107,09	± 0,38	a	9,63	± 0,21	a
Clorpirifós	0,53	± 0,17	g	1,20	± 0,09	f
CV (%)	4,56			11,38		

Médias ± Erro Padrão seguidos pela mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey (P>0,05).

REFERÊNCIAS

- AGUIAR-MENEZES, E. L. Inseticidas botânicos: seus princípios ativos, modo de ação e uso agrícola. Embrapa Agrobiologia, Documentos, 205. **Embrapa**. Centro Nacional de Pesquisa de Agrobiologia. 58 p., 2005.
- ALMEIDA, M.A.O. et al. Efeitos dos extratos aquosos de folhas *Cymbopogon citratus* (DC.) Staph (Capim-santo) e de *Digitaria insularis* (L.) Fedde (capim- açu) sobre cultivos de larvas de nematóides gastrintestinais de caprinos. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v.12, p.125-129, 2003.
- ALVES, D.S. et al. Selection of active plant extracts against the coffee leaf miner *Leucoptera coffeella* (Lepidoptera: Lyonetiidae). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais** v.15, p.352-362, 2013.
- AMARO, J.T.; BUENO, A.F.; POMARI-FERNANDES, A.F.; NEVES, P.M.O.J. Selectivity of organic products to *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae). **Neotropical Entomology**, v.44, p.489-497, 2015.
- ANSANTE, T. F. et al. Secondary metabolites from Neotropical Annonaceae: screening, bioguided fractionation, and toxicity to *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae). **Industrial Crops and Products**, v.74, p.969-976, 2015.
- AYVAZ, A.; ALBAYRAK, S.; KARABORKLU, S. Gamma radiation sensitivity of the eggs, larvae and pupae of Indian meal moth *Plodia interpunctella* (Hübner) (Lepidoptera: Pyralidae). **Pest Management Science**, v.64, p.505-512, 2008.
- BASER, K. H. C.; BUCHBAUER, G. Handbook of essential oils; science, technology, and applications **CRC Press**, p. 994, 2012.
- BATISTA, L.C.S.O. et al. Bioprospecção de extratos de jaborandi contra *Ctenocephalides felis felis*, *Rhipicephalus sanguineus* e *Rhipicephalus microplus*. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, v.35, p.113-118, 2013.
- BUENO, A. F. Efeitos dos agroquímicos utilizados na cultura da soja ao parasitóide de ovos *Trichogramma pretiosum*. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.38, p.1495-1503. 2008.
- CALDERÓN-MONTANO J.M.; BURGOS-MORÓN E.; PÉREZ-GUERRERO C.; LÓPEZ-LÁZARO M. A Review on the Dietary Flavonoid Kaempferol. **Mini-Reviews in Medicinal Chemistry** v.11, p.298-344, 2011.
- CAMPOS, A.C.T. et al. Bioatividade do óleo essencial de losna (*Artemisia absinthium* L.) sobre *Tribolium castaneum*. **Cadernos de Agroecologia**, v.8, n.2, 2013.
- CARMO, E.L. et al. Seletividade de produtos fitossanitários utilizados na cultura da soja para pupas de *Trichogramma pretiosum* Riley, 1879 (Hymenoptera: Trichogrammatidae). **Arquivos do Instituto Biológico**, v.77, p.283-290, 2010.
- CÔNSOLI, F.L.; ROSSI, M.M.; PARRA, J.R.P. Developmental time and characteristics of the immature stages of *Trichogramma galloi* and *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera, Trichogrammatidae). **Revista Brasileira de Entomologia**, v.43, p.271-275, 1999.

