

UNIVERSIDADE FEDERAL DA GRANDE DOURADOS

**TÉCNICAS DE PRODUÇÃO DE *Ooencyrtus submetallicus* (HYMENOPTERA:
ENCYRTIDAE) E SELETIVIDADE DE INSETICIDAS**

WILLIAN YOSHIO SANOMIA

**DOURADOS
MATO GROSSO DO SUL
2019**

**TÉCNICAS DE PRODUÇÃO DE *Ooencyrtus submetallicus* (HYMENOPTERA:
ENCYRTIDAE) E SELETIVIDADE DE INSETICIDAS**

WILLIAN YOSHIO SANOMIA

Engenheiro Agrônomo

Orientador: Prof. Dr. FABRICIO FAGUNDES PEREIRA

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia da Faculdade de Ciências Agrárias da Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD), para obtenção do título de Mestre em Agronomia.

Área de concentração: Produção Vegetal

DOURADOS
MATO GROSSO DO SUL
2019

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP).

S228t Sanomia, Willian Yoshio
TÉCNICAS DE PRODUÇÃO DE *Ooencyrtus submetallicus* (HYMENOPTERA:
ENCYRTIDAE) E SELETIVIDADE DE INSETICIDAS [recurso eletrônico] / Willian Yoshio
Sanomia. -- 2019.
106 f.

Orientador: Fabricio Fagundes Pereira.
Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Federal da Grande Dourados, 2019.
Disponível no Repositório Institucional da UFGD em:
<https://portal.ufgd.edu.br/setor/biblioteca/repositorio>

1. Controle biológico. 2. metodologia de criação. 3. criopreservação. 4. parasitoides de ovos.
5. percevejo-marrom-da-soja. I. Título.

Ficha catalográfica elaborada automaticamente de acordo com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

©Direitos reservados. Permitido a reprodução parcial desde que citada a fonte.


**“TÉCNICAS DE PRODUÇÃO DE *Ooencyrtus submetallicus* (HYMENOPTERA:
ENCYRTIDAE) E SELETIVIDADE DE INSETICIDAS.”**

por


Willian Yoshio Sanomia

Dissertação apresentada como parte dos requisitos exigidos para obtenção do título de MESTRE
EM AGRONOMIA
Área de Concentração: Produção Vegetal

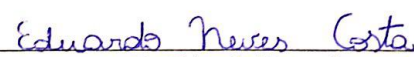
Aprovado em: 01/03/2019



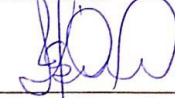
Dr. Fabricio Fagundes Pereira
Orientador/Presidente – UFGD




Dr. Crébio José Ávila
Membro Titular – Embrapa Agropecuária Oeste



Dr. Eduardo Neves Costa
Membro Titular – UFGD/PNPD



Dra. Ivana Fernandes da Silva
Membro Titular – UFGD/PNPD



Dr. Paulo Eduardo Degrande
Membro Titular – UFGD

“Você ganha força, coragem e confiança através de cada experiência em que você realmente para e encara o medo de frente.”

Eleanor Roosevelt

Ao meu pai Luiz Kiyoshi Sanomia
À minha mãe Mary Heiko Miyaki Sanomia (*in memoriam*)
Aos meus irmãos Edson, Lídia e Anderson

Dedico

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal da Grande Dourados, à Faculdade de Ciências Agrárias (FCA), à Faculdade de Ciências Biológicas e Ambientais (FCBA), ao Programa de Pós-Graduação em Entomologia e Conservação da Biodiversidade (PPGECB) e ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia (PPGAGRO) pela oportunidade de realização do Curso de Mestrado em Agronomia.

Ao Prof. Dr. Fabricio Fagundes Pereira pelas oportunidades concedidas, valiosos ensinamentos, dedicação, orientações, conselhos ao longo do Mestrado, por acreditar na minha capacidade e por ter me ensinado o real significado da pesquisa científica.

Ao Prof. Dr. Valmir Antônio Costa pela identificação taxonômica do parasitoide.

À Prof.^a Dra. Jocélia Grazia pela identificação taxonômica do percevejo-marrom-da-soja.

A todos os professores do Programa de Pós-Graduação em Agronomia pelos ensinamentos.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa concedida.

A todos os colegas do Laboratório de Controle Biológico de Insetos (LECOBIOL) que proporcionaram amizade, caráter e bons momentos no laboratório e em confraternizações.

A todas as amigadas conquistadas durante a minha realização do Curso de Mestrado.

Em especial, à minha irmã Lídia Sanomia que não mediu esforços e me auxiliou na coleta dos percevejos.

A todos que de alguma forma colaboraram para realização deste trabalho.

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS – CAPÍTULO I	10
LISTA DE TABELAS – CAPÍTULO I.....	10
LISTA DE FIGURAS – CAPÍTULO II	11
LISTA DE TABELAS – CAPÍTULO II	11
LISTA DE TABELAS – CAPÍTULO III.....	11
RESUMO.....	12
ABSTRACT.....	13
INTRODUÇÃO GERAL	14
REVISÃO DE LITERATURA	16
Importância da cultura da soja [<i>Glycine max</i> (L.) Merrill]	16
Percevejos (Pentatomidae) na cultura da soja.....	16
Controle de Percevejo-marrom na cultura da soja	18
Parasitoides de ovos de percevejos na cultura da soja	18
Multiplicação de parasitoides	19
Armazenamento de ovos de percevejos a baixa temperatura.....	20
Seletividade de inseticidas.....	21
Objetivos Gerais.....	22
Objetivos Específicos	22
Hipótese (s)	23
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	23
CAPÍTULO I – Reprodução de <i>Ooencyrtus submetallicus</i> (Howard, 1897) (Hymenoptera: Encyrtidae) em ovos de <i>Euschistus heros</i> (Fabricius, 1974) (Hemiptera: Pentatomidae) com diferentes densidades	33
Resumo	33
Abstract	34
Introdução	35
Material e Métodos	37
Etapa I - Criação de insetos utilizados nos experimentos.	37
<i>Ooencyrtus submetallicus</i> (Hymenoptera: Encyrtidae)	37
<i>Euschistus heros</i> (Hemiptera: Pentatomidae)	37
Etapa II - Desenvolvimento experimental.	37
Densidade de ovos de <i>E. heros</i> submetidos ao parasitoide <i>O. submetallicus</i>	37
Análises estatísticas.....	38

Resultados	39
Discussão	39
Conclusão.....	44
Referências Bibliográficas	44
CAPÍTULO II – Reprodução de <i>Ooencyrtus submetallicus</i> (Hymenoptera: Encyrtidae) em ovos criopreservados de <i>Euschistus heros</i> (Hemiptera: Pentatomidae).....	55
Resumo	55
Abstract.....	56
Introdução	57
Material e Métodos	58
Etapa I - Criação de insetos utilizados nos experimentos	58
<i>Ooencyrtus submetallicus</i> (Hymenoptera: Encyrtidae)	58
<i>Euschistus heros</i> (Hemiptera: Pentatomidae)	59
Etapa II – Criopreservação de ovos de <i>E. heros</i>	59
Etapa III – Desenvolvimento experimental	59
Desempenho de <i>O. submetallicus</i> em ovos de <i>E. heros</i> armazenados em nitrogênio líquido por 0, 30, 60, 90, 120, 150 ou 180 dias.....	59
Análises estatísticas.....	60
Resultados	61
Discussão	61
Conclusão.....	64
Referências Bibliográficas	64
CAPÍTULO III – Seletividade de inseticidas a <i>Ooencyrtus submetallicus</i> (Hymenoptera: Encyrtidae) em condições de laboratório ampliado	74
Resumo	74
Abstract.....	75
Introdução	76
Material e Métodos	77
Etapa I - Criação de insetos utilizados nos experimentos.	78
<i>Ooencyrtus submetallicus</i> (Hymenoptera: Encyrtidae)	78
<i>Euschistus heros</i> (Hemiptera: Pentatomidae)	78
Etapa II – Sistema de Avaliação da Seletividade de Pesticidas em Condições de Laboratório Estendido (ASPECLE).....	78
Sistema de ventilação	79
Gaiolas de seletividade.....	79
Etapa III – Substrato, Inseticidas e Pulverização	80
Substrato	80
Inseticidas avaliados.....	80

Pulverização dos inseticidas	80
Etapa IV – Desenvolvimento experimental	81
Condução dos bioensaios	81
Avaliações	82
Mortalidade	82
Redução no Parasitismo	82
Análises estatísticas	83
Resultados	83
Discussão	84
Conclusão	87
Referências Bibliográficas	88
Considerações Gerais	96
Considerações Finais	96
ANEXOS	98

LISTA DE FIGURAS – CAPÍTULO I

Figura 1. Porcentagem de parasitismo por fêmeas de *Ooencyrtus submetallicus* (Hymenoptera: Encyrtidae) durante 24 horas em função da densidade de ovos de *Euschistus heros* (Hemiptera: Pentatomidae)..... 50

Figura 2. Porcentagem de emergência de adultos de *Ooencyrtus submetallicus* (Hymenoptera: Encyrtidae) em função da densidade de ovos de *Euschistus heros* (Hemiptera: Pentatomidae) expostos ao parasitismo por fêmeas durante 24 horas..... 51

Figura 3. Número médio de ovos de *Euschistus heros* (Hemiptera: Pentatomidae) parasitados por fêmea de *Ooencyrtus submetallicus* (Hymenoptera: Encyrtidae) durante 24 horas em função da densidade de ovos. 52

Figura 4. Número médio de indivíduos de *Ooencyrtus submetallicus* (Hymenoptera: Encyrtidae) emergido por ovo de *Euschistus heros* (Hemiptera: Pentatomidae) parasitados pela fêmea de *O. submetallicus* durante 24 horas em função da densidade de ovos. 53

