

## CONTROLE QUÍMICO

**Seletividade de Agroquímicos Utilizados na Produção Integrada de Maçã aos Parasitóides *Trichogramma pretiosum* Riley e *Trichogramma atopovirilia* Oatman & Platner (Hymenoptera: Trichogrammatidae)**

CRISTIANE G. MANZONI, ANDERSON D. GRÜTZMACHER, FABRIZIO P. GIOLO, WAGNER DA R. HÄRTER, RODOLFO V. CASTILHOS, MURILO D. F. PASCHOAL

Depto. Fitossanidade, Faculdade de Agronomia "Eliseu Maciel", Universidade Federal de Pelotas - UFPel Campus Universitário, Caixa Postal 354, 96.010-900 - Pelotas - RS. e-mail: [cristianemanzoni@hotmail.com](mailto:cristianemanzoni@hotmail.com)

BioAssay 2:1 (2007)

**Side-effects of Pesticides Used in Integrated Production of Apples to Parasitoids of *Trichogramma pretiosum* Riley and *Trichogramma atopovirilia* Oatman & Platner (Hymenoptera: Trichogrammatidae)**

**ABSTRACT** – Parasitoids of genus *Trichogramma* represent an alternative to control tortricids in apple orchards; however, it is necessary to use selective pesticides for managing this crop. The side-effects of pesticides used in Integrated Production of Apples, were evaluated to parasitoid *Trichogramma pretiosum* Riley and *Trichogramma atopovirilia* Oatman & Platner (Hymenoptera: Trichogrammatidae) under laboratory conditions, by following protocols of IOBC/WPRS. Bioassays were carried with: a) adults by exposing to fresh pesticides residues, applied on glass plates; b) immature stages, with applications of pesticides on eggs of *Anagasta kuehniella* (Zeller) (Lepidoptera: Pyralidae), with the parasitoid in the egg-larvae, pre-pupae and pupae stages. The reduction in the parasitization (adults) and reduction on adults emergence (immatures), in relation the control were used to classified the pesticides in harmless (<30%), slightly harmful (30-79%), moderately harmful (80-99%) and harmful (>99%). Out of 60 pesticides tested in bioassays with adults of *T. pretiosum*, 60% were harmless, 10% slightly harmful, 16.67% moderately harmful and 13.33% harmful. In bioassays with immatures, out of 19 pesticides evaluated, 73.68% were harmless for all immatures stages and the others were slightly harmful in at least one stage. For *T. atopovirilia*, of the 40 pesticides evaluated with adults, 45% were harmless, 15% slightly harmful, 12.5% moderately harmful and 27.5% harmful; in bioassays with immatures of the 17 pesticides tested 58.82% were harmless for the three stages, while 41.18% were slightly harmful, moderately harmful and harmful. *T. atopovirilia* was more sensitive than *T. pretiosum* to evaluated pesticides in the tests with either adults or immatures.

**KEY WORDS** – *Malus domestica*, natural enemy, egg parasitoids, IOBC.

**RESUMO** – Parasitóides do gênero *Trichogramma* representam uma alternativa no controle de tortricídeos da macieira, porém é necessário empregar agroquímicos seletivos no manejo da cultura. Foi avaliada a seletividade de agroquímicos utilizados na Produção Integrada de Maçãs, aos parasitóides *Trichogramma pretiosum* Riley e *Trichogramma atopovirilia* Oatman & Platner (Hymenoptera: Trichogrammatidae) em laboratório, seguindo protocolos da IOBC/WPRS. Foram conduzidos bioensaios com: a) adultos com a exposição a resíduos dos produtos pulverizados sobre placas de vidro; b) estágios imaturos com a aplicação dos agroquímicos sobre ovos de *Anagasta kuehniella* (Zeller) (Lepidoptera: Pyralidae), contendo o parasitóide nos estágios de ovo-larva, pré-pupa e pupa. A redução no parasitismo (adultos) e redução na emergência de adultos (imaturos), em relação à testemunha foram empregados para classificar os compostos em inócuo (<30%), levemente nocivo (30-79%), moderadamente nocivo (80-99%) e nocivo (>99%). De 60 agroquímicos testados nos bioensaios com adultos de *T. pretiosum*, 60% foram inócuos, 10% levemente nocivos, 16,67% moderadamente nocivos e 13,33% nocivos. Nos bioensaios com imaturos, dos 19 produtos avaliados, 73,68% foram inócuos a todos os estágios, os demais foram levemente nocivos em pelo menos um dos estágios. Para *T. atopovirilia*, de 40 agroquímicos avaliados para adultos, 45% foram inócuos, 15% levemente nocivos, 12,5% moderadamente nocivos e 27,5% nocivos; nos bioensaios com imaturos dos 17 agroquímicos testados, 58,82% foram inócuos aos três estágios, enquanto 41,18% foram levemente nocivos, moderadamente nocivos e nocivos. *T. atopovirilia* foi mais sensível que *T. pretiosum* aos agroquímicos testados, tanto nos testes com adultos, como nos bioensaios com imaturos.

**PALAVRAS-CHAVE** – *Malus domestica*, inimigo natural, parasitóide de ovos, IOBC.

A cultura da macieira é atacada por inúmeras pragas, destacando-se os tortricídeos *Bonagota cranaodes* (Meyrick) e *Grapholita molesta* (Busck) (Lepidoptera: Tortricidae), que vêm aumentando em importância econômica nas últimas safras (Kovaleski 2004). Os hábitos e comportamento destes lepidópteros são fatores que dificultam seu controle, que tradicionalmente é realizado através de várias aplicações de inseticidas de amplo espectro de ação, principalmente organofosforados (Kovaleski & Ribeiro 2002).

