

BIOLOGICAL CONTROL

Susceptibilidade de Adultos de *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae) a Fungicidas Utilizados no Controle de Doenças da Macieira

CRISTIANE G. MANZONI, ANDERSON D. GRÜTZMACHER, FABRIZIO P. GIOLO, CRISLAINE A.B. DE LIMA
SANDRO D. NÖRNBERG, CRISTIANE MÜLLER E WAGNER DA R. HÄRTER

Depto. Fitossanidade, Faculdade de Agronomia "Eliseu Maciel", Univ. Federal de Pelotas - UFPel Campus
Universitário, C. postal 354, 96.010-900, Pelotas, RS

Neotropical Entomology 35(2):223-230 (2006)

Susceptibility of *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae) Adults to Fungicides Used to Control Apple Diseases

ABSTRACT - This study evaluated the susceptibility under laboratory conditions of *Trichogramma pretiosum* Riley adults to fungicides recommended by the Integrated Production of Apple (IPA). The bioassays were carried out using the International Organization for Biological Control (IOBC), West Palearctic Regional Section (WPRS) standard protocols. Twelve selected fungicides were studied in the doses (g or ml active ingredient/100 L) captan 1 (0.115), captan 2 (0.120), kresoxim-methyl (0.010), sulphur 1 (AG) (0.480), sulphur 2 (0.480), folpet (0.105), mancozeb (0.160), pyraclostrobin (0.010), tebuconazole (0.010), tetraconazole (0.005), thiophanate-methyl (0.050) and triforine (0.024). Distilled water was used as the blank treatment and the insecticide trichlorfon (0.150) as a positive control. The parasitoids were exposed to dry residues applied on glass plates. The reduction in the capacity of parasitism was used to measure the effect of the chemical in comparison to the blank treatment. Each treatment was replicated four times. The results allowed us to classify the fungicides tested in four categories: 1, harmless (< 30%); 2, slightly harmful (30-79%); 3, moderately harmful (80-99%); and 4, harmful (> 99%). 75% of the tested substances were classified as selective (classes 1 and 2) to the parasitoid. The fungicides captan 1, captan 2, kresoxim-methyl, folpet, pyraclostrobin, tebuconazole, thiophanate-methyl and triforine were harmless; mancozeb was slightly harmful; sulphur 1 (AG) and tetraconazole were moderately harmful and sulphur 2 was harmful. These findings should be taken into account when selecting fungicides to spray apple orchards against fungi diseases to preserve the egg parasitoid *T. pretiosum*.

KEY WORDS: Insecta, egg parasitoid, pesticide, *Malus domestica*, Integrated Fruit Production

RESUMO - Este trabalho objetivou avaliar a susceptibilidade em condições de laboratório de adultos do parasitóide de ovos *Trichogramma pretiosum* Riley a fungicidas utilizados na Produção Integrada da Maçã (PIM). Os bioensaios foram conduzidos utilizando-se protocolos padrões da Organização Internacional para o Controle Biológico (IOBC), Seção Regional Paleártica Oeste (WPRS). Foram testados doze fungicidas nas respectivas doses (g ou ml ingrediente ativo/100 L) captana 1 (0,115), captana 2 (0,120), cresoxim-metilico (0,010), enxofre 1 (AG) (0,480), enxofre 2 (0,480), folpete (0,105), mancozebe (0,160), piraclostrobina (0,010), tebuconazol (0,010), tetraconazol (0,005), tiofanato-metilico (0,050) e triforina (0,024). Adicionalmente, utilizou-se água destilada como testemunha negativa e o inseticida triclorfom (0,150) como testemunha positiva. Adultos do parasitóide foram expostos a resíduos dos tratamentos depositados sobre placas de vidro, sendo avaliadas as reduções no parasitismo em relação à testemunha (somente água). Cada tratamento teve quatro repetições. Os resultados permitiram classificar os fungicidas quanto ao impacto sobre os parasitóides em quatro classes: 1, inócuo (< 30%); 2, levemente nocivo (30-79%); 3, moderadamente nocivo (80-99%); e 4, nocivo (> 99%). Dentre os fungicidas testados, 75% foram considerados seletivos (classes 1 e 2) ao parasitóide. Os fungicidas captana 1, captana 2, cresoxim-metilico, folpete, piraclostrobina, tebuconazol, tiofanato-metilico e triforina foram inócuos; mancozebe foi levemente nocivo; enxofre 1 (AG) e tetraconazol foram moderadamente nocivos e enxofre 2 foi nocivo. Estes resultados devem ser levados em consideração quando utilizamos fungicidas no controle de doenças fúngicas em pomares de macieira, preservando assim, o parasitóide de ovos *T. pretiosum*.

PALAVRAS-CHAVE: Insecta, parasitóide de ovos, pesticida, *Malus domestica*, Produção Integrada de Frutas

A produção brasileira de maçãs está concentrada na Região Sul, que é responsável por mais de 99% da produção nacional. Na safra 2004, o Brasil produziu cerca de 973 mil toneladas de maçã, através do cultivo de 32.848 ha, sendo 17.644 ha em Santa Catarina e 13.447 hectares no Rio Grande do Sul (IBGE 2005). Na safra 2002-2003, 8.660 hectares de pomares comerciais foram conduzidos de acordo com as Normas da Produção Integrada da Maçã (PIM), algo que representou 30% da área total plantada no País (Sanhueza *et al.* 2003).

O mercado europeu, um dos principais consumidores e importadores de maçãs, tem valorizado cada vez mais o aspecto qualitativo do produto adquirido (Sanhueza *et al.* 2003). A fim de que tais exigências possam ser atendidas, alternativas que contribuam para menor deposição de resíduos tóxicos no produto comercializado são altamente benéficas. Neste particular, a utilização do controle biológico para convívio com os insetos que ocorrem atacando a macieira merece destaque.