- CÔNSOLI, F.L.; BOTELHO, P.S.M.; PARRA, J.R.P. Selectivity of insecticides to the egg parasitoid *Trichogramma galloi* Zucchi, 1988, (Hym., Trichogrammatidae). **Journal of Applied Entomology**, v.125, p.34-43, 2001.
- DESNEUX, N.; DECOURTYE, A.; DELPUECH, J.M. The Sublethal Effects of Pesticides on Beneficial Arthropods. **Annual Review of Entomology**, v.52, p.81-106. 2007.
- DEGRANDE, P.E.; REIS, P.R.; CARVALHO, G.A.; BELARMINO, L.C. Metodologia para avaliar o impacto de pesticidas sobre inimigos naturais. In: PARRA, J.R.P.; BOTELHO, P.S.M.; CORRÊAFERREIRA, B.S.; BENTO, J.M.S. (Ed.). Controle biológico no Brasil: parasitóides e predadores. v.5, p.71-93, 2002.
- FERREIRA, M.M.; MOORE, S.J. Plant-based insect repellents: a review of their efficacy, development and testing. **Malar J**, v.10, p.2–15, 2011.
- HASSAN, S.A. Guidelines for testing the effects of pesticides on beneficial organisms: description of test methods. In: Guidelines for testing the effects of pesticides on beneficial organism, **Bulletin OILB/SROP**, p.18-39, 1992.
- HASSAN, S.A. et al. A laboratory method to evaluate the side effects of plant protection products on *Trichogramma cacoeciae* Marchal (Hymenoptera: Trichogrammatidae). In: CANDOLFI, M.P.; BLÜMEL, S.; FORSTER, R.; BAKKER, F.M.; GRIMM, C.; HASSAN, S.A.; HEIMBACH, U.; MEADBRIGGS, M.A.; REBER, B.; SCHMUCK, R.; VOGT, H. (eds.): Guidelines to evaluate side-effects of plant protection products to non-target arthropods. **Reinheim: IOBC/WPRS**, p.107-119, 2000.
- KAUR, R.; RUP, P.J. Evaluation of regulatory influence of four plant growth regulators on the reproductive potential and longevity of melon fruit fly (*Bactrocera cucurbitae*). **Phytoparasitica**, v.30, p.224-230, 2002.
- MAIA, J.B.; CARVALHO, G.A.; LEITE, M.I.S.; OLIVEIRA, R.L.; MAKYAMA, L. Selectivity of insecticides used in corn crops to adult *Trichogramma atopovirilia* (Hymenoptera: Trichogrammatidae). **Revista Colombiana de Entomología**, v.36, p.202-206, 2010.
- MANZONI, C.G. et al. Seletividade de agroquímicos utilizados na produção integrada de maçã aos parasitoides *Trichogramma pretiosum* Riley e *Trichogramma atopovirilia* Oatman & Platner (Hymenoptera: Trichogrammatidae). **Bio Assay**, v.2, p.1-11, 2007.
- MATOS, F. J.A. Plantas Mediciniais – guia de seleção e emprego de plantas usadas em fitoterapia no nordeste do Brasil. **Edições UFC**, 344p, 2002.
- MELO, B.A.; ALMEIDA F.A.C.; SILVA J.F.; SILVA R.M. Atividade inseticida do óleo de *Copaifera langsdorffii* Desf.(copaiba) sobre *Tribolium castaneum* (Coleoptera: Tenebrionidae) **Revista Cubana de Plantas Medicinales** v.20, n.4, 2015.
- OMER, B. et al. Steroid-sparing effect of wormwood (*Artemisia absinthium*) in Crohn´s disease: a double-blind placebo-controlled study. **Phytomedicine**, v.14, p.87-95, 2007.

PAIVA, A.C.R. Toxicidade e efeito subletal dos principais inseticidas utilizados na cultura da soja para *Trichogramma pretiosum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) Dissertação (doutorado em Entomologia), ESALQ\USP, 64p., 2016.

PANIZZA, S. Plantas que curam (Cheiro de Mato), **IBRASA**, 280p, 1998.

PARRA, J.R.P. Mass rearing of egg parasitoids for biological control programs. In: CÔNSOLI, F.L.; PARRA, J.R.P.; ZUCCHI, A. Egg parasitoids in agroecosystems with emphasis on *Trichogramma*. **Springer**, v.10, p.267-292, 2010.

PARRA, J.R.P.; ZUCCHI, R.A.; COELHO JR., A.; GEREMIAS, L.D.; CÔNSOLI, F.L., *Trichogramma* as a tool for IPM in Brazil. In: Vinson, B., Greenberg, S.M., Liu, T., Rao, A., Volosciuk, L.F. (Eds.), *Augmentative Biological Control using Trichogramma spp. Current Status and Perspectives*, p.472-496, 2015.

PRATISSOLI, D.; PEREIRA, F.F.; BARROS, R.; PARRA, J.R.P.; PEREIRA, C.L.T. Parasitismo de *Trichogramma pretiosum* em ovos da traça-das-crucíferas sob diferentes temperaturas. **Horticultura Brasileira**, v.22, p.754-757, 2004.

PUYVELDE-VAN, L.; De KIMPE, N. Tetradenolide, an a-pyrone from *Tetradenia riparia*. *Phytochemistry*, 115p, 1998.

QUERINO, R.B.; ZUCCHI, R.A. Guia de Identificação de *Trichogramma* para o Brasil. **Embrapa Informação Tecnológica**, 103p., 2011.

SCHULD, M.; SCHMUCK, R. Effects of thiacloprid, a new chloronicotinil insecticide, on the egg parasitoid *Trichogramma cacoeciae*. **Ecotoxicology**, v.9, p.197-205, 2000.

SERTIÉ, J.A.A., et al. Pharmacological assay of cordia verbenacea: Part II. Anti-inflammatory activity and sub-acute toxicity of artemetion. *Planta Médica*, p-36-40, 1990.

STERK, G. et al. Results of the seventh joint pesticide testing programme carried out by the IOBC/WPRS- Working Group 'Pesticides and Beneficial Organisms'. **BioControl**, v.44, p.99-117, 1999.

SOUSA, M.P.; MATOS, F.J.A. Constituintes químicos de plantas medicinais brasileiras, **Impressão Universitária/UFC**, 416p, 1991.

ZAFALON, A.S. Influência de citral e citronelal, em diferentes concentrações, sobre larvas de *Musca domestica* (diptera: muscidae). **XVI Congresso de Iniciação científica da Faculdade de Agronomia**, 2006.