Implementado no Brasil em 1997, o sistema de Produção Integrada de Maçã (PIM), já na safra de 2004/05 chegou a 48% da área total cultivada no país, sendo conduzida em conformidade com suas normas (Lorenzoni 2005). Na PIM são preconizadas ações no sentido de conservar os agentes de controle biológico, entre elas o uso de agroquímicos seletivos que controlem eficientemente as pragas, sem prejudicar as populações de inimigos naturais. Neste sentido, os microhimenópteros da família Trichogrammatidae, em especial do gênero *Trichogramma* passam a ser uma alternativa no manejo de *B. cranaodes* e de *G. molesta* (Kovaleski 2004). Esses insetos são parasitóides de ovos, que atacam inúmeras espécies de pragas agrícolas e florestais, principalmente da Ordem Lepidoptera, sendo utilizados em programas de controle biológico de pragas em várias culturas, e em diversos países (Smith 1996). Além disso, esses parasitóides são altamente efetivos, pois impedem a eclosão do hospedeiro antes que qualquer dano seja causado à cultura (Hassan 1994). O parasitismo de *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae) em ovos de *B. cranaodes* foi registrado por Monteiro *et al.* (2004) em pomares comerciais de macieira. Pinto *et al.* (2002) mencionaram o parasitismo de *T. pretiosum*, porém em posturas de *G. molesta*, em macieiras na América do Norte. No Brasil, a espécie *Trichogramma atopovirilia* Oatman & Platner (Hymenoptera: Trichogrammatidae), demonstra potencial no controle de tortricídeos como *Ecdyolopha aurantiana* (Lima) (Lepidoptera: Tortricidae) (Molina *et al.* 2005).

Considerando a ampla representatividade do gênero *Trichogramma* no grupo dos parasitóides e a distribuição geográfica mundial, o grupo de trabalho da “International Organization for Biological and Integrated Control of Noxious Animals and Plants (IOBC), West Palaearctic Regional Section (WPRS)”, escolheu *Trichogramma cacoeciae* Marchal (Hymenoptera: Trichogrammatidae) como uma das espécies-padrão de parasitóides a serem utilizadas em testes de seletividade para registro de novos agroquímicos (Hassan *et al.* 2000). Reconhecendo que nenhum teste isolado pode fornecer informações suficientes para classificar o efeito adverso de um agroquímico, sob um organismo benéfico, este grupo propõe um esquema seqüencial de testes (Hassan 1998a, Hassan *et al.* 2000). Segundo a IOBC/WPRS o

teste de toxicidade inicial com adultos em laboratório avalia a inocuidade dos agroquímicos, sendo que aqueles produtos considerados inócuos neste teste, também o serão a campo, com raríssimas exceções. Bioensaios com estágios imaturos do parasitóide são realizados para produtos que venham a ser considerados moderadamente nocivos (classe 3) e nocivos (classe 4) nos testes de toxicidade inicial com adultos (Cônoli *et al.* 1998).

Estudos de seletividade com agroquímicos a organismos benéficos devem ser regionalizados e direcionados a cada programa específico de manejo de cada cultura (Degrande *et al.* 2002). Dessa forma, no Brasil para a cultura da macieira foram realizados trabalhos com predadores, como *Neoseiulus californicus* (McGregor) (Acari: Phytoseiidae) (Monteiro 2001) e *Chrysoperla externa* (Hagen) (Neuroptera: Chrysopidae) (Ferreira *et al.* 2005 e 2006). Com parasitóides, mais especificamente do gênero *Trichogramma*, destaca-se o estudo recentemente publicado por Manzoni *et al.* (2006) onde foi avaliado o efeito de 12 fungicidas empregados na PIM a espécie *T. pretiosum*.

Este trabalho objetivou avaliar a seletividade de agroquímicos utilizados na PIM, a adultos e estágios imaturos de *T. pretiosum* e de *T. atopovirilia*, em condições de laboratório.

## Material e Métodos

Os experimentos foram conduzidos nos laboratórios de Biologia de Insetos, Controle Biológico e de Pesticidas do Departamento de Fitossanidade, Faculdade de Agronomia “Eliseu Maciel”, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas-RS e executados seguindo protocolos recomendados pela IOBC/WPRS para bioensaios com adultos e imaturos de *Trichogramma* spp. (Hassan 1992, Cônoli *et al.* 1998, Hassan 1998a, Hassan *et al.* 2000 e Hassan & Abdelgader 2001).

**Material Biológico Utilizado nos Bioensaios.** Os estudos foram conduzidos com os parasitóides das espécies *T. pretiosum* e *T. atopovirilia* provenientes de criações em laboratório, realizadas em câmaras climatizadas (temperatura 25±1°C, umidade relativa 70±10% e fotofase de 14 h) 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 lâmpada germicida (Stein & Parra 1987).

**Bioensaios com Adultos de *T. pretiosum* e de *T. atopovirilia*.** Foram avaliados 60 agroquímicos para a espécie *T. pretiosum* e 40 agroquímicos para a espécie *T. atopovirilia* (Tabelas 1, 2 e 3), todos empregados na

PIM e testados na máxima dosagem de registro para a cultura. O protocolo da IOBC/WPRS 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 nos experimentos por ser reconhecidamente nocivo a parasitóides do gênero *Trichogramma* (Grützmacher *et al.* 2004) e estar registrado para a cultura da macieira. Já a testemunha negativa foi constituída somente por água destilada. Em cada experimento foram utilizadas quatro repetições por tratamento, sendo dispostas no delineamento inteiramente casualizado. Todos os testes de toxicidade foram conduzidos em condições controladas de temperatura  $25\pm 1^\circ\text{C}$ , umidade relativa  $70\pm 10\%$  e fotofase de 14 h.

Os produtos foram aplicados diretamente sobre placas de vidro (2 mm de espessura e tamanho de  $13 \times 13$  cm) através de pulverizadores manuais (580 mL), calibrados para depositar  $1,75\pm 0,25$  mg de calda por  $\text{cm}^2$ . O volume aplicado foi controlado através da pesagem das placas, em balança eletrônica de precisão, antes e após a pulverização dos tratamentos. Depois de receberem os compostos, as placas permaneceram à temperatura ambiente por cerca de três horas, para secagem completa da calda aplicada, formando uma película seca do produto-teste. Com as placas de vidro tratadas foram confeccionadas as gaiolas de contato.