Dentre os inimigos naturais, os parasitóides do gênero *Trichogramma* são cosmopolitas e atacam insetos-praga em diferentes cultivos. *Trichogramma pretiosum* Riley, é a espécie mais amplamente distribuída na América do Sul, além de ser a mais polífaga, tendo sido associada a 26 espécies de hospedeiros (Pinto 1997). No Brasil já foram constatadas 14 espécies de *Trichogramma* e *T. pretiosum* é a mais amplamente distribuída, tendo sido relatada em 18 diferentes hospedeiros e 13 culturas (Zucchi & Monteiro 1997). Na cultura da macieira, no Sul do Brasil, Lorenzatto (1988) já menciona o parasitismo de ovos da lagarta-enroladeira *Bonagota cranaodes* (Meyrick) (Lepidoptera: Tortricidae), importante inseto-praga da macieira, por *Trichogramma* sp. Recentemente, Monteiro *et al.* (2004), também relataram o parasitismo de *T. pretiosum* em posturas do mesmo lepidóptero em pomares comerciais de maçã de Fraiburgo, SC. Na América do Norte, Pinto *et al.* (2002) mencionaram o parasitismo de *T. pretiosum* em posturas de *Grapholita molesta* (Busck) (Lepidoptera: Tortricidae), outro importante lepidóptero-praga da cultura no Brasil.

Uma das limitações na utilização do parasitóide para o controle da lagarta-enroladeira e da grafolita é o fato de que ainda não é possível aos pomicultores abdicar totalmente do controle químico. Outro fator limitante é a carência de estudos com relação a testes de seletividade de pesticidas utilizados na cultura da maçã sobre artrópodes benéficos, existindo poucos trabalhos realizados até o momento. Estes estudos foram enfocados exclusivamente com predadores (ácaros e insetos), como por exemplo com *Neoseiulus californicus* (McGregor) (Acari: Phytoseiidae) (Monteiro 2001) e com *Chrysoperla externa* (Hagen) (Neuroptera: Chrysopidae) (Ferreira *et al.* 2005). Dessa forma, este é o primeiro trabalho realizado com parasitóide de ovos, mais especificamente do gênero *Trichogramma*, buscando avaliar o efeito de fungicidas utilizados no controle de doenças na cultura da macieira. O conhecimento de moléculas seletivas irá facilitar a integração dos métodos de controle químico e biológico, principalmente na Produção Integrada da Maçã (PIM).

Em função do potencial de utilização do parasitóide de

ovos *T. pretiosum* associado ao controle químico na Produção Integrada, realizou-se este trabalho com o objetivo de avaliar a seletividade de fungicidas recomendados na PIM a adultos de *T. pretiosum*, em condições de laboratório e utilizando-se da metodologia padrão preconizada pelo IOBC/WPRS.

Material e Métodos

Os experimentos foram executados seguindo protocolos recomendados pela IOBC/WPRS para bioensaios laboratoriais (Hassan 1998, Hassan *et al.* 2000 e Hassan & Abdelgader 2001).

Material biológico. Os estudos foram conduzidos com adultos do parasitóide *T. pretiosum* provenientes de criação em laboratório, realizadas em câmaras climatizadas (temperatura $25 \pm 1^\circ\text{C}$, umidade relativa $70 \pm 10\%$ e fotofase de 14h) e utilizando ovos do hospedeiro alternativo *Anagasta kuehniella* (Zeller) (Lepidoptera: Pyralidae). O hospedeiro foi criado segundo metodologia descrita por Parra (1997), sendo os ovos destinados ao parasitismo inviabilizados previamente sob em lâmpada germicida (Stein & Parra 1987).

Bioensaios de laboratório com adultos de *T. pretiosum*. Considerando as limitações logísticas da estrutura destinada à execução dos testes laboratoriais, a qual possibilita trabalhar somente com quatro pesticidas novos a cada bioensaio, os estudos de seletividade tiveram que ser agrupados em três experimentos, constituídos pelos seguintes tratamentos: Experimento I - captana 1, captana 2, enxofre 1 (AG) e mancozebe; Experimento II - enxofre 2, folpete, piraclostrobina e tebuconazol; Experimento III – cresoxim-metilico, tetraconazol, tiofanato-metilico e triforina. Os fungicidas testados são registrados para o uso em pomares de maçã e recomendados pelas Normas da PIM, tendo sido testados na máxima dose recomendada (Tabela 1). O protocolo da IOBC preconiza a inclusão de um padrão tóxico (testemunha positiva) nos estudos de seletividade como forma de avaliar a sensibilidade relativa do sistema insetos/teste. Dessa forma, o inseticida triclorfom (Dipterex 500) foi utilizado como testemunha positiva dos experimentos por ser reconhecidamente nocivo a parasitóides do gênero *Trichogramma* (Grützmaker *et al.* 2004) e também por estar registrado para a cultura da macieira. Na testemunha negativa, foi aplicada somente água destilada. Os testes de toxicidade foram conduzidos sob condições controladas de temperatura ($25 \pm 1^\circ\text{C}$), umidade relativa ($70 \pm 10\%$) e fotofase (14h). Foram utilizadas quatro repetições para cada tratamento, sendo dispostos no delineamento inteiramente casualizado.

Os fungicidas foram aplicados diretamente sobre placas de vidro (130 x 130 x 2 mm) com pulverizadores manuais plásticos (580 ml) da marca Guarany[®], calibrados para depositar $1,75 \pm 0,25$ mg de calda por cm^2 de superfície. O volume aplicado foi controlado através da pesagem das placas de vidro, em balança eletrônica de precisão, antes e após a aplicação. Depois de tratadas, as placas permaneceram à temperatura ambiente por 3h, até secagem completa da

Tabela 1. Pesticidas avaliados nos testes de seletividade a adultos de *T. pretiosum*, utilizando dose máxima recomendada do produto formulado pelas Normas da Produção Integrada da Maçã (PIM).