LISTA DE TABELAS – CAPÍTULO I

Tabela 1. Médias (\pm erro padrão) do comprimento da tibia posterior (mm), duração do ciclo de vida (ovo-adulto), longevidade (dias) e razão sexual [$\Sigma_{\text{f}} / \Sigma (\text{f} + \text{m})$] de adultos de *Ooencyrtus submetallicus* (Hymenoptera: Encyrtidae) submetidos a diferentes densidades de ovos de *Euschistus heros* (Hemiptera: Pentatomidae)..... 54

LISTA DE FIGURAS – CAPÍTULO II

- Figura 1.** Parasitismo de *Ooencyrtus submetallicus* (Hymenoptera: Encyrtidae) em função do período de armazenamento de ovos de *Euschistus heros* (Hemiptera: Pentatomidae) em nitrogênio líquido à -196 °C e expostos por 24 horas ao parasitismo 69
- Figura 2.** Emergência de *Ooencyrtus submetallicus* (Hymenoptera: Encyrtidae) em função do período de armazenamento de ovos de *Euschistus heros* (Hemiptera: Pentatomidae) em nitrogênio líquido à -196 °C e expostos por 24 horas ao parasitismo. 70
- Figura 3.** Número de ovos de *Euschistus heros* (Hemiptera: Pentatomidae) parasitados por fêmea de *Ooencyrtus submetallicus* (Hymenoptera: Encyrtidae) durante 24 horas em função do período de armazenamento de ovos em nitrogênio líquido à -196 °C..... 71
- Figura 4.** Número médio de indivíduos de *Ooencyrtus submetallicus* (Hymenoptera: Encyrtidae) por ovo de *Euschistus heros* (Hemiptera: Pentatomidae) em função do período de armazenamento de ovos parasitados..... 72

LISTA DE TABELAS – CAPÍTULO II

- Tabela 1.** Médias (\pm erro padrão) do comprimento da tibia posterior (mm), duração do ciclo de vida (dias), longevidade (dias) e razão sexual [$\Sigma \text{♀} / \Sigma (\text{♀} + \text{♂})$] de adultos de *Ooencyrtus submetallicus* (Hymenoptera: Encyrtidae) submetidos a ovos de *Euschistus heros* (Hemiptera: Pentatomidae) armazenados por diferentes períodos em nitrogênio líquido à -196 °C. 73

LISTA DE TABELAS – CAPÍTULO III

- Tabela 1.** Inseticidas registrados para o controle de insetos-praga na cultura da soja, avaliados sobre adultos de *Ooencyrtus submetallicus* (Hymenoptera: Encyrtidae)..... 93
- Tabela 2.** Médias (\pm erro padrão) das características biológicas dos indivíduos de *Ooencyrtus submetallicus* (Hymenoptera: Encyrtidae) submetidos ao teste de seletividade em condições de laboratório ampliado..... 94
- Tabela 3.** Médias (\pm erro padrão) das características biológicas dos indivíduos de *Ooencyrtus submetallicus* (Hymenoptera: Encyrtidae) submetidos ao teste de seletividade em condições de laboratório ampliado..... 95

Técnicas de produção de *Ooencyrtus submetallicus* (Hymenoptera: Encyrtidae) e seletividade de inseticidas

RESUMO

As técnicas de produção de parasitoides bem como os testes de seletividade de inseticidas são fundamentais para sua reprodução e posterior, liberação a campo, visando o controle dos principais insetos-praga. O objetivo geral foi avaliar as técnicas de reprodução de fêmeas de *Ooencyrtus submetallicus* (Hymenoptera: Encyrtidae) em ovos de *Euschistus heros* (Hemiptera: Pentatomidae) em diferentes densidades e armazenados em nitrogênio líquido (-196°C). Além da seletividade de inseticidas usando o sistema de Avaliação da Seletividade de Pesticidas em Condições de Laboratório Estendido (ASPECLE) sobre este parasitoide. Os experimentos foram conduzidos no Laboratório de Controle Biológico de Insetos (LECOBIOL) e em casa de vegetação da Faculdade de Ciências Biológicas e Ambientais (FCBA), da Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD), Dourados, Mato Grosso do Sul. Para isso, foram desenvolvidos os seguintes bioensaios: reprodução de *O. submetallicus* em ovos de *E. heros* com diferentes densidades; reprodução de *O. submetallicus* em ovos criopreservados (-196°C) de *E. heros*; e seletividade de inseticidas a *O. submetallicus* em condições de laboratório ampliado. A melhor reprodução de *O. submetallicus* em ovos de *E. heros* em diferentes densidades foi obtida ao utilizar a combinação de 1:6 (parasitoide: hospedeiro). Foi verificado que fêmeas de *O. submetallicus* conseguem se reproduzir em ovos de *E. heros* armazenados em nitrogênio líquido (-196°C) por 0, 30, 60, 90, 120, 150 ou 180 dias com parasitismo e emergência acima de 70 %. Em relação ao ensaio de seletividade, os produtos novaluron (0,07 g L⁻¹) e teflubenzuron (0,15 g L⁻¹) foram classificados como classe 1 – inócuo; beta-ciflutrina + imidacloprid (1,00 g L⁻¹) foi classe 3 – moderadamente prejudicial; e lambda-cialotrina + tiametoxan (0,20 g L⁻¹) e metomil (1,99 g L⁻¹) foi classe 4 – nocivo, em condições de laboratório estendido. *O. submetallicus* pode ser produzido em laboratório sem ter suas características biológicas afetadas, na densidade adequada, períodos de armazenamento em nitrogênio líquido até 180 dias, e seletivo a alguns inseticidas utilizados no controle de insetos-praga na cultura da soja.

Palavras-chave: Controle biológico; metodologia de criação; criopreservação; parasitoides de ovos; percevejo-marrom-da-soja.

Production techniques of *Ooencyrtus submetallicus* (Hymenoptera: Encyrtidae) and selectivity of insecticides

ABSTRACT

The techniques of parasitoid production as well as the selectivity tests of insecticides are fundamental for its reproduction and later, release to the field, aiming at the control of the main insect pests. The objective of this study was to evaluate the reproduction techniques of *Ooencyrtus submetallicus* (Hymenoptera: Encyrtidae) in *Euschistus heros* (Hemiptera: Pentatomidae) eggs at different densities and stored in liquid nitrogen (-196°C). In addition to the selectivity of insecticides using the system Evaluation of Pesticide Selectivity in Extended Laboratory Conditions (ASPECLE) on this parasitoid. The experiments were conducted at the Insect Biological Control Laboratory (LECOBIOL) and at the Faculdade de Ciências Biológicas e Ambientais (FCBA), Federal University of Grande Dourados (UFGD), in Dourados, Mato Grosso do Sul. The following bioassays were developed: reproduction of *O. submetallicus* in eggs of *E. heros* with different densities; reproduction of *O. submetallicus* in cryopreserved eggs (-196°C) of *E. heros*; and selectivity of insecticides to *O. submetallicus* on extended laboratory conditions. The best reproduction of *O. submetallicus* in *E. heros* eggs at different densities was obtained using the 1: 6 (parasitoid: host) combination. It was verified that females of *O. submetallicus* can also reproduce in eggs of *E. heros* stored in liquid nitrogen (-196°C) for 0, 30, 60, 90, 120, 150 or 180 days with parasitism and emergence above 70%. Regarding the selectivity test, the products novaluron (0.07 g L⁻¹) and teflubenzuron (0.15 g L⁻¹) were classified as Class 1 - innocuous, beta-cyfluthrin + imidacloprid (1.00 g L⁻¹) was Class 3 - moderately harmful and lambda-cyhalothrin + thiamethoxan (0.20 g L⁻¹) and methomyl (1.99 g L⁻¹) was Class 4 - harmful on extended laboratory conditions. *O. submetallicus* can be produced in the laboratory without having its biological characteristics affected, in the adequate density, storage periods in liquid nitrogen until 180 days, and selective to some insecticides used in the control of insect pests in the soybean culture.

Key words: Biological control; rearing methodology; cryopreservation; egg parasitoid; Neotropical Brown Stink Bug.

INTRODUÇÃO GERAL

O percevejo-marrom-da-soja *Euschistus heros* (Fabricius, 1794) (Hemiptera: Pentatomidae) é considerado um dos principais insetos-praga que atacam a cultura da soja (*Glycine max* [L.] Merrill Fabales: Fabaceae) na Argentina e no Brasil (SOSA-GOMEZ e SILVA, 2010; SALUSO et al., 2011; SILVA et al., 2014; PANIZZI e LUCINI, 2016; TUELHER et al., 2018). É responsável por causar reduções significativas de produtividade em função de seus danos, bem como sua ampla distribuição e adaptação às principais regiões produtoras deste grão (TURCHEN et al., 2015). A principal forma de controle desse percevejo é por meio de pulverizações com inseticidas sintéticos (BUENO et al., 2013; LAUMANN et al., 2018) onde sua frequente utilização pode promover a evolução da resistência do inseto-alvo, além de, impactar negativamente o ambiente (BUENO et al., 2011).

Na cultura da soja, os parasitoides de ovos são considerados importantes reguladores naturais da população de *E. heros* (PACHECO e CORRÊA-FERREIRA, 2000), impedindo que as ninfas eclodam e futuramente causem danos (GODOY et al., 2005). No Brasil, 23 espécies de parasitoides já foram relatadas no controle de percevejos, dentre eles destacam-se *Trissolcus basallis* (Wollaston, 1858) e *Telenomus podisi* (Ashmead, 1893) (Hymenoptera: Platygasteridae) (BUENO et al., 2012) utilizados em larga escala em programas de controle biológico, devido sua eficiência no parasitismo de seus hospedeiros (PACHECO e CORRÊA-FERREIRA, 2000; FAVETTI et al., 2014).