Cada gaiola de contato (unidade experimental) foi composta por duas placas tratadas servindo como fundo e cobertura, fixas a uma moldura retangular de alumínio (13 cm de comprimento  $\times$  1,5 cm de altura  $\times$  1 cm de largura), 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  $3,5 \times 1$  cm) utilizado para introdução dos ovos do hospedeiro para parasitismo e deposição de alimento para os parasitóides em teste (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 a serem testados, através de conexão com tubos de emergência.

Cada tubo de emergência (ampola de vidro transparente com 12 cm de comprimento  $\times$  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  $250\pm 50$  ovos de *A. kuehniella* previamente parasitados, aderidos a uma tira de cartolina branca ( $8 \times 1,5$  cm) com três finos filetes de alimento. Esses tubos contendo adultos dos parasitóides ativos e com aproximadamente 24 h de idade foram conectados às gaiolas de contato seis horas após a pulverização dos pesticidas, permitindo a entrada dos parasitóides no interior das gaiolas. Após 16 h da liberação dos parasitóides, os tubos de

emergência foram desconectados das gaiolas de contato e mantidos sob condições controladas ( $25\pm 1^\circ\text{C}$ , umidade relativa  $70\pm 10\%$  e fotofase de 14 h) 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 contato, utilizou-se um sistema de sucção de ar constituído por bombas de aquário com fluxo invertido, o qual foi acoplado às gaiolas por meio de mangueiras.

Para avaliar a capacidade de parasitismo das fêmeas sobreviventes após seis horas 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  $400\pm 50$  ovos, foram oferecidos em sobreposição para parasitismo 24 (três cartões), 48 (dois cartões) e 96 (um cartão) horas após a pulverização, perfazendo um período aproximado de 144 h, em que ovos do hospedeiro ficaram disponíveis ao parasitismo.

Sete dias após a pulverização dos compostos, as gaiolas foram desmontadas. Os cartões oferecidos ao parasitismo, contendo ovos do hospedeiro alternativo foram transferidos para placas de Petri descartáveis ( $9,0 \times 1,5$  cm) e mantidos nas mesmas condições do teste por no mínimo três dias, período suficiente para que houvesse o escurecimento dos ovos parasitados.

Para determinar o número de fêmeas por gaiola de contato, inicialmente se obteve 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 remanescentes em cada tubo 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. O número médio de ovos parasitados por fêmea dos parasitóides em cada tratamento foi utilizado para calcular o parasitismo. A redução no parasitismo para cada agroquímico foi determinada através da comparação com a testemunha (água destilada) e calculada por meio da fórmula de Hassan *et al.* (2000), onde:  $RP = (1 - R_t/R_c) \times 100$ , sendo RP a porcentagem de redução no parasitismo,  $R_t$  o valor do parasitismo médio para cada produto e  $R_c$  o parasitismo médio observado para o tratamento testemunha (negativa).

**Bioensaios com Estágios Imaturos de *T. pretiosum* e de *T. atovirilia*.** Os agroquímicos testados foram

aqueles classificados como moderadamente nocivos (classe 3) e nocivos (classe 4), nos testes de toxicidade inicial para adultos dos parasitóides em laboratório, conforme descrito anteriormente. Desta forma, foram conduzidos bioensaios com 19 agroquímicos para *T. pretiosum* e 17 agroquímicos para *T. atopovirilia* (Tabelas 1, 2 e 3), empregando-se procedimentos para pulverização dos agroquímicos e testemunha, similares aos utilizados nos bioensaios com adultos.

Foram expostos ao parasitismo por *T. pretiosum* e *T. atopovirilia*, cartões contendo 60 círculos de 1 cm de diâmetro, sendo que cada círculo possuía aproximadamente  $400 \pm 50$  ovos do hospedeiro alternativo *A. kuehniella*, com no máximo 24 h de idade. Após o parasitismo, as fêmeas dos parasitóides foram descartadas e os cartões contendo os ovos previamente parasitados foram transferidos para cilindros de vidro (25 cm de comprimento  $\times$  10 cm de diâmetro) e acondicionados em câmaras climatizadas, sob mesmas condições da criação, até que os parasitóides atingissem os períodos de desenvolvimento de 24 h (1 dia), 72 h (3 dias) e 168 h (7 dias), correspondendo aos estágios de ovo-larva, pré-pupa e pupa, respectivamente (Cônoli et al. 1999a).

Os produtos foram pulverizados diretamente sobre os círculos contendo os parasitóides nas fases de desenvolvimento de ovo-larva, de pré-pupa e de pupa. Depois de tratados os ovos permaneceram a temperatura ambiente, por cerca de três horas, para que houvesse a eliminação do excesso de umidade produzido pela calda. Passado este período, os círculos com ovos foram transferidos para recipientes de vidro (10 cm de comprimento e 2,5 cm de diâmetro), vedados na parte superior com tecido, preso com elástico, permitindo a ventilação e evitando a fuga dos parasitóides após emergência.

O número de adultos dos parasitóides encontrado em cada recipiente de vidro, em relação ao número de ovos parasitados contido no círculo de 1 cm de diâmetro foi utilizado para determinar a porcentagem de emergência. As contagens foram realizadas sob microscópio estereoscópico e a confirmação da ocorrência do parasitismo se deu em função da coloração escura do ovo. Cada tratamento foi repetido oito vezes, sendo que cada círculo continha  $400 \pm 50$  ovos parasitados, e foi considerado uma repetição, no delineamento inteiramente casualizado, em esquema fatorial (agroquímicos  $\times$  estágios  $\times$  repetições).

**Análise Resultados.** Os parâmetros de redução no parasitismo e emergência de adultos, em relação à testemunha foram empregados para classificar os agroquímicos, segundo a IOBC/WPRS em 1- inócuo (<30%), 2- levemente nocivo (30-79%), 3- moderadamente nocivo (80-99%) e 4- nocivo (>99%).