Nome técnico	Nome comercial	Classe ¹	Grupo químico	DC ²	C.i.a. ³	C.f.c. ⁴
Captana 1	Captan SC	F	Dicarboximida	240	0,115	0,240
Captana 2	Orthocide 500 PM	F	Dicarboximida	240	0,120	0,240
Cresoxim-metílico	Stroby SC	F	Estrobilurina	20	0,010	0,020
Enxofre 1	Kumulus DF-AG	F/A	Inorgânico	600	0,480	0,600
Enxofre 2	Kumulus DF	F/A	Inorgânico	600	0,480	0,600
Folpete	Folpan Agricur 500 PM	F	Dicarboximida	210	0,105	0,210
Mancozebe	Manzate 800	F	Ditiocarbamato	200	0,160	0,200
Piraclostrobina	Comet	F	Estrobilurina	40	0,010	0,040
Tebuconazol	Folicur 200 CE	F	Triazol	50	0,010	0,050
Tetraconazol	Domark 100 CE	F	Triazol	50	0,005	0,050
Tiofanato-metílico	Support	F	Benzimidazol	100	0,050	0,100
Triforina	Saprol	F	Análogo Triazol	125	0,024	0,125
Triclorfom (padrão)	Dipterex 500	I	Organofosforado	300	0,150	0,300

¹F = fungicida; A = acaricida; I = inseticida

²DC = Dose de campo (g ou ml do produto comercial/100 L)

³C.i.a. = Concentração (%) testada do ingrediente ativo na calda

⁴C.f.c. = Concentração (%) testada da formulação comercial na calda

calda aplicada, formando-se uma película seca do produto-teste. As placas contendo a película dos produtos foram destinadas às gaiolas de exposição.

Cada gaiola de exposição (unidade experimental) foi composta por duas placas, que funcionaram como fundo e cobertura, sendo fixas a uma moldura retangular de alumínio (13 x 1,5 x 1 cm), através de presilhas. Em três dos lados da moldura de alumínio, existiam orifícios para ventilação (diâmetro aproximado de 1 cm), cobertos internamente com tecido fino preto, aderido firmemente com fita adesiva, permitindo a troca de ar. O quarto lado da moldura possuía dois orifícios, sendo o primeiro (diâmetro de 3,5 x 1 cm) utilizado para introdução dos ovos para parasitismo e deposição de alimento para os adultos (composto por 3 g de gelatina, 100 ml de água e 200 g de mel) e o outro (diâmetro de 1 cm) para inserção dos indivíduos adultos, através de conexão com tubos de emergência.

Cada tubo de emergência (ampola de vidro transparente com 12 cm de comprimento x 2 cm de diâmetro em uma das extremidades e 0,7 cm na outra) continha um círculo de cartolina branca de 1 cm de diâmetro com aproximadamente 250 ± 50 ovos previamente parasitados, aderidos a uma tira de cartolina branca (8 x 1,5 cm) com três finos filetes de alimento. Esses tubos contendo adultos de *T. pretiosum* com aproximadamente 24h de idade foram conectados às gaiolas de exposição 6h após a pulverização dos pesticidas, permitindo a entrada dos parasitoides no interior das gaiolas. Visando otimizar a saída dos insetos do interior dos tubos de emergência, foi aumentada a intensidade luminosa da sala durante o período de conexão. Após 16h da liberação dos parasitoides, os tubos de emergência foram

desconectados das gaiolas de exposição e mantidos sob condições controladas (25 ± 1°C, umidade relativa 70 ± 10% e fotofase de 14h) por no mínimo três dias para total emergência de adultos, a fim de que fosse possível calcular o número de indivíduos que entraram na gaiola. Para evitar o aumento na concentração de gases tóxicos no interior das gaiolas de exposição, utilizou-se um sistema de sucção de ar constituído por bombas de aquário com fluxo invertido, o qual foi acoplado às gaiolas através de mangueiras.

Para avaliar a capacidade de parasitismo das fêmeas de *T. pretiosum* sobreviventes após 6h da desconexão dos tubos de emergência foram oferecidos ovos inviabilizados de *A. kuehniella* a serem parasitados e alimento. Assim, cartões contendo 3 círculos de 1 cm de diâmetro, tendo cada círculo 400 ± 50 ovos, foram oferecidos em sobreposição para parasitismo 24h (três cartões), 48h (dois cartões) e 96h (um cartão) após a pulverização, perfazendo um período aproximado de 144h, em que ovos do hospedeiro ficaram disponíveis ao parasitismo.

Sete dias após a pulverização dos fungicidas, as gaiolas foram desmontadas. Os cartões oferecidos ao parasitismo, contendo ovos do hospedeiro alternativo foram transferidos para placas de Petri descartáveis (9 x 1,5 cm) e mantidos nas mesmas condições do teste por no mínimo três dias, período suficiente para que houvesse o escurecimento dos ovos parasitados. A coloração escura do ovo se deve em função da deposição de grânulos de urato, e é típica de ovos parasitados por espécies deste gênero e somente ocorre após a larva ter ingerido completamente o conteúdo do ovo hospedeiro (Saakyan-Baranova 1990).

Para determinar o número de fêmeas por gaiola de

exposição, inicialmente se obtiveram os parâmetros populacionais: número de parasitóides por ovo e razão sexual. Estes foram obtidos mediante avaliação de quatro círculos (1 cm de diâmetro) contendo ovos parasitados, da mesma geração de insetos utilizados nos testes. Posteriormente, foram contados o número de ovos parasitados e o número de adultos remanescentes de cada tubo de emergência. O número de ovos parasitados em cada tubo foi multiplicado pelo número de parasitóides por ovo. O valor obtido foi subtraído do número de adultos e multiplicado pela razão sexual da população.