Ooencyrtus submetallicus (Howard, 1897) (Hymenoptera: Encyrtidae) é um endoparasitoide de ovos (WILSON e WOOLCOCK, 1960) que possui diversos hospedeiros da família Pentatomidae (FERREIRA, 2016; FACA, 2017; CORRÊA-FERREIRA e MOSCARDI, 1995; GOLIN et al., 2011) bem como de *Erinnyis ello* (Linnaeus, 1758) (Lepidoptera: Sphingidae) (SILVA, 2017). Em laboratório, este parasitoide tem apresentado porcentagens de parasitismo e emergência importantes sobre seus hospedeiros na cultura da soja (FERREIRA, 2016), podendo buscar mais resultados de sua capacidade, o qual, seria interessante utilizar como um agente dentro do controle biológico em programas de Manejo Integrado de Pragas (MIP).

Para atender a demanda de parasitoides a serem utilizados no controle de insetos-praga é preciso selecionar, primeiramente, um hospedeiro alternativo de fácil criação, como também de baixo custo (PARRA et al., 2002). Para isso, o conhecimento sobre a densidade de hospedeiros é um fator determinante para adquirir a qualidade de descendentes dos parasitoides

(PEREIRA et al., 2010) sendo atribuída aos parasitoides que possuem respostas comportamentais diante da densidade do hospedeiro, podendo levar a uma taxa de parasitismo elevada dependente da densidade e à regulação local eficiente das populações de percevejos (LAUMANN et al., 2008). A relação entre número de parasitoide e hospedeiros, pode variar de acordo com a preferência pela espécie, a idade e o tempo de exposição ao hospedeiro (FARIA et al., 2000).

O armazenamento de ovos a baixas temperaturas por períodos indeterminados em nitrogênio líquido é uma técnica que permite armazenar ovos de percevejos pentatomídeos a serem utilizados futuramente (ORR, 1988), sendo uma alternativa eficaz que permite a sincronização da produção do parasitoide e sua liberação a campo (COLINET e BOIVIN, 2011; SPÍNOLA-FILHO et al., 2014).

Conhecidamente, em programas de controle biológico os inimigos naturais são os grandes responsáveis por regular a população de diversos insetos-praga nos mais diversos agroecossistemas (HASSAN, 1994). Atualmente, o volume utilizado de inseticidas que podem ocasionar danos a estes agentes é imenso, então, com o propósito de que haja a compatibilidade entre inseticidas e inimigos naturais, estuda-se a seletividade de inseticidas (BACCI et al., 2002; BARBOSA et al., 2009; EL-WAKEIL et al., 2013). A partir do conhecimento sobre a seletividade do inseticida é possível determinar um padrão de uso mais seletivo, reduzindo assim a toxicidade aos inimigos naturais (CORSO et al., 1999).

As técnicas de criação massal de *O. submetallicus* precisam ser compreendidas para produzi-los com qualidade e em larga escala. A qualidade de produção massal resulta em descendentes de parasitoides, que são eficientes na regulação populacional de seus hospedeiros. Além de técnicas de armazenamentos de ovos de percevejos, à baixa temperatura, que permite a utilização destes ovos, para produção de parasitoide em larga escala e atender a demanda da utilização destes agentes de controle biológico, e testar os inseticidas e determinar sua seletividade ao parasitoide.

REVISÃO DE LITERATURA

Importância da cultura da soja [*Glycine max* (L.) Merrill]

A soja é a leguminosa mais importante no cenário agrícola mundial, e representa uma das principais *commodities* no Brasil (STURMER, 2014; SCHUNEMANN, 2018; LIMA et al., 2019). Sua importância está relacionada com seu teor de óleo e farelo utilizados na alimentação humana e animal (EMBRAPA, 2014).

No Brasil, a soja é cultivada em aproximadamente 36 milhões de hectares, atingindo um aumento de 1,7% de área plantada em relação à safra anterior, com uma estimativa de produtividade média de 3322 kg.ha⁻¹ e uma produção média de aproximadamente 118,8 milhões de toneladas para a safra 2018/2019, sendo o estado de Mato Grosso do Sul o quarto maior produtor do Brasil (CONAB, 2019). Atualmente, Estados Unidos e Brasil são os principais produtores de soja seguidos pela Argentina, sendo o Brasil o maior exportador mundial com 75 milhões de toneladas destes grãos (CONAB, 2019). Porém, vários desafios precisam ser alcançados para atingir níveis superiores de produção diante do crescimento global, por exemplo, a taxa de produtividade anual é de 1,3% e espera-se um aumento de 2,4% até 2050, para atender a demanda de alimentos (RAY et al., 2013). Para garantir a segurança alimentar, é necessária uma produção consistente desta leguminosa para suprir as demandas mundiais (ROCHA et al., 2015).

Portanto, é necessário o desenvolvimento de novas tecnologias agrícolas capazes de tornar o processo de produção mais eficiente e melhorar os rendimentos, a fim de atender à demanda mundial de aumento da produção de soja, sem que haja a necessidade de aumento de áreas cultivadas (RANULFI, 2018).

Percevejos (Pentatomidae) na cultura da soja

O rendimento da produtividade da soja pode estar diretamente relacionado a diversos fatores, dentre eles, o ataque de insetos-praga durante todo o seu ciclo de desenvolvimento (BELORTE et al., 2003; EDUARDO et al., 2018), sendo um dos principais problemas encontrados em lavouras de soja o complexo de percevejos (ROCHA et al., 2015).

Os percevejos pentatomídeos possuem diversos registros de espécies que são pragas-chave de culturas de importância econômica e, entre predadores, algumas espécies possuem importância como agentes de controle biológico de certos insetos-praga (GRAZIA et al., 1999).

A fase de colonização pelos percevejos na cultura da soja ocorre no final da fase vegetativa e início da floração, onde durante sua alimentação inserem seus estiletos em diferentes estruturas da planta, e, preferencialmente, alimentam-se das vagens, local em que se encontram os grãos da soja (CORRÊA-FERREIRA, 2005). As lesões mais comprometedoras estão associadas com a injeção de enzimas digestivas que reduzirão a qualidade, à perda de germinação e ao vigor das sementes (OLIVEIRA, 2010) essa perda pode representar 125 kg ha⁻¹, considerando um percevejo.m² (GUEDES et al., 2012). O ataque destes insetos-praga resulta em distúrbios fisiológicos, além de facilitar a penetração de fungos, vírus e bactérias (NUNES e CORRÊA-FERREIRA, 2002).

No Brasil, predominam três espécies que estão no complexo de percevejos pentatomídeos, dentre eles: Percevejo-verde-pequeno *Piezodorus guildinii* (Westwood, 1837), Percevejo-verde *Nezara viridula* (Linnaeus, 1758) e Percevejo-marrom-da-soja *Euschistus heros* (Fabricius, 1794) (CORRÊA-FERREIRA, 1993; BELORTE et al., 2003; GUEDES et al., 2012; PANIZZI et al., 2012).

Piezodorus guildinii é uma espécie neotropical de baixa incidência encontrada no sul dos Estados Unidos até a Argentina, causa danos mais severos devido a maior área de aparato de alimentação (CORRÊA-FERREIRA e AZEVEDO, 2002; DEPIERI e PANIZZI, 2010). *Nezara viridula* é uma espécie que está diminuindo em abundância nas Américas, podendo estar relacionado ao uso de herbicidas no controle de plantas daninhas, na qual são suas hospedeiras, as operações agrícolas, bem como, a adoção massiva do sistema de plantio direto e sistema de cultivo múltiplo, a competição interespecífica entre espécies de pentatomídeos, o impacto dos inimigos naturais e as mudanças climáticas global (PANIZZI e LUCINI, 2016). O Percevejo-marrom-da-soja *E. heros* é atualmente a principal espécie dentre os percevejos fitófagos que ocasionam danos relevantes na cultura da soja devido, principalmente, por sua abundância (PANIZZI e LUCINI, 2016; TUELHER et al., 2018), podendo alimentar de plantas das famílias Fabaceae, Solanaceae, Brassicaceae, Compositae e Malvaceae (SOARES et al., 2018), principalmente nas regiões mais quentes (GODOY, 2010). Em plantas de soja, *E. heros* causa danos irreversíveis à cultura a medida em que se alimenta dos nutrientes das sementes reduzindo sua qualidade fisiológica e produtividade (SILVA et al., 2012).

O novo cenário agrícola que compreende o sistema plantio direto/sucessão de culturas, possibilita o aumento desta praga na maior parte do território brasileiro se estendendo até a Argentina (SALUSO et al., 2011) além de possuir uma maior tolerância a inseticidas químicos comumente utilizados (PANIZZI, 2015).

Controle de Percevejo-marrom na cultura da soja

O manejo do Percevejo-marrom-da-soja é realizado, principalmente, por aplicação preventiva de inseticidas na cultura, ou seja, antes da infestação de percevejos em lavouras de soja (MUSSEER e CATCHOT, 2008; BUENO et al., 2013), sendo recomendado o controle a partir da fase fenológica R3 da cultura da soja e quando atingir o nível de controle de 2 percevejos/m⁻¹ em lavouras comerciais e 1 percevejo/m⁻¹ em lavouras de produção de sementes, onde a partir deste nível de controle, irão causar danos econômicos a cultura (CORRÊA-FERREIRA e PANIZZI 1999; BUENO et al., 2013).

A utilização de forma coerente dos inseticidas se tornou uma necessidade para atender as exigências da produção brasileira de soja, para minimizar problemas relacionados a uma produção mais sustentável, reduzindo impactos ambientais e evitando barreiras que possam dificultar a comercialização a exportações brasileiras de soja e seus derivados (CORRÊA-FERREIRA et al., 2013). Com a ocorrência de populações de percevejos resistentes a inseticidas, e uso intenso de inseticidas, surtos populacionais de pragas secundárias se tornaram frequentes na cultura da soja, bem como lagartas e ácaros (REZENDE et al., 2012), além de causar danos a organismos não-alvo (GUEDES e CUTLER, 2014). Este fato, acabou comprometendo com o atual cenário químico, o qual compreende na proibição de algumas moléculas químicas disponíveis, minimizando assim, as opções dos princípios ativos, no controle de insetos-praga (GUEDES et al., 2012).