## Resultados e Discussão

### Bioensaios com Adultos de *T. pretiosum* e de *T. atopovirilia*.

A capacidade de parasitismo de fêmeas das espécies em estudo foi afetada diferentemente pelas formulações comerciais testadas (Tabelas 1, 2 e 3), sendo que de acordo com critério da IOBC/WPRS dos 60 agroquímicos avaliados para adultos de *T. pretiosum*, 60% (36) foram classificados como inócuos (classe 1), principalmente os fungicidas; 10% (6) foram levemente nocivos (classe 2); 16,67% (10) foram moderadamente nocivos (classe 3) e 13,33% (8) foram classificados como nocivos (classe 4). Enquanto que para *T. atopovirilia* dos 40 agroquímicos avaliados, 45% (18) foram considerados inócuos (classe 1); 15% (6) levemente nocivos (classe 2); 12,50% (5) moderadamente nocivos e 27,50% (11) foram classificados como nocivos (classe 4) (Tabelas 1, 2 e 3).

Comparados os resultados, verificou-se que de um total de 40 agroquímicos, 70% (28) mostraram a mesma classe de seletividade para *T. pretiosum* e *T. atopovirilia*. Os fungicidas captana 2, clorotalonil, cresoxim-metílico, difenoconazol, dodina, imibenconazol, mancozebe 4, metiram, propinebe, tebuconazol, e tiofanato metílico 3; o inseticida tebufenozida; os acaricidas espiroclifeno e fenpiroximato 1; o regulador de crescimento vegetal cloridrato de aviglicina e o adubo foliar fosfito de potássio foram inócuos (classe 1) a adultos das duas espécies em estudo (Tabelas 1, 2 e 3).

Mancozebe 3 foi o único agroquímico, dentre os avaliados que foi levemente nocivo (classe 2) para adultos das duas espécies (Tabela 1). O acaricida/inseticida óleo mineral 1, o inseticida óleo mineral 2 e o herbicida glifosato 5 foram moderadamente nocivos (classe 3) a adultos de *T. pretiosum* e de *T. atopovirilia* (Tabelas 2 e 3). A classe 3 também foi observada para o agroquímico óleo mineral 1, quando avaliado para adultos de *T. pretiosum* (Giolo et al. 2005a) e de *T. cacoeciae* (Grützmacher et al. 2004), apesar dos autores utilizarem a metade da concentração empregada neste trabalho. A mesma classificação foi encontrada por Giolo et al. (2005b) para o herbicida glifosato 5 testado sob adultos de *T. pretiosum*.

Reduções superiores a 99% no parasitismo foram verificadas para o fungicida/acaricida enxofre 1; o fungicida/inseticida pirazofós; os inseticidas carbaril, fenitrotiona, fosmete, malationa e metidationa; o acaricida/inseticida abamectina, bem como, para o inseticida triclorfom (padrão de toxicidade) que foram classificados como nocivos (classe 4) para as duas espécies (Tabelas 1 e 2). Estes resultados corroboram aos anteriormente verificados em bioensaios com a espécie *T. cacoeciae*. Assim os ingredientes ativos enxofre 1 (Hafez et al. 1999), pirazofós (Franz et al. 1980), carbaril e fenitrotiona (Hassan et al. 1987), fosmete (Sterk et al. 1999), metidationa (Hassan



1998b), abamectina (Hassan *et al.* 1998) mesmo em outras formulações comerciais foram considerados nocivos a adultos de *T. cacaoeciae*. No entanto, resultados diferentes foram encontrados por Youssef *et al.* (2004) que ao testarem malationa sob *T. cacaoeciae*, em outra formulação comercial e em concentrações superiores (0,143% de i.a.) a avaliada neste estudo, classificaram o produto como moderadamente nocivo (classe 3). Considerando que foram usados o mesmo ingrediente ativo e concentrações superiores, provavelmente estes resultados diferenciados podem ter ocorrido devido a distintos fatores como, componentes utilizados na formulação dos produtos, condições do ambiente onde foram conduzidas as pesquisas, ou ainda a diferentes espécies ou linhagens do parasitóide.

Obtiveram classificação diferenciada, os fungicidas ditianona, enxofre 2, famoxadona + mancozebe, mancozebe 2, pirimetanil, tetraconazol e tiofanato metílico 2; os acaricidas piridaben e fenpiroximato 2; o herbicida glufosinato sal de amônio e os reguladores de crescimento vegetal benziladenina + ácido giberélico e cianamida, representando 30% (12) do total de produtos testados para ambas as espécies (Tabelas 1, 2 e 3). Analisando as classes atribuídas a estes produtos, para cada espécie do parasitóide, pode-se inferir que o fungicida tiofanato metílico 2, o herbicida glufosinato sal de amônio e o regulador de crescimento vegetal benziladenina + ácido giberélico tiveram seus efeitos mais pronunciados sobre adultos de *T. pretiosum*, onde acarretaram maiores reduções no parasitismo de fêmeas (Tabelas 1 e 3). No entanto, cianamida, ditianona, enxofre 2, famoxadona + mancozebe, tetraconazol, fenpiroximato 2, mancozebe 2, piridaben e pirimetanil causaram reduções mais drásticas na capacidade de parasitismo de *T. atopovirilia* sendo considerados mais nocivos a adultos desta espécie (Tabelas 1, 2 e 3).

A maior amplitude nas classes de toxicidade foi observada para o acaricida piridaben, que foi classificado como inócuo (classe 1) para *T. pretiosum* e considerado moderadamente nocivo (classe 3) para *T. atopovirilia* (Tabela 2).

Considerando que os bioensaios para as duas espécies de parasitóides foram realizados seguindo metodologias padronizadas, utilizando-se o mesmo hospedeiro alternativo, *A. kuehniella*, e os agroquímicos avaliados nas mesmas concentrações, então os resultados obtidos poderiam ser atribuídos às características intrínsecas de cada espécie do parasitóide, uma vez que a existência de diferenças de suscetibilidade interespecífica de *Trichogramma* spp. a pesticidas, já havia sido previamente relatada por Bull & Coleman (1985). Desta forma, os resultados supõem uma maior sensibilidade de adultos da espécie *T. atopovirilia* a determinados agroquímicos, e demonstram que a extrapolação de resultados de testes de seletividade obtidos com uma espécie para outra

deve ser cautelosa ou mesmo evitada (Degrande *et al.* 2002).