O número de ovos parasitados em cada tratamento foi obtido mediante contagem, sob microscópio estereoscópico, dos seis cartões (18 círculos) ofertados durante o período de execução do experimento.

Análise dos dados obtidos. O número médio de ovos parasitados por fêmea de *T. pretiosum* de cada tratamento foi utilizado para calcular o parasitismo. A redução no parasitismo para cada fungicida foi determinada através da comparação com a testemunha (água destilada) e calculada por meio da fórmula (Hassan et al. 2000) $RP = (1 - R_t / R_c) * 100$, onde RP é a porcentagem de redução no parasitismo, R_t é o valor do parasitismo médio para cada produto e R_c o parasitismo médio observado para o tratamento testemunha (negativa). Com base nestas porcentagens de redução no parasitismo, os fungicidas testados (formulações comerciais) foram classificados segundo IOBC/WPRS em: 1) inócuo (< 30%); 2) levemente nocivo (30-79%); 3) moderadamente nocivo (80-99%) e; 4) nocivo (> 99%).

Os resultados obtidos referentes à contagem do número de ovos parasitados por fêmea foram testados quanto à normalidade dos dados (proc univariate), sendo em seguida, submetidos à análise de variância e teste de Tukey (proc glm) a 5% de probabilidade (SAS Institute 2002).

Resultados e Discussão

No experimento I o número médio de fêmeas de *T. pretiosum* no interior das gaiolas de exposição ficou entre 224,5 e 303,4 fêmeas por gaiola, no experimento II entre 104,1 e 133,6, ao passo que no experimento III estes valores ficaram entre 141,9 e 154,2 fêmeas por gaiola (Tabela 2). Estudos conduzidos por Zhang & Hassan (2000) com *Trichogramma cacoeciae* Marchal demonstraram que valores entre 55 a 150 fêmeas por gaiola de exposição, não interferiram na classificação dos pesticidas testados, assim os resultados obtidos no experimento II (Tabela 2) estão dentro desse intervalo. Por outro lado, o intervalo superior obtido para o experimento I (Tabela 2) de até 303,4 fêmeas por gaiola, também está dentro da normalidade para esse tipo de experimento, pois a metodologia da IOBC para testes de seletividade em laboratório com *T. cacoeciae* recomenda entre 50 e 400 parasitóides por gaiola de contato (Hassan 1998, Hassan et al. 2000).

O número médio de ovos parasitados por fêmea de *T. pretiosum* apresentou variação significativa entre os tratamentos (Tabela 2). Na testemunha negativa (água

destilada) os valores obtidos foram de 30,8 ovos parasitados por fêmea no experimento I, 25,7 ovos parasitados por fêmea no experimento II e 37,9 ovos parasitados por fêmea no experimento III (Tabela 2). Este é um importante parâmetro que valida os testes de seletividade com parasitóides de ovos, executados seguindo o protocolo padrão da IOBC/WPRS, visto que a classificação dos produtos fitossanitários é baseada na redução do parasitismo em relação à testemunha negativa. Para a espécie *T. cacoeciae* é preconizado o mínimo de 15 ovos parasitados por fêmea (Hassan et al. 2000), porém para *T. pretiosum* este limite ainda não foi estabelecido e, possivelmente, deverá ser maior considerando os resultados obtidos neste estudo. Analisando o número médio de ovos parasitados por fêmea para o tratamento com água destilada nos três experimentos (Tabela 2) verifica-se que os valores são bem superiores àqueles definidos para *T. cacoeciae*, evidenciando a qualidade dos resultados obtidos no presente trabalho. Considerando que os ovos do hospedeiro *A. kuehniella* foram oferecidos para o parasitismo durante o período aproximado de seis dias, observamos que os valores encontrados estão de acordo com estudos realizados por Maceda et al. (2003) acerca dos efeitos da temperatura sobre *T. pretiosum* em ovos de *A. kuehniella*, onde os autores observaram o número médio de 5,7 ovos parasitados por fêmea por dia à temperatura de 25°C.

A capacidade de parasitismo de fêmeas de *T. pretiosum* foi afetada diferentemente pelas formulações comerciais dos fungicidas testados (Tabela 2). Os fungicidas captana 1 e captana 2 foram inócuos (classe 1) a adultos do parasitóide, reduzindo 21,4% e 24,3%, respectivamente, o parasitismo de fêmeas de *T. pretiosum* (Tabela 2). Essa redução similar, observada para as duas formulações era esperada, visto que esses fungicidas pertencem ao mesmo grupamento químico das dicarboximidas e são formulados com o mesmo ingrediente ativo em concentrações muito próximas (Tabela 1). De forma similar ao observado no experimento I, Hassan (1994) também obteve para *T. cacoeciae* a classe 1 com captana (Orthocid 83). No entanto, Hassan et al. (1998) obtiveram 49,1% de redução no parasitismo de *T. cacoeciae*, obtendo a classe 2 para este mesmo ingrediente ativo captana (Captan 83 W). As variações nos resultados provavelmente se devem aos diferentes produtos comerciais usados em diferentes doses e formulações, demonstrando assim a importância sempre da caracterização do pesticida pela sua marca comercial e das características intrínsecas de cada um.