Parasitoides de ovos de percevejos na cultura da soja

Atualmente, o controle biológico na agricultura e na horticultura é a forma de promover o manejo de insetos-praga de forma sustentável (LAMICHHANE et al., 2017). A aplicação de agentes de controle biológico no cenário mundial aumentou de uma área de 17 milhões de hectares em 2003 para 30 milhões de hectares em 2015 (van LENTEREN et al., 2018). Com perspectivas de aumento para os próximos anos.

Na cultura da soja, os parasitoides de ovos são considerados importantes reguladores naturais da população de *E. heros* (PACHECO e CORRÊA-FERREIRA, 2000; LOPES et al., 2012), impedindo que as ninfas eclodam e futuramente causem danos (GODOY et al., 2005).

No Brasil, 23 espécies de parasitoides já foram relatadas no controle de percevejos na soja, dentre eles estão *Trissolcus basallis* (Wollaston, 1858) e *Telenomus podisi* (Ashmead, 1893) (Hymenoptera: Platygasteridae) (BUENO et al., 2012) utilizados em larga escala em

programas de controle biológico, devido sua eficiência no parasitismo de seus hospedeiros (PACHECO e CORRÊA-FERREIRA, 2000; FAVETTI et al., 2014) e flexibilidade em se adaptar a novas espécies hospedeiras dependendo das condições ambientais (QUEIROZ et al., 2017).

Adultos de *T. podisi* e de *Trissolcus urichi* (Crawford, 1913) (Hymenoptera: Scelionidae) utilizados em programas de controle biológico possuem a capacidade de parasitar diversas espécies de percevejos pentatomídeos como *P. guildinii*, *N. viridula*, *E. heros*, *Dichelops* sp. (PAZ-NETO et al., 2015) e *T. basallis* tem a capacidade de parasitar estes mesmos hospedeiros, tendo sua preferência por ovos de *N. viridula* (CORRÊA-FERREIRA et al., 2002) demonstrando flexibilidade no parasitismo de diversas espécies de hospedeiros.

Ooencyrtus submetallicus (Howard, 1897) (Hymenoptera: Encyrtidae) é um endoparasitoide, que se reproduz por partenogênese telítoca em ovos de seus hospedeiros, ou seja, gera indivíduos fêmeas (WILSON e WOOLCOCK, 1960). Este inseto parasita ovos dos pentatomídeos como *N. viridula* (WILSON e WOOLCOCK, 1960), *E. heros* (EDUARDO, 2018), *Chinavia pengue* (Rolston, 1983) (FERREIRA, 2016), *P. guildinii* (Westwood, 1837) (CORRÊA-FERREIRA e MOSCARDI, 1995), *Edessa meditabunda* (Fabricius, 1974) (GOLIN et al., 2011) e lepidópteros como *Erinnyis ello* (Linnaeus, 1758) (Lepidoptera: Sphingidae) (SILVA, 2017).

Entretanto, *O. submetallicus* é um parasitoide que ainda não possui relatos na literatura sobre seu emprego como agente de controle biológico de percevejos na cultura da soja, nesse sentido, este parasitoide apresentou parasitismo 64,16% e emergência 85,00% em ovos de *E. heros* em condições laboratoriais, e em condições de semi-campo o parasitismo e emergência foram acima de 70% e 85%, respectivamente, nas densidades de ovos de *E. heros* mais adequadas para seu parasitismo (FERREIRA, 2016).

Multiplicação de parasitoides

A criação massal de parasitoides em laboratório, exige a determinação de um hospedeiro alternativo para sua reprodução, sendo está uma etapa primordial para qualquer programa de controle biológico de insetos-praga (PREZOTTI e PARRA, 2002).

Os aspectos sobre as metodologias de criações massais de parasitoides devem ser compreendidas para o sucesso da criação, pois são estes os fatores que podem influenciar as criações como a maturidade, a razão sexual, tipo de reprodução, longevidade, duração do ciclo

de vida (ovo-adulto), especificidade, discriminação hospedeira, capacidade de parasitismo (GODFRAY, 1994).

As fêmeas usadas em relação ao número de hospedeiro, densidade do hospedeiro e o tempo de exposição ao hospedeiro são aspectos fundamentais para o conhecimento do potencial do inimigo natural, sendo estes fatores importantes para a implementação em sistemas de produção massal (HENTZ et al., 1998). Diante do fato, a densidade de hospedeiros é determinante na qualidade da criação de descendentes (PEREIRA et al., 2010) podendo afetar a produção de descendentes (SAGARRA et al., 2000; PEREIRA et al., 2010b), a razão sexual (ZACARIN et al., 2004; IRVIN & HODDLE 2006; CARNEIRO et al., 2009), a capacidade de parasitismo (SAMPAIO et al., 2001), a duração do ciclo, tamanho do corpo e longevidade (SILVA-TORRES & MATTHEWS, 2003), No entanto, a relação entre número de parasitoide e hospedeiros, pode variar de acordo com a preferência pela espécie, a idade e o tempo de exposição ao hospedeiro (FARIA et al., 2000).

Armazenamento de ovos de percevejos a baixa temperatura

A estimativa de custos para a criação de agentes de controle biológico é em torno de 60 a 80% para gastos com a mão de obra, tornando um desafio para comercialização e implementação desses insetos em programas de controle biológico (DE BORTOLI et al., 2011).

O principal desafio para a criação massal é a produção em larga escala de inimigos naturais em períodos de maior ocorrência de insetos-praga no campo (COLINET e HANCE, 2010). De certa forma, ao longo dos anos, os programas de criação massal buscaram minimizar alguns problemas de desequilíbrios como o armazenamento de ovos (COSTA et al., 2016). Então, alternativas como armazenamento de insetos à baixas temperaturas tornaram parte da técnica de criação massal de inimigos naturais (LENTEREN, 2000) devido sua eficiência e flexibilidade na criação de insetos utilizados em programas de controle biológico (LEOPOLD, 1998). Os principais métodos de armazenamento de ovos de diversas espécies a baixa temperatura são em refrigerador, freezer e nitrogênio líquido (GRECO e STILINOVIC, 1998).

A técnica de criopreservação tem como princípio básico a redução da temperatura como forma de reduzir o metabolismo celular, permitindo que as células ou os tecidos sejam conservados por longos períodos e possibilita novamente o desenvolvimento celular normal (PEGG, 2007). Para o sucesso desta técnica, é necessária a adição de substâncias crioprotetores que proporcionam uma crioproteção celular e tecidual para evitar a injúria devido à redução brusca da temperatura (VAJTA, 2007), onde se destacam o etilenoglicol, o dimetilsulfóxido e

o propanodiol por proporcionarem uma capacidade de penetração superior à do glicerol e baixa toxicidade (CASTRO et al., 2011).

Podendo ser realizada de duas formas: o congelamento lento ou por meio da vitrificação. O congelamento lento, é caracterizado por uma redução gradual da temperatura até atingir entre -32 a -80 °C, geralmente, o material biológico, é armazenado em um freezer programável (CASTRO et al., 2011), tem a finalidade de reduzir o estresse térmico durante a transição das soluções do estado líquido para o estado sólido, e utiliza-se baixas concentrações de crioprotetores (LEIBO, 1977). Por outro lado, o processo da vitrificação consiste na redução brusca da temperatura -196 °C, que tem como objetivo obter um sólido amorfo sem a formação de cristais de gelo no interior dos compartimentos celulares e a concentração de crioprotetores neste processo é mais alta em relação ao congelamento lento (YAMAKI et al., 2002).

O armazenamento de ovos de pentatomídeos já é utilizado para multiplicação de parasitoides de ovos de percevejos (CORRÊA-FERREIRA e MOSCARDI, 1993; ALIM e LIM, 2009). Essa técnica tem se mostrado bastante promissora para a produção de *T. basalis* (CORRÊA-FERREIRA e OLIVEIRA, 1998) e *T. podisi* (PERES e CORRÊA-FERREIRA, 2004; DOETZER e FOERSTER, 2013; FAVETTI et al., 2014), porque os ovos não são danificados quando armazenados em nitrogênio líquido, sendo a vitrificação do material biológico instantânea (GRECO e STILINOVIC, 1998). Isso permite que as características permaneçam inalteradas por longos períodos de armazenamento (KRECHEMER e FOESTER, 2016), possibilitando com esta técnica, elevar a vida útil de alguns inimigos naturais (RATHEE e RAM, 2018).

Seletividade de inseticidas

O termo pesticida é definido como qualquer substância ou mistura de substâncias com capacidade de prevenir, destruir, repelir ou desestabilizar qualquer praga, e são classificados de acordo com o tipo de praga – algicidas, fungicidas, herbicidas, inseticidas, acaricidas, moluscidas, nematocidas e ovicidas, podendo ser incluídas substâncias desfolhantes, dessecantes ou reguladoras do crescimento de insetos e plantas (EPA, 2019). A seletividade é o emprego do produto seletivo como uma forma de reduzir os impactos dos pesticidas sobre os agentes de controle biológico, sendo adquirida de duas formas: ecológica ou fisiológica (RIPPER et al., 1951).

A seletividade ecológica ocorre em função das diferenças de comportamento ou habitat em meio as espécies, possibilitando que o produto entre em contato com a espécie alvo e não

com as demais; dessa forma, as ideias são fundamentadas nas diferenças ecológicas entre pragas, inimigos naturais e polinizadores, ou seja, o manejo é realizado em função de táticas de aplicação de pesticidas (RIPPER et al., 1951). Nesse aspecto, é necessário o conhecimento sobre os aspectos biológicos das pragas e dos indivíduos benéficos (DEGRANDE et al., 2002).

Já a seletividade fisiológica é caracterizada pela ação que um determinado pesticida possui em controlar a praga alvo, causando menor impacto possível nos inimigos naturais ou polinizadores (FOESTER, 2002). Essa seletividade pode ser alcançada quando ocorre a redução de absorção do produto químico, através do tegumento ou pelo aumento na degradação da substância tóxica pelo sistema enzimático do inimigo natural (PEDIGO, 1988).