#### **Bioensaios com Estágios Imaturos de *T. pretiosum* e *T. atopovirilia***

Do total de 19 produtos testados para *T. pretiosum*, 73,68% (14) se mostraram inócuos para todos os estágios de desenvolvimento (Tabelas 1, 2 e 3). Dos 17 agroquímicos avaliados sob estágios imaturos de *T. atopovirilia*, observou-se que 58,82% (10) foram considerados inócuos às três fases de desenvolvimento do inseto (Tabelas 1, 2 e 3).

Comparando os resultados verificou-se que o fungicida/acaricida enxofre 2, os inseticidas fosmete e óleo mineral 2, o herbicida glifosato 5 e o regulador de crescimento vegetal cianamida foram considerados inócuos (classe 1), aos três estágios imaturos de *T. pretiosum* e de *T. atopovirilia* (Tabelas 1, 2 e 3). O inseticida metidationa foi considerado levemente nocivo (classe 2) a imaturos de *T. pretiosum* e de *T. atopovirilia*, no entanto esta classificação foi somente atribuída, respectivamente, às fases de pupa e pré-pupa destas espécies (Tabela 2).

Os demais produtos testados não apresentaram o mesmo comportamento para as duas espécies do parasitóide, sendo enquadrados em classes diferenciadas (Tabelas 1, 2 e 3). Assim, o acaricida/inseticida óleo mineral 1 considerado o mais tóxico dentre os agroquímicos avaliados nos bioensaios de *T. pretiosum* e classificado como levemente nocivo (classe 2) às fases de pré-pupa e pupa, não repetiu os mesmos resultados para *T. atopovirilia* (Tabela 2). Da mesma forma, os inseticidas organofosforados carbaril, fenitrotiona e triclorfom que causaram efeitos deletérios (classes 3 e 4) nos três estágios de desenvolvimento de imaturos de *T. atopovirilia*, foram considerados inócuos em todas as fases imaturas de *T. pretiosum* (Tabela 2).

Bioensaios realizados por Grützmacher *et al.* (2004) com imaturos de *T. cacaoeciae* verificaram que o acaricida/inseticida óleo mineral 1 foi inócuo às três fases de desenvolvimento do inseto. Os mesmos autores avaliaram triclorfom e o consideraram levemente nocivo (classe 2) ao estágio de ovo-larva e moderadamente nocivo às fases de pré-pupa e pupa. Possíveis explicações para os distintos resultados podem estar relacionadas às diferentes concentrações do produto comercial empregadas, ainda às características intrínsecas dos ovos hospedeiros, como permeabilidade do córion e das camadas adjacentes que são variáveis em função da espécie (Cônoli *et al.* 1999b), da mesma forma, diferenças de suscetibilidade interespecíficas de *Trichogramma* spp. (Bull & Coleman, 1985) também poderiam justificar os resultados, já que os testes foram realizados com a espécie *T. cacaoeciae*, utilizando *Sitotroga cerealella* (Olivier) (Lepidoptera: Gelechiidae), como hospedeiro alternativo.

**Tabela 1.** Classes de toxicidade para fungicidas utilizados na Produção Integrada de Maçã obtidas nos experimentos com adultos e estágios imaturos de *T. pretiosum* e *T. atopovirilia*. Temperatura 25±1°C; UR: 70±10%; Fotofase: 14 horas. Pelotas, RS.

Características dos Fungicidas					Classes de Toxicidade <sup>4</sup>							
Nome Técnico	Nome Comercial	DC <sup>1</sup>	C.i.a. <sup>2</sup>	C.f.c. <sup>3</sup>	<i>T. pretiosum</i>				<i>T. atopovirilia</i>			
					AD <sup>5</sup>	OL <sup>6</sup>	PP <sup>7</sup>	PU <sup>8</sup>	AD	OL	PP	PU
Captana 1	Captan 500 PM	240	0,113	0,240	1	-	-	-	-	-	-	-
Captana 2	Captan SC	240	0,115	0,240	1	-	-	-	1	-	-	-
Captana 3	Orthocide 500	240	0,120	0,240	1	-	-	-	-	-	-	-
Clorotalonil	Bravonil Ultrex	150	0,124	0,150	1	-	-	-	1	-	-	-
Cresoxim-Metílico	Stroby SC	20	0,010	0,020	1	-	-	-	1	-	-	-
Difenoconazol	Score	14	0,004	0,014	1	-	-	-	1	-	-	-
Ditianona	Delan	125	0,094	0,125	1	-	-	-	2	-	-	-
Dodina	Dodex 450 SC	130	0,058	0,130	1	-	-	-	1	-	-	-
Enxofre 1	Kumulus DF	600	0,480	0,600	4	1	1	1	4	1	1	2
Enxofre 2	Kumulus DF-AG	600	0,480	0,600	3	1	1	1	4	1	1	1
Famoxadona + Mancozebe	Midas BR	120	0,008 + 0,075	0,120	1	-	-	-	2	-	-	-
Fluquinconazol	Palisade	20	0,005	0,020	1	-	-	-	-	-	-	-
Folpete	Folpan Agricur 500 PM	210	0,105	0,210	1	-	-	-	-	-	-	-
Fosetil	Aliette	250	0,200	0,250	1	-	-	-	-	-	-	-
Imibenconazol	Manage 150	100	0,015	0,100	1	-	-	-	1	-	-	-
Mancozebe 1	Dithane PM	200	0,160	0,200	1	-	-	-	-	-	-	-
Mancozebe 2	Mancozebe Sipcam	200	0,160	0,200	2	-	-	-	3	1	1	1
Mancozebe 3	Manzate 800	200	0,160	0,200	2	-	-	-	2	-	-	-

(cont.)

<sup>1</sup> DC = Dosagem da formulação comercial (g ou mL.100 L<sup>-1</sup>; \* L ou kg.ha<sup>-1</sup>); <sup>2</sup> C.i.a. = Concentração (%) testada do ingrediente ativo na calda; <sup>3</sup> C.f.c. = Concentração (%) testada da formulação comercial na calda; <sup>4</sup> Classes da IOBC para teste de toxicidade inicial sobre adultos e imaturos: 1 = inócuo (<30%), 2 = levemente nocivo (30-79%), 3 = moderadamente nocivo (80-99%) e 4 = nocivo (>99%); 5 Adulto; 6 Ovo-larva; 7 Pré-pupa; 8 Pupa; - Fungicida não-avaliado.