O fungicida mancozebe causou redução de 47,8% no parasitismo de *T. pretiosum* e foi classificado como levemente nocivo (Tabela 2). Para a espécie *T. cacoeciae*, Hassan (1994) ao testar um produto de mesmo ingrediente ativo (Dithane Ultra) na concentração de 0,10 e 0,20% do produto comercial, também classificou este fungicida como levemente nocivo (classe 2) para a menor concentração e quando usou o dobro da concentração obteve a classe 3, sobre os adultos do mesmo parasitóide. Porém, resultados diferentes foram obtidos por Hafez et al. (1999) que avaliaram mancozebe (Dithane M 45) e verificaram que o fungicida na concentração de 0,41% de ingrediente ativo causou 100% de redução no parasitismo de *T. cacoeciae*,

Tabela 2. Número médio (\pm EP) de fêmeas por gaiola de exposição, número médio (\pm EP) de ovos parasitados por fêmea, redução no parasitismo de *T. pretiosum* em relação à testemunha e classes de seletividade dos pesticidas recomendados para a Produção Integrada da Maçã (PIM). Temperatura $25 \pm 1^\circ\text{C}$; UR: $70 \pm 10\%$; fotofase: 14h.

Nome técnico	Nº de fêmeas por gaiola	Nº de ovos parasitados por fêmea	RP ¹	Classes ²
Experimento I				
Testemunha	228,9 \pm 5,69	30,8 \pm 0,88 a	-----	-----
Captana 1	224,5 \pm 15,80	24,2 \pm 2,77 a	21,38	1
Captana 2	244,3 \pm 7,43	23,3 \pm 2,02 a	24,30	1
Mancozebe	264,7 \pm 6,20	16,1 \pm 1,87 b	47,79	2
Enxofre 1 (AG)	250,2 \pm 12,24	3,8 \pm 0,68 c	87,69	3
Triclorfom	303,4 \pm 33,78	0,0 \pm 0,00 c	100,00	4
Experimento II				
Testemunha	133,6 \pm 13,28	25,7 \pm 3,74 a	-----	-----
Piraclostrobina	112,4 \pm 1,14	24,7 \pm 3,83 a	3,74	1
Folpete	133,5 \pm 9,31	30,1 \pm 2,22 a	0,00	1
Tebuconazol	114,2 \pm 10,16	24,6 \pm 2,33 a	4,05	1
Enxofre 2	105,2 \pm 11,17	00,0 \pm 0,00 b	100,00	4
Triclorfom	104,1 \pm 9,60	00,0 \pm 0,00 b	100,00	4
Experimento III				
Testemunha	146,6 \pm 7,21	37,9 \pm 1,95 a	-----	-----
Triforina	141,9 \pm 5,12	30,7 \pm 1,99 a	19,02	1
Cresoxim-metílico	152,7 \pm 16,0	29,5 \pm 1,94 a	22,25	1
Tiofanato-metílico	146,4 \pm 12,4	31,2 \pm 3,11 a	17,71	1
Tetraconazol	149,6 \pm 8,79	0,7 \pm 0,20 b	98,12	3
Triclorfom	154,2 \pm 1,61	0,0 \pm 0,00 b	100,00	4

Médias acompanhadas pela mesma letra não diferem significativamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

¹RP = Redução no parasitismo comparado com a testemunha

²Classes da IOBC/WPRS para teste de seletividade sobre *Trichogramma*: 1 = inócuo (< 30%), 2 = levemente nocivo (30-79%), 3 = moderadamente nocivo (80-99%), 4 = nocivo (> 99%)

classificando-o como pertencente à classe 4. Essa diferença nos resultados provavelmente se deve à menor concentração de ingrediente ativo do fungicida usada no experimento I (Tabela 1), que foi duas vezes menor do que aquela utilizada por Hafez *et al.* (1999).

É importante ainda considerar a limitação de uso determinada pela União Européia, de até quatro pulverizações do fungicida mancozebe (ditiocarbamato) por safra na PIM, justamente pela sua ação sobre inimigos naturais (Caranti 1999). Em estudos realizados no Brasil com produtos fitossanitários utilizados na cultura do tomateiro, Carvalho *et al.* (2001a, b) obtiveram que o fungicida mancozebe, testado sobre duas linhagens de *T. pretiosum* era sempre classificado como inócuo (classe 1), mesmo usando uma concentração maior, que não era capaz de interferir na capacidade de parasitismo e na porcentagem de emergência do parasitóide (F_1). Porém esses autores utilizaram metodologia de trabalho diferenciada, com aplicação do fungicida sobre os ovos do hospedeiro

alternativo, pela imersão dos mesmos nas caldas químicas, seguida de disponibilização dos ovos tratados aos adultos de *T. pretiosum*. Deste modo, verificamos que dependendo do estágio de vida do parasitóide que entre em contato com o fungicida, este será mais ou menos sensível à ação do pesticida, como foi observado no experimento I (Tabela 2) sobre os adultos de *T. pretiosum* que é a fase mais sensível e mais exposta do parasitóide e por isso foram mais afetados pelo fungicida mancozebe.

O enxofre 1 (AG) foi moderadamente nocivo (classe 3), reduzindo o parasitismo em 87,7% (Tabela 2). De forma similar, Hassan (1994) também obteve para *T. cacaeciae* classe 3 para um produto a base de enxofre (Netzschwefel Bayer) na concentração 0,40% do produto comercial, sendo esta concentração inferior a usada no experimento I (Tabela 1).

Os fungicidas piraclostrobina, folpete e tebuconazol causaram reduções no parasitismo de apenas 3,7%, 0,0%, e 4,1%, respectivamente, e foram classificados como inócuos (classe 1) a *T. pretiosum* (Tabela 2). Como estes três

fungicidas são de grupos químicos diferentes, este é um fato importante de ser considerado para o manejo correto das doenças da macieira. Resultados similares foram encontrados para *T. cacoeciae* quando se utilizou o fungicida folpete (Ortho-Phaltan 50), em concentração superior à usada neste trabalho (Hassan 1994). Porém, o fungicida tebuconazol (Folicur 250 EC) foi classificado como moderadamente nocivo (classe 3) quando utilizado em testes com *T. cacoeciae*, já que a dose testada era cinco vezes superior à utilizada no experimento II, além de o produto comercial também ser mais concentrado (Sterk *et al.* 1999). No Brasil, o tebuconazol foi avaliado por Torres *et al.* (1996), que estudaram a sobrevivência de larvas e pupas de *T. pretiosum* submetidas à dose de 225 g ingrediente ativo/ha, para a cultura do tomateiro, através da pulverização dos ovos de *A. kuehniella*. Os autores não observaram nenhum efeito do mesmo sobre a emergência do parasitóide ou sobre sua razão sexual.