Diante dos estudos de seletividade, os efeitos subletais dos inseticidas podem afetar as seguintes características biológicas: a taxa de desenvolvimento, a emergência (FELTRIN-CAMPOS, 2018) longevidade dos adultos, fecundidade e razão sexual, bem como efeitos comportamentais como mobilidade, orientação, alimentação e oviposição (DESNEUX et al., 2007) e os efeitos letais de mortalidade (AZOD et al., 2016).

A “*International Organization for Biological and Integrated Control (IOBC), West Palearctic Regional Section (WPRS)*” criou em 1974 o grupo de trabalho “*Working Group Pesticides and Beneficial Organisms*” tendo em vista, reduzir a maioria dos problemas com as diversas metodologias (BUENO et al., 2017), e assim, buscar padronizar métodos experimentais para realizar os testes de seletividade, e classificar os pesticidas em função de seu risco aos inimigos naturais (HASSAN, 1992; HASSAN, 1997; STERK et al., 1999).

Objetivos Gerais

Avaliar a reprodução de *O. submetallicus* em função de diferentes densidades de ovos de *E. heros*, mantidos em diferentes períodos de armazenamento em baixa temperatura e determinar a seletividade de inseticidas utilizados na cultura da soja para este parasitoide.

Objetivos Específicos

Avaliar as características biológicas de *O. submetallicus* em função de diferentes densidades de ovos do hospedeiro *E. heros*;

Avaliar as características biológicas de *O. submetallicus* criados em ovos de *E. heros* armazenados em nitrogênio líquido (-196°C) por diferentes períodos;

Classificar os inseticidas, de acordo, com a sua seletividade ao parasitoide *O. submetallicus*, utilizando o sistema de Avaliação da Seletividade de Pesticidas em Condições de Laboratório Estendido (ASPECLE).

Hipótese (s)

O aumento da densidade de ovos de *E. heros* por fêmea de *O. submetallicus* compromete a qualidade de suas características biológicas;

Ovos de *E. heros* podem ser armazenados em nitrogênio líquido (-196C°) por diferentes períodos, e, posteriormente, serem utilizados para a multiplicação de *O. submetallicus* sem comprometer suas características biológicas;

Existem inseticidas [novaluron, teflubenzuron, beta-ciflutrina + imidacloprid, lambda-cialotrina + tiametoxan e metomil] seletivos aos adultos de *O. submetallicus*.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALIM, M. A.; LIM, U. T. Refrigeration of *Riptortus clavatus* (Hemiptera: Alydidae) eggs for the parasitization by *Gryon japonicum* (Hymenoptera: Scelionidae). **Biocontrol Science and Technology**, v. 19, p. 315-325, 2009.

AZOD, F.; SHAHIDI-NOGHABI, S.; MAHDIAN, K.; SMAGGHE, G. Lethal and sublethal effects of spirotetramat and abamectin on predatory beetles (*Menochilus sexmaculatus*) via prey (*Agonoscena pistaciae*) exposure, important for integrated pest management in pistachio orchards. **The Belgian Journal of Zoology**, v. 146, p. 113-122, 2016.

BACCI, L.; PICANÇO, M. C.; GUSMÃO, M. R.; BARRETO, R. W.; GALVAN, T. L. Inseticidas seletivos à tesourinha *Doru luteipes* (Scudder) utilizados no controle do pulgão verde em brássicas. **Horticultura Brasileira**, v. 20, p. 174-179, 2002.

BARBOSA, P.; HINES, J.; KAPLAN, I.; MARTINSON, H.; SZCZEPANIEC, A.; SZENDREI, Z. Associational resistance and associational susceptibility: having right or wrong neighbors. **Annual Review of Ecology and Systematics**, v. 40, p. 1-20, 2009.

BELORTE, L. C.; RAMIRO, Z. A.; FARIA, A. M.; MARINO, C. A. B. Danos causados por percevejos (Hemiptera: Pentatomidae) em cinco cultivares de soja (*Glycine max* (L.) Merrill, 1917) no município de Araçatuba, SP. **Arquivos do Instituto Biológico**, v.70, p. 169-175, 2003.

BUENO, A. F.; BATISTELA, M. J.; BUENO, R. C. O. F. U.; FRANÇA-NETO, J. B.; NISHIKAWA, M. A. N.; LIBÉRIO-FILHO, A. Effects of integrated pest management,

biological control and prophylactic use of insecticides on the management and sustainability of soybean. **Crop Protection**, v. 30, p. 937-945, 2011.

BUENO, A. F.; PAULA-MORAES, S. V.; GAZZONI, D. L.; POMARI, A. F. Economic thresholds in soybean-integrated pest management: old concepts, current adoption, and adequacy. **Neotropical Entomology**, v. 42, p. 439-447, 2013.

BUENO, A. F.; SOSA-GÓMEZ, D.; CORRÊA-FERREIRA, B.; MOSCARDI, F.; BUENO, R. Inimigos Naturais das Pragas da Soja, pp. 493-629 In: HOFFMAN-CAMPO C. B, CORRÊA-FERREIRA, B. S.; MOSCARDI, F. [eds.], Soja: Manejo Integrado de Insetos e Outros Artrópodes-Praga. **Embrapa Soja**, Brasil, 2012.

BUENO, A. de F.; CARVALHO, G. A.; SANTOS, A. C. dos; SOSA-GÓMEZ, D. R.; SILVA, D. M. da. Pesticide selectivity to natural enemies: challenges and constraints for research and field recommendation. **Ciência Rural**, v. 47, p. 1-10, 2017.

CARNEIRO, T. R.; FERNANDES, A. O.; CRUZ, I. Influência da competição intra-específica entre fêmeas e da ausência de hospedeiro no parasitismo de *Telenomus remus* Nixon (Hymenoptera: Scelionidae) sobre ovos de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae). **Revista Brasileira de Entomologia**, v. 53, p. 482-486, 2009.

CASTRO, S. V.; CARVALHO, A. A. C.; da SILVA, C. M. G.; FAUSTINO, L. R.; FIGUEIREDO, J. R.; RODRIGUES, A. P. R. Agentes crioprotetores intracelulares: características e utilização na criopreservação de tecido ovariano e oócitos. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 39, p. 1-17, 2011.

COLINET, H.; BOIVIN, G. Insect parasitoids cold storage: A comprehensive review of factors of variability and consequences. **Biological Control**, v. 58, p. 83-95, 2011.

COLINET, H.; HANCE, T. Interspecific variation in the response to low temperature storage in different aphid parasitoids. **Annals of Applied Biology**, v. 156, p. 147-156, 2010.

CONAB – COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. **Acompanhamento da safra brasileira de grãos safra 2018/19- quarto levantamento**, Brasília, v. 6, p. 1-126, 2019.

CORRÊA-FERREIRA, B. S. **Utilização do parasitóide de ovos *Trissolcus basal* (Wollaston) no controle de percevejos da soja**. Londrina: Embrapa-CNPSo, (Circular Técnica 11), 30p., 1993.

CORRÊA-FERREIRA, B. S.; AZEVEDO, J. Soybean seed damage by different species of stink bugs. **Agricultural and Forest Entomology**, v. 4, p. 145-150, 2002.

CORRÊA-FERREIRA, B. S.; de CASTRO, L. C.; ROGGIA, S.; CESCINETTO, N. L.; da COSTA, J. M.; de OLIVEIRA, M. C. N. **MIP-Soja: resultados de uma tecnologia eficiente e sustentável no manejo de percevejos no atual sistema produtivo da soja**, 2013. Disponível em: < <http://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/87596/1/Doc-341.pdf> >. Acesso em: 28 jan. 2019.

CORRÊA-FERREIRA, B. S.; MOSCARDI, F. Seasonal occurrence and host spectrum of egg parasitoids associated with soybean stink bugs. **Biological Control**, v. 5, p. 196-202, 1995.

CORRÊA-FERREIRA, B. S.; MOSCARDI, F. Storage techniques of stink bug eggs for laboratory production of the parasitoid, *Trissolcus basalis* (Wollaston). **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 28, p. 1247-1253, 1993.

CORRÊA-FERREIRA, B. S.; OLIVEIRA, M. C. N. Viability of *Nezara viridula* (L.) eggs for parasitism by *Trissolcus basalis* (Woll.), under different storage techniques in liquid nitrogen. **Anais da Sociedade Entomologica do Brasil**, v. 27, p. 101-107, 1998.

CORRÊA-FERREIRA, B. S.; PANIZZI, A. R. Percevejos da soja e seu manejo. Londrina: EMBRAPA-CNPSo (EMBRAPA-CNPSo. Circular Técnica, 24). 45p., 1999.

CORRÊA-FERREIRA, B. S.; PARRA, J. R. P.; BOTELHO, P. S. M.; CORRÊA-FERREIRA, B. S.; BENTO, J. M. S. *Trissolcus basalis* para o controle de percevejos da soja. **Controle biológico no Brasil. Parasitoides e predadores**. Manole, São Paulo, p. 449-476, 2002.

CORRÊA-FERREIRA, B. S. Suscetibilidade da soja a percevejos na fase anterior ao desenvolvimento das vagens. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 40, p. 1067 – 1072, 2005.

CORSO, I. C.; GAZZONI, D. L.; NERY, M. E. Efeito de doses e de refúgio sobre a seletividade de inseticidas a predadores e parasitoides de pragas de soja. **Pesquisa agropecuária brasileira**, v. 34, p. 1529-1538, 1999.

COSTA, V. H. D. da; SOARES, M. A.; ASSIS, J.; SEBASTIÃO, L. de, SILVEIRA, R. D.; REIS, T. C.; PIRES, E. M. Egg storage of *Podisus nigrispinus* (Hemiptera: Pentatomidae) Predators at low temperatures. **Revista Árvore**, v. 40, p. 877-884, 2016.