**Tabela 1.** (cont.) Classes de toxicidade para fungicidas utilizados na Produção Integrada de Maçã obtidas nos experimentos com adultos e estágios imaturos de *T. pretiosum* e *T. atopovirilia*. Temperatura 25±1°C; UR: 70±10%; Fotofase: 14 horas. Pelotas, RS.

Características dos Fungicidas					Classes de Toxicidade <sup>4</sup>							
Nome Técnico	Nome Comercial	DC <sup>1</sup>	C.i.a. <sup>2</sup>	C.f.c. <sup>3</sup>	<i>T. pretiosum</i>				<i>T. atopovirilia</i>			
					AD <sup>5</sup>	OL <sup>6</sup>	PP <sup>7</sup>	PU <sup>8</sup>	AD	OL	PP	PU
Mancozebe 4	Persist SC	360	0,160	0,360	1	-	-	-	1	-	-	-
Metiram	Polyram DF	3*	0,140	0,200	1	-	-	-	1	-	-	-
Miclobutanil	Sythane CE	18	0,005	0,018	1	-	-	-	-	-	-	-
Miclobutanil	Sythane PM	12	0,005	0,012	1	-	-	-	-	-	-	-
Oxicloreto de Cobre	Cuprocarb 500	250	0,210	0,250	1	-	-	-	-	-	-	-
Oxicloreto de Cobre	Fungitol Azul	300	0,176	0,300	1	-	-	-	-	-	-	-
Oxicloreto de Cobre + Mancozebe	Cuprozeb	200	0,060 + 0,088	0,200	1	-	-	-	-	-	-	-
Óxido Cuproso	Cobre Sandoz BR	240	0,134	0,240	1	-	-	-	-	-	-	-
Piraclostrobina	Comet	40	0,010	0,040	1	-	-	-	-	-	-	-
Pirazofós	Afugan CE	1*	0,020	0,067	4	1	1	1	4	1	2	2
Pirimetanol	Mythos	150	0,045	0,150	1	-	-	-	2	-	-	-
Propinebe	Antracol 700 PM	4*	0,187	0,267	1	-	-	-	1	-	-	-
Tebuconazol	Folicur 200 CE	50	0,010	0,050	1	-	-	-	1	-	-	-
Tetraconazol	Domark 100 CE	50	0,005	0,050	3	1	1	2	4	1	1	1
Tiofanato Metílico 1	Fungiscan 700 PM	70	0,049	0,070	1	-	-	-	-	-	-	-
Tiofanato Metílico 2	Metiltiofan	90	0,063	0,090	2	-	-	-	1	-	-	-
Tiofanato Metílico 3	Support	100	0,050	0,100	1	-	-	-	1	-	-	-
Triforina	Saprol	125	0,024	0,125	1	-	-	-	-	-	-	-

<sup>1</sup> DC = Dosagem da formulação comercial (g ou mL.100 L<sup>-1</sup>; \* L ou kg.ha<sup>-1</sup>); <sup>2</sup> C.i.a. = Concentração (%) testada do ingrediente ativo na calda; <sup>3</sup> C.f.c. = Concentração (%) testada da formulação comercial na calda; <sup>4</sup> Classes da IOBC para teste de toxicidade inicial sobre adultos e imaturos: 1 = inócuo (<30%), 2 = levemente nocivo (30-79%), 3 = moderadamente nocivo (80-99%) e 4 = nocivo (>99%); 5 Adulto; 6 Ovo-larva; 7 Pré-pupa; 8 Pupa; - Fungicida não-avaliado.

**Tabela 2.** Classes de toxicidade para inseticidas e acaricidas utilizados na Produção Integrada de Maçã, obtidas nos experimentos com adultos e estágios imaturos de *T. pretiosum* e *T. atopovirilia*. Temperatura 25±1°C; UR: 70±10%; Fotofase: 14 horas. Pelotas, RS.

Características dos Inseticidas e Acaricidas					Classes de Toxicidade <sup>4</sup>							
Nome Técnico	Nome Comercial	DC <sup>1</sup>	C.i.a. <sup>2</sup>	C.f.c. <sup>3</sup>	<i>T. pretiosum</i>				<i>T. atopovirilia</i>			
					AD <sup>5</sup>	OL <sup>6</sup>	PP <sup>7</sup>	PU <sup>8</sup>	AD	OL	PP	PU
Abamectina	Vertimec 18 CE	100	0,002	0,100	4	2	1	1	4	1	1	1
Carbaril	Sevin 480 SC	360	0,173	0,360	4	1	1	1	4	3	3	3
Espirodiclofeno	Envidor	20	0,005	0,020	1	-	-	-	1	-	-	-
Fenitrotiona	Sumithion 500 CE	200	0,100	0,200	4	1	1	1	4	3	4	3
Fenpiroximato 1	Kendo 50 SC	100	0,005	0,100	1	-	-	-	1	-	-	-
Fenpiroximato 2	Ortus 50 SC	100	0,005	0,100	1	-	-	-	2	-	-	-
Fosmete	Imidan 500 PM	200	0,100	0,200	4	1	1	1	4	1	1	1
Malationa	Malathion 1000 CE	100	0,100	0,100	4	1	2	1	4	1	1	1
Metidationa	Supracid 400 CE	100	0,040	0,100	4	1	1	2	4	1	2	1
Óleo Mineral 1	Assist	4000	3,024	4,000	3	1	2	2	3	1	1	1
Óleo Mineral 2	Triona	4000	3,200	4,000	3	1	1	1	3	1	1	1
Piridaben	Sanmite	75	0,015	0,075	1	-	-	-	3	2	2	1
Tebufenozida	Mimic 240 SC	90	0,022	0,090	1	-	-	-	1	-	-	-
Triclorfom <sup>9</sup>	Dipterex 500	300	0,150	0,300	4	1	1	1	4	2	4	2

<sup>1</sup> DC = Dosagem da formulação comercial (g ou mL.100 L<sup>-1</sup>); <sup>2</sup> C.i.a. = Concentração (%) testada do ingrediente ativo na calda; <sup>3</sup> C.f.c. = Concentração (%) testada da formulação comercial na calda; <sup>4</sup> Classes da IOBC para teste de toxicidade inicial sobre adultos e imaturos: 1 = inócuo (<30%), 2 = levemente nocivo (30-79%), 3 = moderadamente nocivo (80-99%) e 4 = nocivo (>99%); <sup>5</sup> Adultos; <sup>6</sup> Ovo-larva; <sup>7</sup> Pré-pupa; <sup>8</sup> Pupa; <sup>9</sup> Utilizado como padrão de toxicidade nos bioensaios com adultos; - Inseticida/acaricida não-avaliado.