O enxofre 2 na concentração testada impediu o parasitismo pelas fêmeas de *T. pretiosum*, similarmente à testemunha positiva (triclorfom) (Tabela 2). Da mesma forma Hafez *et al.* (1999) verificaram que enxofre (Kumulus) na concentração de 2,0% do produto comercial reduziu em 100% o parasitismo de fêmeas de *T. cacoeciae*. O mesmo resultado já havia sido observado por Grützmacher *et al.* (2004) ao testarem o mesmo fungicida avaliado no experimento II, na mesma concentração (Tabela 2), onde também obtiveram redução de 100% (classe 4) no parasitismo de *T. cacoeciae*. Estes autores trabalharam ainda com diminuição da dose testada em quase 90%, obtendo mesmo assim, redução no parasitismo em torno de 99%. Por outro lado, Kakakhel & Hassan (2000) ao testarem enxofre (Kumulus) sobre *T. cacoeciae* nas concentrações de 0,336 e 0,675 µl encontraram que não havia redução no parasitismo deste parasitóide (classe 1). Tal fato pode ser evidenciado através das diferenças encontradas para as duas formulações à base de enxofre testadas (Tabela 2), onde se obtiveram resultados diferentes, sendo os produtos incluídos em classes de seletividade distintas, apesar de as duas marcas comerciais possuírem a mesma formulação (grânulos dispersíveis em água) e a mesma concentração do ingrediente ativo no produto comercial. Essas variações podem ocorrer devido à presença diferencial dos inertes utilizados na formulação comercial, algo que não pôde ser constatado já que a empresa que fabrica o produto não soube dar detalhes a esse respeito.

Os fungicidas triforina, cresoxim-metilico e tiofanato-metilico, que são de grupos químicos diferentes, foram todos classificados como inócuos (classe 1), reduzindo o parasitismo das fêmeas de *T. pretiosum* em 19,0%, 22,3% e 17,7%, respectivamente (Tabela 2). Resultado similar foi obtido por Hassan (1994) para os fungicidas triforina (Saprol) e tiofanato-metilico (Cercobin-M) que também foram classificados como inócuos em trabalhos realizados com o parasitóide *T. cacoeciae*.

O fungicida tetraconazol afetou negativamente o parasitismo das fêmeas de *T. pretiosum*, causando redução de 98,1%, sendo classificado como moderadamente nocivo (classe 3) (Tabela 2). Apesar de esse fungicida estar

disponível para uso na PIM há pouco tempo, ele somente está registrado para controle da sarna-da-macieira. Como o fungicida tebuconazol controla a mesma doença sendo recomendado também para o controle da antracnose, fuligem e sujeira-de-mosca, faz parte do mesmo grupo químico (Triazol), além de ter sido seletivo ao parasitóide (classe 1), deve-se dar preferência ao uso deste último na PIM.

O inseticida triclorfom (Dipterex 500), usado como padrão, reduziu em 100% a capacidade de parasitismo de fêmeas de *T. pretiosum* (Tabelas 2). Esse inseticida normalmente vem sendo utilizado como testemunha positiva em todos os experimentos, por ser reconhecidamente tóxico, aos parasitóides do gênero *Trichogramma* (Grützmacher *et al.* 2004) e estar registrado para a cultura da macieira.

Estudos que objetivem avaliar a seletividade de fungicidas registrados para o controle de doenças da macieira sobre o parasitóide de ovos do gênero *Trichogramma* são escassos no Brasil. A grande maioria dos trabalhos realizados no País tem se concentrado na avaliação de produtos registrados para uso em culturas anuais (principalmente tomateiro), com especial atenção sendo dada à avaliação de inseticidas (Castelo Branco & França 1995, Carvalho *et al.* 1999, Ciociola Jr. *et al.* 1999, Rocha & Carvalho *et al.* 2004, Moura *et al.* 2005). Poucos trabalhos têm estudado o impacto de fungicidas sobre o desempenho de *Trichogramma* (Torres *et al.* 1996, Hafez *et al.* 1999), os quais também devem ser levados em consideração, já que, a exemplo do que foi constatado neste estudo, fungicidas também podem demonstrar alguma toxidez aos parasitóides. Além disso, a utilização de liberações inoculativas ou inundativas do parasitóide para o controle de pragas que atacam a macieira, poderá se sobrepor às demais práticas culturais adotadas no manejo da cultura. Trabalhos desta natureza devem ser estimulados, já que dos 12 fungicidas testados, oito (67%) mostraram-se seletivos (classe 1) a *T. pretiosum*. Dentre os fungicidas seletivos, merecem destaque os fungicidas pertencentes ao grupo químico das Dicarboximida (captana 1, captana 2 e folpete) e ao grupo das Estrobilurina (piraclostrobina e cresoxim-metilico) que foram enquadrados na classe 1 (inócuos). Os fungicidas/acaricidas à base de enxofre apresentaram alta toxicidade ao parasitóide sendo enquadrados nas classes 3 e 4.