DE BORTOLI, S. A.; OTUKA, A. K.; VACARI, A. M.; MARTINS, M. I. E. G.; VOLPE, H. X. L. Comparative biology and production costs of *Podisus nigrispinus* (Hemiptera: Pentatomidae) when fed different types of prey. **Biological Control**, v. 58, p. 127-132, 2011.

DEGRANDE, P. E.; REIS, P. R.; CARVALHO, G. A.; BELARMINDO, L. C. Metodologia para avaliar o impacto de pesticidas sobre inimigos naturais. In: PARRA, J. R. P.; BOTELHO, P. S. M.; CORRÊA-FERREIRA, B. S.; BENTO, J. M. S. [eds]. **Controle biológico no Brasil: parasitoides e predadores**. São Paulo: Manole, Cap. 5, p. 71-94, 2002.

DEPIERI, R. A.; PANIZZI, A. R. Rostrum length, mandible serration, and food and salivary canals areas of selected species of stink bugs (Heteroptera, Pentatomidae). **Revista Brasileira de Entomologia**, v. 54, p. 584-587, 2010.

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.

DOETZER, A. K.; FOERSTER, L. A. Storage of Pentatomid Eggs in Liquid Nitrogen and Dormancy of *Trissolcus basalis* (Wollaston) and *Telenomus podisi* Ashmead (Hymenoptera: Platygasteridae) Adults as a Method of Mass Production. **Neotropical Entomology**, v. 42, p. 534-538, 2013.

EDUARDO, W. I.; TOSCANO, L. C.; TOMQUELSKI, G. V.; MARUYAMA, W. I.; MORANDO, R. Action thresholds for the soybean stink bug complex: phytotechnical and

physiological parameters and egg parasitismo. **Revista Colombiana de Entomología**, v. 44, p. 165-171, 2018.

EL-WAKEIL, N.; GAAFARN, N.; SALLAM, A.; VOLKMAR, C. Side effects of insecticides on natural enemies and possibility of their integration in plant protection strategies. In: TRDAN, S. (Ed.) **Insecticides – Development of Safer and More Effective Technologies**. INTECH Open, Massachusetts, cap. 1, 2013.

EMBRAPA. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. **Tecnologia de produção de Soja, Região central do Brasil**, 2014. Londrina: Embrapa Soja, 237p., 2014.

EPA. **Basic Information about Pesticide Ingredients**, 2019. Disponível em: <https://www.epa.gov/ingredients-used-pesticide-products/basic-information-about-pesticide-ingredients>. Acessado em: 03 jan 2019.

FACA, E. C. **Interações biológicas entre *Trissolcus urichi* (Hymenoptera: Scelionidae) e *Ooencyrtus submetallicus* (Hymenoptera: Encyrtidae) em ovos de *Nezara viridula* e *Chinavia pengue* (Hemiptera: Pentatomidae)**. Dissertação Mestrado, Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados, p. 78, 2017.

FARIA, A. F.; TORRES, J. B.; FARIAS, A. M. I. Resposta funcional de *Trichogramma pretiosum* Riley (Hym.: Trichogrammatidae) parasitando ovos de *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lep.: Gelechiidae): Efeito da idade do hospedeiro. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v. 29, p. 85-93, 2000.

FAVETTI, B. M.; BUTNARIU, A. R.; DOETZER, A. K. Storage of *Euschistus heros* Eggs (Fabricius) (Hemiptera: Pentatomidae) in Liquid Nitrogen for Parasitization by *Telenomus podisi* Ashmead (Hymenoptera: Platygasteridae). **Neotropical Entomology**, v. 43, p. 291-293, 2014.

FELTRIN-CAMPOS, E.; FERNANDES, M. G.; MASSON, G. L.; CORRÊA, T. A.; GRIGOLLI, J. F. J. Selectivity of Insecticides Against *Telenomus podisi* Ashmead (Hymenoptera: Platygasteridae) on Corn. **Journal of Agricultural Science**, v. 10, p. 185-191, 2018.

FERREIRA, N. G. P. ***Ooencyrtus submetallicus* (HYMENOPTERA: ENCYRTIDAE): Um potencial parasitoide de *Euschistus heros* e *Chinavia pengue* (HEMIPTERA: PENTATOMIDAE)**. Dissertação Mestrado, Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados, MS, p. 66, 2016.

FOERSTER, 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. [eds]. **Controle biológico no Brasil - parasitoides e predadores**. Piracicaba: Manole, p. 95-114, 2002.

GODFRAY, H. C. J. **Parasitoids: behavioral and evolutionary ecology**. Princeton University Press, Nova Jersey, 1994.

GODOY, K. B.; GALLI, J. C.; ÁVILA, C. J. Parasitismo em ovos de percevejos da soja *Euschistus heros* (Fabricius) e *Piezodorus guildinii* (Westwood) (Hemiptera: Pentatomidae) em São Gabriel do Oeste, MS. **Ciência Rural**, v. 35, p. 455-458, 2005.

GODOY, K. B.; ÁVILA, C. J.; DUARTE, M. M.; ARCE, C. C. M. Parasitismo e sítios de diapausa de adultos do percevejo marrom, *Euschistus heros* na região da Grande Dourados, MS. **Ciência Rural**, v. 40, p. 1199-1202, 2010.

GOLIN, V.; LOIÁCONO, M. S.; MARGARÍA, C. B.; AQUINO, D. A. Natural incidence of egg parasitoids of *Edessa meditabunda* (F.) (Hemiptera: Pentatomidae) on *Crotalaria spectabilis* in Campo Novo do Parecis, MT, Brazil. **Neotropical Entomology**, v. 40, p. 617-618, 2011.

GRAZIA, J.; FORTES, N. D. F.; CAMPOS, L. A. Pentatomidea. In: **Biodiversidade do Estado de São Paulo, Brasil: síntese do conhecimento ao final do século XX: Invertebrados terrestres**. São Paulo: FAPESP, p.101-112, 1999.

GRECO, C. F.; STILINOVIC, D. Parasitization performance of *Trichogramma* spp. (Hym., Trichogrammatidae) reared on eggs of *Sitotroga cerealella* Oliver (Lep., Gelechiidae), stored at freezing and subfreezing conditions. **Journal of Applied Entomology**, v. 122, p. 311-314, 1998.

GUEDES, J. V. C.; ARNEMANN, J.A.; STURMER, G.R.; MELO, A.A.; BIGOLIN, M.; PERINI, C.R.; SARI, B.G. Percevejos da soja: novos cenários, novo manejo. **Revista Plantio Direto**, v. 12, p. 24-30, 2012.

GUEDES, R. N. C.; CUTLER, C. Insecticide-induced hormesis and arthropod pest management. **Pest Management Science**, v.70, p. 690-697, 2014.

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

HASSAN, S. A. Métodos padronizados para testes de seletividade com ênfase em *Trichogramma*. In: PARRA, J.R.P.; ZUCCHI, R.A. [eds]. **Trichogramma e o controle biológico aplicado**. Piracicaba: Fealq, Cap. 8, p. 207-233, 1997.

HASSAN, S. A. Activities of the IOBC/WPRS working group “pesticide and beneficial organisms” Comparison. **Bulletin-OILB-SROP**, v. 17, p. 1-5, 1994.

HENTZ, M. G.; ELLSWORTH, P. C.; NARANJO, S. E.; WATSON, T. F. Development, longevity and fecundity of *Chelonus* sp. nr. *curvimaculatus* (Hymenoptera: Braconidae), an egg-larval parasitoid of pink bollworm (Lepidoptera: Gelechiidae). **Environmental Entomology**, v. 27, p. 443-449, 1998.

INVIN, N. A.; HODDLE, M. S. The effect of intraspecific competition on progeny sex ratio in *Gonatocerus* spp. for *Homalodisca coagulata* egg masses: economic implications for mass rearing and biological control. **Biological Control**, v. 39, p. 162-170, 2006.

KRECHEMER, F. S.; FOERSTER, L. A. Mass production of *Trichogramma* spp. using *Mythimna sequax* eggs stored in liquid nitrogen. **BioControl**, v. 61, p. 497-505, 2016.

- LAMICHHANE, J. R.; BISCHOFF-SCHAEFER, M.; BLUEMEL, S.; DACHBRODT-SAAYDEH, S.; DREUX, L.; JANSEN, J. P.; KISS, J.; KOHL, J.; KUDSK, P.; MALAUSA, T.; MESSÉAN, A.; NICOT, P. C.; RICCI, P.; THIBIERGE, J.; VILLENEUVE, F. Identifying obstacles and ranking common biological control research priorities for Europe to manage most economically important pests in arable, vegetable and perennial crops. **Pest Management Science**, v. 73, p. 14-21 2017.
- LAUMANN, R. A.; MORAES, M. C. B.; PAREJA, M.; BOTELHO, A. C.; MAIA, A. N. A.; LEONARDECZ, E.; BORGES, M. Comparative biology and functional response of *Trissolcus* spp. (Hymenoptera: Scelionidae) and implications for stink bugs (Hemiptera: Pentatomidae) biological control. **Biological Control**, v. 44, p. 32-41, 2008.
- LAUMANN, R. A.; MACCAGNAN, D. H. B.; COKL, A.; BLASSIOLI-MORAES, M. C.; BORGES, M. Substrate-borne vibrations disrupt the mating behaviors of the neotropical brown stink bug, *Euschistus heros*: implications for pests management. **Journal of Pest Science**, v. 91, p. 995 – 1004, 2018.
- LEIBO, S. P. Fundamental cryobiology of mouse ova and embryos. In: ELHOTT, K.; WHELAN, J. (eds). **The Freezing of Mammalian embryos**. Ciba Foundation Symposium 52. Amsterdam: Elsevier, Excerpta Medica, v. 52, p. 69-92, 1977.
- LENTEREN, J. C. Success in biological control of arthropods by augmentation of natural enemies. In: GURR, G.; WRATTEN, S. [eds]. **Biological Control: measures of success**. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers. chap.3. p.77-103, 2000.
- LEOPOLD, R. V. A. Cold storage of insects for integrated pest management. In: HALLMAN, G. J., DENLINGER, D. L. [eds], **Temperature Sensitivity in Insects and Application in Integrated Pest Management**. Westview Press, Boulder, CO, p. 235-267, 1998.
- LIMA, M.; JUNIOR, C. A. da S.; RAUSCH, L.; GIBBS, H. K.; JOHANN, J. A. Demystifying sustainable soy in Brazil. **Land Use Policy**, v. 82, p. 349-352, 2019.
- LOPES, A. P. S.; DINIZ, I. R.; MORAES, M. C. B.; BORGES, M.; LAUMANN, R. A. Defesas induzidas por herbivoria e interações específicas no sistema tritrófico soja-percevejos-parasitoides de ovos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 47, p. 875-878, 2012.
- MUSSER, F. R.; CATCHOT, A. L. Mississippi soybean insect losses. **MidSouth Entomologist**, v. 1, p. 29-36, 2008.
- NUNES, M. C.; CORRÊA-FERREIRA, B. S. Danos causados à Soja por Adultos de *Euschistus heros* (Fabricius) (Hemiptera: Pentatomidae), Sadios e Parasitados por *Hexacladia smithii*. **Neotropical Entomology**, v. 31, p. 109-113, 2002.
- OLIVEIRA, J. R. Ovos de *Euschistus heros* parasitados por *Telenomus podisi*. **Informativo do Manejo Ecológico de Pragas**, v. 63, p. 738-739, 2010.
- ORR, D. B. Scelionid wasps as biological control agents: a review. **Florida Entomologist**, v. 71, p. 506-527, 1988.