**Tabela 3.** Classes de toxicidade para herbicidas e outros agroquímicos utilizados na Produção Integrada de Maçã, obtidas nos experimentos com adultos e estágios imaturos de *T. pretiosum* e *T. atopovirilia*. Temperatura 25±1°C; UR: 70±10%; Fotofase: 14 horas. Pelotas, RS.

Características dos Agroquímicos					Classes de Toxicidade <sup>4</sup>							
Nome Técnico	Nome Comercial	DC <sup>1</sup>	C.i.a. <sup>2</sup>	C.f.c. <sup>3</sup>	<i>T. pretiosum</i>				<i>T. atopovirilia</i>			
					AD <sup>5</sup>	OL <sup>6</sup>	PP <sup>7</sup>	PU <sup>8</sup>	AD	OL	PP	PU
Glifosato 1	Glifosato 480 Agripec	6*	1,080	3,000	2	-	-	-	-	-	-	-
Glifosato 2	Glifosato Nortox	6*	1,080	3,000	3	1	1	1	-	-	-	-
Glifosato 3	Gliz 480 CS	6*	1,080	3,000	3	1	1	1	-	-	-	-
Glifosato 4	Polaris	5*	0,900	2,500	2	-	-	-	-	-	-	-
Glifosato 5	Roundup Original	12*	2,160	6,000	3	1	1	1	3	1	1	1
Glifosato 6	Roundup WG	3,5*	1,260	1,750	3	1	1	1	-	-	-	-
Glufosinato Sal de Amônio	Finale	2*	0,200	1,000	3	1	1	1	2	-	-	-
Benziladenina + Ácido Giberélico	Promalin	9000	0,1692 + 0,1692	9,000	2	-	-	-	1	-	-	-
Cianamida	Dormex	1200	0,624	1,200	3	1	1	1	4	1	1	1
Cloridrato de Aviglicina	Retain	0,83*	0,062	0,415	1	-	-	-	1	-	-	-
Fosfito de Potássio	Fitofos K Plus	300	-	0,300	1	-	-	-	1	-	-	-

<sup>1</sup> DC = Dosagem da formulação comercial (g ou mL.100 L<sup>-1</sup>; \* L ou kg.ha<sup>-1</sup>); <sup>2</sup> C.i.a. = Concentração (%) testada do ingrediente ativo na calda; <sup>3</sup> C.f.c. = Concentração (%) testada da formulação comercial na calda; <sup>4</sup> Classes da IOBC para teste de toxicidade inicial sobre adultos e imaturos: 1 = inócuo (<30%), 2 = levemente nocivo (30-79%), 3 = moderadamente nocivo (80-99%) e 4 = nocivo (>99%); 5 Adultos; 6 Ovo-larva; 7 Pré-pupa; 8 Pupa; - Agroquímico não-avaliado.

Para os agroquímicos avaliados sob imaturos de *T. pretiosum* foram somente atribuídas as classes 1 e 2, inócuo e levemente nocivo, respectivamente (Tabelas 1, 2 e 3), o que é extremamente positivo no que diz respeito à sua utilização no contexto do manejo integrado de pragas na PIM. Reduções mais drásticas na emergência de adultos foram verificadas para a espécie *T. atopovirilia*, sendo constatadas as classes 3 (moderadamente nocivo) e 4 (nocivo) nos bioensaios conduzidos com imaturos deste parasitóide (Tabela 2). Este resultado demonstra a maior sensibilidade de *T. atopovirilia* a alguns agroquímicos.

Considerando os agroquímicos testados, a fase de desenvolvimento de ovo-larva (interior do ovo do hospedeiro) foi a considerada menos sensível, visto que teve maioria dos produtos, 94,74% para *T. pretiosum* e 76,47% para *T. atopovirilia* considerados inócuos (classe 1) (Tabelas 1, 2 e 3). Por outro lado, os estágios de pupa e de pré-pupa, foram para *T. pretiosum* e *T. atopovirilia*, respectivamente, os mais sensíveis à ação dos agroquímicos avaliados, incluindo as classes 3 e 4 (Tabelas 1, 2 e 3). Estes resultados discordam dos esperados, visto que na literatura (Hassan 1998a), a fase de pupa, é considerada como sendo o estágio de vida menos sensível do parasitóide *Trichogramma* e onde o inseto estaria menos exposto à ação de agroquímicos.

Além dos constantes tratamentos com inseticidas organofosforados, reconhecidamente nocivos a populações de inimigos naturais, alguns agroquímicos que não possuem seu modo de ação, diretamente relacionados à fisiologia dos insetos como fungicidas, herbicidas e reguladores de crescimento vegetal, também podem acarretar efeitos deletérios aos parasitóides do gênero *Trichogramma*, como observado neste trabalho (Tabelas 1, 2 e 3).

Conforme constatado neste estudo a espécie *T. atopovirilia* foi a que demonstrou maior sensibilidade aos agroquímicos avaliados. Nos bioensaios com adultos, 40% dos agroquímicos foram enquadrados nas maiores classes de toxicidade (3 e 4), enquanto que para *T. pretiosum*, este valor foi de 30%. Já em testes com imaturos de *T. atopovirilia*, 41,18% dos produtos afetaram a emergência de adultos nos diferentes estágios de desenvolvimento ao passo que para *T. pretiosum* somente 26,31% (Tabelas 1, 2 e 3).

#### Agradecimentos

Os autores agradecem ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico do Brasil (CNPq) e à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio Grande do Sul (FAPERGS) pelo apoio financeiro para a realização desta pesquisa.