Testes de toxicidade em laboratório sujeitam os insetos-teste à máxima exposição aos resíduos de pesticidas e constituem a primeira etapa da seqüência de testes preconizada pela IOBC/WPRS (Hassan 1998, Hassan *et al.* 2000, Hassan & Abdelgader 2001). Os fungicidas captana 1, captana 2, piraclostrobina, folpete, tebuconazol, triforina, cresoxim-metilico e tiofanato-metilico classificados na classe 1 e mancozebe na classe 2 conforme a metodologia da IOBC/WPRS, não serão mais testados, pois mostraram-se seletivos ao parasitóide. Porém, os resultados obtidos para o fungicida/acaricida enxofre 1 (AG) e o tetraconazol, enquadrados na classe 3 e para o fungicida/acaricida enxofre 2 na classe 4, não devem ser extrapolados para condições de campo. Para estes pesticidas serão necessários testes em laboratório, com formas imaturas (ovo, larva e pupa) do parasitóide, testes em casa-de-vegetação para avaliar a persistência da atividade biológica da molécula

e, para os pesticidas que se mostrarem persistentes, é necessário se fazer uma estimativa do risco de impacto destes ao inimigo natural em condições de campo.

Agradecimentos

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico do Brasil (CNPq) e à Fundação de Amparo à Pesquisa do Rio Grande do Sul (FAPERGS) pelo apoio para a realização dessa pesquisa.

Referências

- Caranti, S. 1999. Norme tecniche generali di applicazione del reg. CEE 2078/92. Disciplinari 2078 e produzione integrata guida razionale all'impiego. Servizi Agro Bio Tecnici Integrati, 2 ed: p.2.
- Carvalho, G.A., J.R.P. Parra & G.C. Baptista. 1999. Ação residual de alguns inseticidas pulverizados em plantas de tomateiro sobre duas linhagens de *Trichogramma pretiosum* Riley, 1879 (Hymenoptera: Trichogrammatidae) em casa-de-vegetação. Ciênc. Agrotecnol. 23: 770-775.
- Carvalho, G.A., J.R.P. Parra & G.C. Baptista. 2001a. Impacto de produtos fitossanitários utilizados na cultura do tomateiro na fase adulta de duas linhagens de *Trichogramma pretiosum* Riley, 1879 (Hymenoptera: Trichogrammatidae). Ciênc. Agrotecnol. 25: 560-568.
- Carvalho, G.A., J.R.P. Parra & G.C. Baptista. 2001b. Seletividade de alguns produtos fitossanitários a duas linhagens de *Trichogramma pretiosum* Riley, 1879 (Hymenoptera: Trichogrammatidae). Ciênc. Agrotecnol. 25: 583-591.
- Castelo Branco, M. & F.H. França. 1995. Impacto de inseticidas e bioinseticidas sobre adultos de *Trichogramma pretiosum*. Hortic. Brasil. 13: 199-201.
- Ciociola Jr, A.I., L.C. Diniz, M.S. Zacarias, A.R. Carvalho & A.I. Ciociola. 1999. Impacto de inseticidas sobre a emergência de *Trichogramma pretiosum*, Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae). Ciênc. Agrotecnol. 23: 589-592.
- Ferreira, A.J., G.A. Carvalho, M. Botton, L.A. Mendonça & A.R.B. Corrêa. 2005. Seletividade de inseticidas usados na cultura da macieira a ovos de *Chrysoperla externa* (Hagen, 1861) (Neuroptera: Chrysopidae). Ciênc. Rur. 35: 756-762.
- Grützmacher, A.D., O. Zimmermann, A. Yousef & S.A. Hassan. 2004. The side-effects of pesticides used in integrated production of peaches in Brazil on the egg parasitoid *Trichogramma cacoeciae* Marchal (Hym., Trichogrammatidae). J. Appl. Entomol. 128: 377-383.
- Hafez, M.B., A. Schmitt & S.A. Hassan. 1999. The side-effects of plant extracts and metabolites of *Reynoutria sachalinensis* (F. Schmidt) Nakai and conventional fungicides on the beneficial organism *Trichogramma cacoeciae* Marchal (Hym., Trichogrammatidae). J. Appl. Entomol. 123: 363-368.
- Hassan, S.A. 1994. Comparison of three different laboratory methods and one semi-field test method to assess the side effects of pesticides on *Trichogramma cacoeciae* Marchal (Hym., Trichogrammatidae). In: Side effects of pesticides on beneficial organisms: comparison of laboratory, semi field and field results. Ed. by Vogt, H. IOBC/WPRS Bulletin 17: 133-141.
- Hassan, S.A. 1998. Guidelines for the evaluation of side effects of plant protection products on *Trichogramma cacoeciae* Marchal (Hym., Trichogrammatidae). Pesticides and Beneficial Organisms. IOBC/WPRS Bulletin 21: 119-128.
- Hassan, S.A., B. Hafez, P.E. Degrande & K. Herai. 1998. The side-effects of pesticides on the egg parasitoid *Trichogramma cacoeciae* Marchal (Hym., Trichogrammatidae), acute dose-response and persistence tests. J. Appl. Entomol. 122: 569-573.
- Hassan, S.A. & H. Abdelgader. 2001. A sequential testing program to assess the effects of pesticides on *Trichogramma cacoeciae* Marchal (Hym., Trichogrammatidae). IOBC/WPRS Bulletin 24: 71-81.
- Hassan, S.A., N. Halsall, A.P. Gray, C. Kuehner, M. Moll, F.M. Bakker, J. Roembke, A. Yousef, F. Nasr & H. Abdelgader. 2000. A laboratory method to evaluate the side effects of plant protection products on *Trichogramma cacoeciae* Marchal (Hym., Trichogrammatidae). p.107-119. In M.P. Candolfi, S. Blümel, R. Forster, F.M. Bakker, C. Grimm, S.A. Hassan, U. Heimbach, M.A. Mead-Briggs, B. Reber, R. Schmuck & H. Vogt. Guidelines to evaluate side-effects of plant protection products to non-target arthropods. IOBC/WPRS.
- IBGE. 2005. Levantamento sistemático da produção agrícola: Pesquisa mensal de previsão e acompanhamento das safras agrícolas no ano civil. Rio de Janeiro, 17: 74p. Disponível em <<http://www.ibge.gov.br>>. Acesso em: 26 de maio de 2005.
- Kakakhel, S.A. & S.A. Hassan. 2000. The side-effects of pesticides on *Trichogramma cacoeciae* Marchal (Hymenoptera: Trichogrammatidae), an egg parasite. Pakistan J. Biol. Sci. 3: 1011-1013.
- Lorenzatto, D. 1988. Lepidópteros nocivos em frutíferas rosáceas no sul do Brasil. Ipagro Informa 31: 71-77.
- Maceda, A., C.L. Hohmann & H.R. Santos. 2003. Temperature effects on *Trichogramma pretiosum* Riley and *Trichogrammatoidea annulata* De Santis. Braz. Arch. Biol. Technol. 46: 27-32.
- Monteiro, L.B. 2001. Seletividade de inseticidas a *Neoseiulus californicus* MacGregor (Acari: Phytoseiidae) em macieira no Rio Grande do Sul. Rev. Bras. Frut. 23: 589-592.
- Monteiro, L.B., A. Souza, E.L. Belli, R.B.Q. Silva & R.A. Zucchi. 2004. Ocorrência de *Trichogramma pretiosum* Riley, 1879 (Hymenoptera: Trichogrammatidae) em ovos de *Bonagota cranodes* (Meyrick) (Lepidoptera: Tortricidae) em macieira. Rev. Bras. Frut. 26: 171-172.
- Moura, A.P., G.A. Carvalho & R.L.O. Rigitano. 2005. Toxicidade de inseticidas utilizados na cultura do tomateiro a *Trichogramma pretiosum*. Pesq. Agropec. Bras. 40: 203-210.
- Parra, J.R.P. 1997. Técnicas de criação de *Anagasta kuehniella*, hospedeiro alternativo para produção de *Trichogramma*. p.121-150. In J.R.P. Parra & R.A. Zucchi (eds.).