PACHECO, D.; CORRÊA-FERREIRA, B. Parasitismo de *Telenomus podisi* Ashmead (Hymenoptera: Scelionidae) em populações de percevejos pragas da soja. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v. 29, p. 295-302, 2000.

PANIZZI, A. R. Growing problems with stink bugs (Hemiptera: Heteroptera: Pentatomidae): species invasive to U.S. and potential neotropical invaders. **American Entomologist**, v. 61, p. 223-233, 2015.

PANIZZI, A. R. Wild hosts of pentatomids: ecological significance and role in their pest status on crops. **Annual Review of Entomology**, v. 42, p. 99-122, 1997.

PANIZZI, A. R.; BUENO, A. F.; SILVA, F. A. C. Insetos que atacam vagens e grãos. In HOFFMAN-CAMPO, C. B.; CORRÊA-FERREIRA, B. S.; MOSCARDI, F. [eds], **Soja: Manejo Integrado de Insetos e Outros Artrópodes-Praga**. Embrapa Soja, Brazil, p. 335-420, 2012.

PANIZZI, A. R.; LUCINI, T. What happened to *Nezara viridula* (L.) in the Americas? Possible reasons to explain populations decline. **Neotropical Entomology**, v. 45, p. 619-628, 2016.

PARRA, J. R. P.; BOTELHO, P. S. M.; CORRÊA-FERREIRA, B.S.; BENTO, J. M. S. Controle biológico: uma visão inter e multidisciplinar. In: PARRA, J. R. P.; BOTELHO, P. S. M.; CORREA-FERREIRA, B. S.; BENTO, J. M. S. [eds], **Controle biológico no Brasil: parasitóides e predadores**. São Paulo: Manole, p. 125-137, 2002.

PAZ-NETO, A. de A.; QUERINO, R. B.; MARGARÍA, C. B. Egg Parasitoids of Stink Bugs (Hemiptera: Coreidae and Pentatomidae) on Soybean and Cowpea in Brazil. **Florida Entomologist**, v. 98, p. 929-932, 2015.

PEGG, D. E. Cryopreservation and Freeze-Drying Protocols Methods. In: **Molecular Biology**. 2nd edn. Totowa: Humana Press Inc., p. 348, 2007.

PEDIGO, L. P. **Entomology and pest management**. New York, 646 p., 1988.

PEREIRA, F. F.; ZANUNCIO, J. C.; PASTORI, P. L.; CHICHERA, R. A.; ANDRADE, G. S.; SERRÃO, J. E. Reproductive biology of *Palmistichus elaeisis* (Hymenoptera: Eulophidae) with alternative and natural hosts. **Zoologia**, v. 27, p. 887-891, 2010.

PEREIRA, F. F.; ZANUNCIO, J. C.; SERRAO, J. E.; ZANUNCIO, T. V.; PRATISSOLI, D.; PASTORI, P. L. The density of females of *Palmistichus elaeisis* Delvare and LaSalle (Hymenoptera: Eulophidae) affects their reproductive performance on pupae of *Bombyx mori* L. (Lepidoptera: Bombycidae). **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 82, p. 323-331, 2010b.

PERES, A. A.; CORRÊA-FERREIRA, B. S. Methodology of Mass Multiplication of *Telenomus podisi* Ash. and *Trissolcus basalus* (Woll.) (Hymenoptera: Scelionidae) on Eggs of *Euschistus heros* (Fab.) (Hemiptera: Pentatomidae). **Neotropical Entomology**, v. 33, p. 457-462, 2004.

PREZOTTI, L.; PARRA, J. R. P. Controle de qualidade em criações massais de parasitoides e predadores, p.295-307. In PARRA, J. R. P.; BOTELHO, S. M.; FERREIRA, B. S. C. &

BENTO, J. M. S. (eds), **Controle biológico no Brasil: Parasitoide e predadores**. São Paulo, Manole, 635p, 2002.

QUEIROZ, A. P.; BUENO, A. D.; POMARI-FERNANDES, A.; GRANDE, M. L. M.; BORTOLOTO, O. C.; SILVA, D. M. Quality control of *Telenomus remus* (Hymenoptera: Platygasteridae) reared on the factitious host *Corcyra cephalonica* (Lepidoptera: Pyralidae) for successive generations. **Bulletin of Entomological Research**, v. 107, p. 791-798, 2017.

RANULFI, A. C.; SENESI, G. S.; CAETANO, J. B.; MEYERE, M. C.; MAGALHÃES, A. B.; VILLAS-BOAS, P. R.; MILORIA, D. M. B. P. Nutritional characterization of healthy and *Aphelenchoides besseyi* infected soybean leaves by laser-induced breakdown spectroscopy (LIBS). **Microchemical Journal**, v. 141, p. 118-126, 2018.

RATHEE, M.; RAM, P. Impact of cold storage on the performance of entomophagous insects: an overview. **Phytoparasitica**, v. 46, p. 421-449, 2018.

RAY, D. K.; MUELLER, N. D.; WEST, P. C.; FOLEY, J. A. Yield trends are insufficient to double global crop production by 2050. **Plos One**, v. 8, p. 1-8, 2013.

RIPPER, W. E.; GREENSLADE, R. M.; HARTLEY, G. S. Selective insecticides and biological control. **Journal of Economic Entomology**, v. 44, p. 448-458, 1951.

REZENDE, J. M.; ROGGIA, S.; LOFEGO, A. C.; NÁVIA, D. Mites (Acari: Mesostigmata, Sarcoptriformes and Trombidiformes) associated to soybean in Brazil, including new records from the Cerrado areas. **Florida Entomologist**, v. 95, p. 683-693, 2012.

ROCHA, F.; VIEIRA, C. C.; FERREIRA, M. C.; OLIVEIRA, K. C.; MOREIRA, F. F.; PINHEIRO, J. B. Selection of soybean lines exhibiting resistance to stink bug complex in distinct environments. **Food and Energy Security**, v. 4, p. 133-143, 2015.

SAGARRA, L. A.; VINCENT, C.; STEWART, R. K. Mutual interference among female *Anagyrus kamali* Moursi (Hymenoptera: Encyrtidae) and its impact on fecundity, progeny production and sex ratio. **Biocontrol Science and Technology**, v. 10, p. 239-244, 2000.

SALUSO, A.; XAVIER, L.; SILVA, F. A. C.; PANIZZI, A. R. An invasive pentatomid pest in Argentina: Neotropical brown stink bug, *Euschistus heros* (F.) (Hemiptera: Pentatomidae). **Neotropical Entomology**, v. 40, p. 704-705, 2011.

SAMPAIO, M. V.; BUENO, V. H. P.; MALUF, R. P. Parasitismo de *Aphidius colemani* Viereck (Hymenoptera: Aphidiidae) em diferentes densidades de *Mysus persicae* (Sulzer) (Hemiptera: Aphididae). **Neotropical Entomology**, v. 30, p. 81-87, 2001.

SCHUNEMANN, R.; ROGGIA, S.; MURARO, D. S.; KNAAK, N.; FIUZA, L. M. Insecticidal potential of *Bacillus thuringiensis* for the biological control of neotropical brown stink bug. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v. 166, p. 131-138, 2018.

SILVA-TORRES, C. S. A.; MATTHEWS, R. W. Development of *Melittobia australica* Girault and *M. digitata* Dahms (Parker) (Hymenoptera: Eulophidae) parasiting *Neollieria bullata* (Parker) (Diptera: Sarcophagidae) puparia. **Neotropical Entomology**, v. 32, p. 645-651, 2003.

SILVA, F. A. C.; SILVA, J. J.; DEPIERI, R. A.; PANIZZI A. R. Feeding activity, salivary amylase activity, and superficial damage to soybean seed by adult *Edessa meditabunda* (F.) and *Euschistus heros* (F.) (Hemiptera: Pentatomidae). **Neotropical Entomology**, v. 41, p. 386-390, 2012.

SILVA, G. V.; PASINI, A.; BUENO, A. de F.; BORTOLOTTI, O. C.; BARBOSA, G. C.; CRUZ, Y. K. S. No impact of Bt soybean that express Cry1Ac protein on biological traits of *Euschistus heros* (Hemiptera, Pentatomidae) and its egg parasitoid *Telenomus podisi* (Hymenoptera, Platygastriidae). **Revista Brasileira de Entomologia**, v. 58, p. 285-290, 2014.