VASQUES, E.A.; GUTE, H. J.; ROSS, G. Chemical and biological studies on essential oil of *Coleus anboinicus* Lour. *Medicinal Plant Research*, p.66, 1998.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Pode-se afirmar que o extrato botânico aquoso de capim-limão apresentou baixa seletividade com efeitos sub letais a *T. pretiosum* nas fases de adultos e pupas. Os extratos botânicos aquosos de guaco, erva-de-santa-maria proporcionam baixa seletividade e também efeitos sub letais em adultos de *T. pretiosum*. Os demais extratos botânicos aquosos necessitam de avaliações mais específicas.

Em testes de seletividade se faz necessário avaliações em outras espécies de *Trichogramma* spp, pois em vários autores obtiveram diferentes resultados ao analisarem mais de uma espécie e também espécies de hospedeiros. E ressaltando a necessidade das avaliações dos efeitos sub letais em complementação aos testes propostos pela IOBC, onde a individualização das fêmeas, expostas a ovos ao parasitismo pulverizados com os tratamentos ou emergentes de pupas tratadas, simula uma maior proximidade com situações de campo, mesmo assim são necessárias pesquisas em nível de casa de vegetação e campo, para definição da seletividade ou não dos produtos aos inimigos naturais.

REFERÊNCIAS

- AYVAZ, A.; ALBAYRAK, S.; KARABORKLU, S. Gamma radiation sensitivity of the eggs, larvae and pupae of Indian meal moth *Plodia interpunctella* (Hübner) (Lepidoptera: Pyralidae). **Pest Management Science**, Sussex, v.64, p.505–512, 2008.
- BAHLAI, C. A.; XUE, Y.; MCCREARY, C. M.; SCHAAFSMA, A. W.; HALLETT, R. H. Choosing organic pesticides over synthetic pesticides may not effectively mitigate environmental risk in soybeans. **PLoS ONE**, v.5, p.1-7, 2010.
- BORTOLOTTO, O.C. et al. The use of soybean integrated pest management in Brazil: a review. **Agronomy Science and Biotechnology**, v.1, p.25-32, 2015.
- BUENO, R.C.O.F.; PARRA, J.R.P.; BUENO, A. F. *Trichogramma pretiosum* parasitism of *Pseudoplusia includens* and *Anticarsia gemmatilis* eggs at different temperatures. **Biological Control**, Maryland Heights, v. 60, p. 154-162, 2012.
- CÔNSOLI, F.L.; ROSSI, M.; PARRA, J.R.P. Developmental time and characteristics of the immature stages of *Trichogramma galloi* and *Trichogramma pretiosum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae). **Revista Brasileira de Entomologia**, V.43, p.271-275, 1999.
- DEGRANDE, P. E. Otimização e prática da metodologia da IOBC para avaliar o efeito de pesticidas sobre *Trichogramma cacoeciae* (Trichogrammatidae) e *Chrysoperla carnea* (Chrysopidae). Tese (doutorado em Entomologia), ESALQ\USP, 109p., 1996.
- FOERTER, L.A. Seletividade de inseticidas a predadores e parasitoides. In: PARRA, J.R.P.; BOTELHO, P.S.M.; CORRÊA-FERREIRA, B.S.; BENTO, J.M.S. Controle biológico no Brasil: parasitoides e predadores. **Scientia Agricola**, v.71, p.420-429, 2014.
- GAUER, A.R.; MAGANO, D.A.; SILVA, M.S.; ZIMMER, M.; GRÜTZMACHER, A.D. Efeito de inseticidas piretróides sobre pupas do parasitóide de ovos *Trichogramma pretiosum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae). 2014. Disponível em: <http://ufpel.edu.br/ckc/2011/anais/pdf/CA/CA_01496.pdf>. Acesso em: 15 nov. 2017.
- KUMAR, A.; PAUL, A.V.N.; ZAYEEM, A.; SINGH, A.K. The effect of leaf extract of rice varieties on foraging behaviour of *Trichogramma brasiliensis* and *Trichogramma exiguum*. **Indian Journal of Entomology**, v.1, p.1-7, 2011.
- PARRA, J.R.P. Biological Control in Brazil an Overview. **Scientia Agricola**, v.71, p.420-429, 2014.
- PARRA, J.R.P.; ZUCCHI, R.A. *Trichogramma* in Brazil: feasibility of the use after twenty years of research. **Neotropical Entomology**, v.33, p.271-281, 2004.
- RIPPER, W.E.; GREENSLADE, R.M.; HARTEY, G.S. Selective insecticides and biological control. **Journal of Economic Entomology**, v.44, p.448-458, 1951.

SINGH, U.P.; GUPTA, S.; MANGLIK, M.; KUMAR, A. Impact of three Synomonal extracts on associative learning behaviour of *Chrysoperla carnea* (Stephens) (Neuroptera: Chrysopidae). **New Science College**, v.2, p.145-152, 2018.

SIQUEIRA, J.R.; BUENO, R.C.O.F.; BUENO, A.F.; VIEIRA, S.S. Preferência hospedeira do parasitoide de ovos *Trichogramma pretiosum*. **Ciência Rural**, v.42, p.1-5, 2012.