- Trichogramma* e o controle biológico aplicado. Piracicaba, FEALQ, 324p.
- Pinto, J.D. 1997. Taxonomia de Trichogrammatidae (Hymenoptera) com ênfase nos gêneros que parasitam Lepidoptera. p. 13-39. In J.R.P. Parra & R.A. Zucchi (eds.). *Trichogramma* e o controle biológico aplicado. Piracicaba, FEALQ, 324p.
- Pinto, J.D., A.B. Koopmanschap, G.R. Platner & R. Stouthamer. 2002. The north american *Trichogramma* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) parasitizing certain Tortricidae (Lepidoptera) on apple and pear, with ITS2 DNA characterizations and description of a new species. *Biol. Control* 23: 134-142.
- Rocha, L.C.D. & G.A. Carvalho. 2004. Adaptação da metodologia padrão da IOBC para estudos de seletividade com *Trichogramma pretiosum* Riley, 1879 (Hymenoptera: Trichogrammatidae) em condições de laboratório. *Acta Scient.* 26: 315-320.
- Saakyan-Baranova, A.A. 1990. Morphological study of preimaginal stages of six species of the genus *Trichogramma* Westwood (Hymenoptera, Trichogrammatidae). *Entomol. Oboz.* 69: 257-263.
- Sanhueza, R.M.V., J.R. Andrigueto, A.R. Kososki. 2003. Situação atual da Produção Integrada de Frutas no Brasil. In: Seminário Brasileiro de Produção Integrada de Frutas, 5., Bento Gonçalves, Embrapa Uva e Vinho, 2003, p.23-25.
- SAS Institute. 2002. Getting Started with the SAS® Learning Edition. Cary, NC.
- Stein, C.P. & J.R.P. Parra. 1987. Uso da radiação ultravioleta para inviabilizar ovos de *Anagasta kuehniella* (Zeller, 1879) visando estudos com *Trichogramma* spp. *An. Soc. Entomol. Brasil* 16: 229-233.
- Sterk, G., S.A. Hassan, M. Baillod, F. Bakker, F. Bigler, S. Blümel, H. Bogenschütz, E. Boller, B. Bromand, J. Brun, J.N.M. Calis, J. Coremans-Pelseneer, C. Duso, A. Garrido, A. Grove, U. Heimbach, H. Hokkanen, J. Jacas, G. Lewis, L. Moreth, L. Polgar, L. Roversti, L. Samsøe-Petersen, B. Sauphanor, L. Schaub, A. Stäubli, J.J. Tuset, A. Vainio, M. Van de Veire, G. Viggiani, E. Viñuela & H. Vogt. 1999. Results of the seventh joint pesticide testing programme carried out by the IOBC/WPRS-Working Group "Pesticides and Beneficial Organisms". *BioControl* 44: 99-117.
- Torres, J.B., D. Pratisoli & F.F. Sales. 1996. Susceptibilidade de *Trichogramma pretiosum* aos fungicidas utilizados em tomateiro no Espírito Santo. *Hortic. Bras.* 14: 39-42.
- Zhang, W. & S.A. Hassan. 2000. Rationalising the standard method to test the side-effects of pesticides on *Trichogramma cacoeciae*, reducing the number of parasitoids tested. *IOBC/WPRS Bulletin* 23: 49-53.
- Zucchi, R.A. & R.C. Monteiro. 1997. O gênero *Trichogramma* na América do Sul, p.41-46. In J.R.P. Parra & R.A. Zucchi (eds.). *Trichogramma* e o controle biológico. Piracicaba, FEALQ, 324p.

Received 24/VII/05. Accepted 17/XI/05.