#### Literatura Citada

Bull, D.L. & R.J. Coleman. 1985. Effects of pesticides on *Trichogramma* spp. Southwest. Entomol. 8:156-168.

- Cônsoli, F.L., J.R.P. Parra & S.A. Hassan. 1998. Side-effects of insecticides used in tomato fields on the egg parasitoid *Trichogramma pretiosum* Riley (Hym., Trichogrammatidae), a natural enemy of *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lep., Gelechiidae). J. Appl. Entomol. 122:43-47.
- Cônsoli, F.L., M.M. Rossi & J.R.P. Parra. 1999a. Developmental time and characteristics of the immature stages of *Trichogramma galloi* and *T. pretiosum* (Hymenoptera, Trichogrammatidae). Rev. Bras. Entomol. 43:271-275.
- Cônsoli, F.L., E.W. Kitajima & J.R.P. Parra. 1999b. Ultrastructure of the natural and factitious host eggs of *Trichogramma galloi* and *T. pretiosum* (Hymenoptera, Trichogrammatidae). Int. J. Insect Morphol. Embryol. 28:211-229.
- Degrande, P.E., P.R. Reis, G.A. Carvalho & L.C. Belarmino. 2002. Metodologia para avaliar o impacto de pesticidas sobre inimigos naturais. p.71-93. In J.R.P. Parra, P.S.M. Botelho, B.S.Corrêa-Ferreira & J.M.S. Bento (eds.). Controle biológico no Brasil. São Paulo: Manole. 609p.
- Franz, J.M., H. Bogenschütz, S.A. Hassan, P. Huang, E. Naton, H. Suter, G. Viggiani. 1980. Results of a joint pesticide test programme by the working group: "pesticides and beneficial arthropods". Entomophaga. 25: 231-236.
- 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.
- Ferreira, A.J., G.A. Carvalho, M. Botton, O. Lasmæ. 2006. Seletividade de inseticidas usados na cultura da macieira a duas populações de *Chrysoperla externa* (Hagen, 1861) (Neuroptera: Chrysopidae). Ciênc. Rur. 36: 378-384.
- Giolo, F.P., A.D. Grützmacher, C.G. Manzoni, J.C. Fachinello, S.D. Nörnberg, G.J. Stefanello Júnior. 2005a. Seletividade de agrotóxicos indicados na produção integrada de pêssego a *Trichogramma pretiosum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae). Rev. Bras. Frut. 27: 222-225.
- Giolo, F.P., A.D. Grützmacher, S.O. Procópio, C.G. Manzoni, C.A.B. Lima, S.D. Nörnberg. 2005b. Seletividade de formulações de glyphosate a *Trichogramma pretiosum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae). Planta Dan. 23: 457-462.
- 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. 1992. Guideline for the evaluation of side-effects of plant protection product on *Trichogramma cacoeciae*. In: International Organization for Biological Control of Noxious Animals and Plants. Working Group "Pesticides and Beneficial Organisms". 18-39.
- Hassan, S.A. 1994. The effects of pesticides on beneficial organisms: activities of the IOBC International Working Group. In: Simpósio de Controle Biológico, 4., Gramado: Embrapa Clima Temperado, 1994. p.114-118.
- Hassan, S.A. 1998a. 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. 1998b. The side-effects of 161 pesticides on the egg parasitoid *Trichogramma cacoeciae* Marchal (Hymenoptera: Trichogrammatidae). Egg Parasitoids 63-76.
- 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., R. Albert, F. Bigler, P. Blaisinger, H. Bogenschütz, E. Boller, J. Brun, P. Chiverton, P.J. Edwards, W.D. Englert, P. Huang, C. Inglesfield, E. Naton, P.A. Oomen, W.P.J. Overmeer, W. Rieckmann, L. Samsoe-Petersen, A. Stäubli, J.J. Tuset, G. Viggiani, G. Vanwetswinkel. 1987. Results of the third joint pesticide testing programme by the IOBC/WPRS - Working Group "Pesticides and Beneficial Organisms". Z. Angew. Entomol. 103: 92-107.
- 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, 158p.
- Hassan, S.A., B. Hafes, 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.
- Kovaleski, A. 2004. Pragas. p.10-33. In A. Kovaleski (ed.). Maçã: fitossanidade. Bento Gonçalves: Embrapa Uva e Vinho. 85p. (Frutas do Brasil 38).
- Kovaleski, A., L.G. Ribeiro. 2002. Manejo de pragas na produção integrada de maçã. Bento Gonçalves: Embrapa Uva e Vinho. 8p. (Circular Técnica 24).
- Lorenzoni, I. 2005. Certificação em PIM. In: Encontro Nacional sobre Fruticultura de Clima Temperado, 8., Fraiburgo: Epagri, 2005. p.143-154.
- Manzoni, C.G., A.D. Grützmacher, F.P. Giolo, C.A.B. Lima, S.D. Nörnberg, C. Müller, W.R. Härter. 2006. Susceptibilidade de adultos de *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae) a fungicidas utilizados no controle de doenças da macieira. Neotrop. Entomol. 35: 223-230.
- Molina, R.M.S., V. Fronza, J.R.P. Parra. 2005. Seleção de *Trichogramma* spp., para o controle de *Ecdytolopha aurantiana*, com base na biologia e exigências térmicas. Rev. Bras. Entomol. 49: 152-158.
- 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 cranaodes* (Meyrick) (Lepidoptera: Tortricidae) em macieira. Rev. Bras. Frut. 26: 171-172.
- 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., 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.
- Smith, S.M. 1996. Biological control with *Trichogramma*: advances, successes, and potential of their use. Annu. Rev. Entomol. 41: 375-406.
- 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. Samsoe-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.
- Youssef, A. I., F.N. Nasr, S.S. Stefanos, S.S.A. Elkhair, W.A. Shehata, E. Agamy, A. Herz & S. A. Hassan. 2004. The side-effects of plant protection products used in olive cultivation on the hymenopterous egg parasitoid *Trichogramma cacoeciae* Marchal. J. Appl. Entomol. 128:593-59