SILVA, S. A. **Controle biológico de *Erinnyis ello* (LINNAEUS, 1758) (LEPIDOPTERA: SPHINGIDAE) com parasitoides na cultura da mandioca**. Tese Doutorado, Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados, p. 85, 2017.

SOARES, P. L.; CORDEIRO, E. M. G.; SANTOS, F. N. S.; OMOTO, C.; CORRÊA, A. S. The reunion of two lineages of the Neotropical brown stink bug on soybean lands in the heart of Brazil. **Scientific Reports**, v. 8, p. 1-12, 2018.

SOSA-GOMEZ, D. R.; SILVA, J. J. da. Neotropical brown stink bug (*Euschistus heros*) resistance to methamidophos in Paraná, Brazil. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 45, p. 767-769, 2010.

SPÍNOLA-FILHO, P. R. de C.; LEITE, G. L. D.; SOARES, M. A.; ALVARENGA, A. C.; PAULO, P. D. de; TUFFI-SANTOS, L. D.; ZANUNCIO, J. C. Effects of Duration of Cold Storage of Host Eggs on Percent Parasitism and Adult Emergence of Each of Ten Trichogrammatidae (Hymenoptera) Species. **Florida Entomologist**, v. 97, p. 14-21, 2014.

STERK, G.; HASSAN, S. A.; BAILLOD, M.; BAKKER, F.; BIGLER, F.; BLÜMEL, S.; BOGENSCHÜTZ, H.; BOLLER, E.; BROMAND, B.; BRUN, J.; CALIS, J. N. M.; COREMANS-PELSENEER, J.; DUSO, C.; GARRIDO, A.; GROVE, A.; HEIMBACH, U.; HOKKANEN, H.; JACAS, J.; LEWIS, G.; MORETH, L.; POLGAR, L.; ROVERSTI, L.; SAMSOE-PETERSEN, L.; SAUPHANOR, B.; SCHAUB, L.; STÄUBLI, A.; TUSET, J. J.; VAINIO, A.; VAN DE VEIRE, M.; VIGGIANI, G.; VIÑUELA, E.; VOGT, H. 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.

STURMER, G. R. Sample size for estimating the population of stink bugs in soybean crops. **Revista Ciência Agronômica**, v. 45, p. 155-167, 2014.

TUELHER, E. S.; da SILVA, E. H.; RODRIQUES, H. S.; HIROSE, E.; GUEDES, R. N. C.; OLIVEIRA, E. E. Area-wide spatial survey of the likelihood of insecticide control failure in the neotropical brown stink bug *Euschistus heros*. **Journal of Pest Science**, v. 91, p. 849-859, 2018.

TURCHEN, L. M. GOLIN, V.; BUTNARIU, A. R., GUEDES, R. N.; PEREIRA, M. J. Lethal and sublethal effects of insecticides on the egg parasitoid *Telenomus podisi* (Hymenoptera: Platygastriidae). **Journal of Economic Entomology**, v. 1, p. 84-92, 2015.

VAJTA G., KUWAYAMA, M.; VANDERZWALMEN, P. Disadvantages and benefits of vitrification. In: **Vitrification in assisted reproduction A user's manual and troubleshooting guide**. London: Informa UK, pp.33-44, 2007.

van LENTEREN, J. C.; BOLCKMANS, K.; KOHL, J.; RAVENSBERG, W. J.; URBANEJA, A. Biological control using invertebrates and microorganisms: plenty of new opportunities. **BioControl**, v. 63, p. 39-59, 2018.

WILSON, F.; WOOLCOCK, L. T. Temperature determination of sex in a parthenogenetic parasite, *Ooencyrtus submetallicus* (Howard) (Hymenoptera: Encyrtidae). **Australian Journal of Zoology**, v. 8, p. 153-169, 1960.

YAMAKI, S. B.; PEDROSO, A. G.; ATVARIS, T. D. Z. O estado vítreo dentro da perspectiva do curso de graduação em química (físico-química). **Química Nova**, v. 25, p. 330-334, 2002.

ZACARIN, G. G.; GOBBI, N.; CHAUD NETTO, J. Capacidade reprodutiva de fêmeas de *Apanteles galleriae* (Hymenoptera, Braconidae) em lagartas de *Galleria mellonella* e *Achroia grisella* (Lepidoptera, Pyralidae) criadas com dietas diferentes. **Iheringia série Zoologia**, v. 94, p. 139-147, 2004.

CAPÍTULO I – Reprodução de *Ooencyrtus submetallicus* (Howard, 1897) (Hymenoptera: Encyrtidae) em ovos de *Euschistus heros* (Fabricius, 1974) (Hemiptera: Pentatomidae) com diferentes densidades

Autor: Willian Yoshio Sanomia
Orientador: Dr. Fabricio Fagundes Pereira

Resumo: O conhecimento da proporção de hospedeiro por fêmea do parasitoide em recipientes de criação é um fator importante para obtenção de descendentes de melhor qualidade biológica. Objetivou-se avaliar a reprodução de fêmeas de *Ooencyrtus submetallicus* (Hymenoptera: Encyrtidae) em diferentes densidades de ovos de *Euschistus heros* (Hemiptera: Pentatomidae) para encontrar a relação mais adequada entre parasitoide e hospedeiro visando a multiplicação desse parasitoide. O experimento foi realizado com ovos de *E. heros* nas densidades (parasitoide: hospedeiro) de 1:3; 1:6; 1:9; 1:12; 1:15 ou 1:18 com parasitismo de 24 horas de *O. submetallicus*. As fêmeas parasitoides e a cartela de ovos foram acondicionadas em tubos de vidro e mantidas em câmara climatizada tipo B.O.D. à 25 ± 2 °C, $70 \pm 10\%$ de umidade relativa e fotofase de 12 horas. Houve menor porcentagem de parasitismo e de emergência com aumento da densidade de hospedeiros ao qual o parasitoide foi submetido. O aumento dos números de ovos parasitados foi encontrado nas densidades 9 e 18 ovos de *E. heros*. Os maiores números de indivíduos por ovos foram encontrados nas densidades de 3 e 6 ovos de *E. heros*. O comprimento da tíbia posterior, a duração do ciclo de vida, longevidade e razão sexual, foram semelhantes ao se avaliar as diferentes densidades do parasitoide. *Ooencyrtus submetallicus* parasitou e se desenvolveu em ovos de *E. heros* em todas as densidades avaliadas, sendo 1:6 a melhor combinação de parasitoide e hospedeiro.

Palavras-chave: Parasitoide de ovos, criação massal, controle biológico, proporção de hospedeiro; percevejo-marrom-da-soja.

**CHAPTER I - Reproduction of *Ooencyrtus submetallicus* (Howard, 1897)
(Hymenoptera: Encyrtidae) on eggs of *Euschistus heros* (Fabricius, 1974)
(Hemiptera: Pentatomidae) with different densities**

Author: Willian Yoshio Sanomia
Advisor: Dr. Fabricio Fagundes Pereira

Abstract: The knowledge of the proportion of host per female of the parasitoid in breeding containers is an important factor to obtain descendants of better biological quality. The objective of this study was to evaluate the reproduction of *Ooencyrtus submetallicus* (Hymenoptera: Encyrtidae) females in different egg densities of *Euschistus heros* (Hemiptera: Pentatomidae) to find the most appropriate relation between parasitoid and host aiming at the multiplication of this parasitoid. The experiment was carried out with eggs of *E. heros* at densities (parasitoid: host) of 1:3; 1:6; 1:9; 1:12; 1:15 or 1:18 with 24-hour parasitism of *O. submetallicus*. The parasitoid females and the egg carton were housed in glass tubes and kept in an air-conditioned room type B.O.D. at $25 \pm 2^\circ\text{C}$, $70 \pm 10\%$ relative humidity and 12-hour photophase. There was a lower percentage of parasitism and emergence with an increased density of hosts to which the parasitoid was submitted. The increase in numbers of parasitized eggs were found in the densities 1:9 and 1:18 eggs of *E. heros*. The highest numbers of individuals per egg were found in the densities of 1:3 and 1:6 eggs of *E. heros*. Posterior tibia length, life cycle length, longevity, and sex ratio were similar when evaluating the different densities of the parasitoid. *Ooencyrtus submetallicus* parasitized and developed in *E. heros* eggs at all densities evaluated, with 1: 6 is the best combination of parasitoid and host.

Key words: Eggs parasitoids; mass rearing; biological control; host proportion; Neotropical brown stink bug.

Introdução

Parasitoides pertencentes à família Encyrtidae (Hymenoptera: Chalcidoidea) são importantes inimigos naturais utilizados no controle biológico de insetos (FALLAHZADEH e JAPOSHVILLI, 2010). Atualmente, na literatura, são descritas mais de 4000 espécies da família Encyrtidae, conhecidas mundialmente (NOYES, 2019), sendo compostas por diversos gêneros como *Blastothrix* (Mayr, 1876), *Diversinervus* (Silvestri, 1915), *Encyrtus* (Latreille, 1809), *Metaphycus* (Mercet, 1917), *Microterys* (Thomson, 1876) (KAPRANAS e TENA, 2015) e *Ooencyrtus* (Ashmead, 1900), os quais são importantes reguladores populacionais de insetos-praga, que estão presentes em diferentes ecossistemas agrícolas e florestais (CORRÊA FERREIRA e MOSCARDI, 1995; PERI et al., 2011; MAINALI e LIM, 2012; TUNCA et al., 2017).

O gênero *Ooencyrtus* compreende mais de 300 espécies conhecidas no mundo todo (NOYES, 2019). Dentro desse gênero se destaca a espécie *Ooencyrtus submetallicus* (Howard, 1897) (Hymenoptera: Encyrtidae) que teve seu primeiro relato em Granada, nas Índias Ocidentais Britânicas, em ovos de *Nezara viridula* (Linnaeus, 1758) (Hymenoptera: Pentatomidae) (WILSON e WOOLCOCK, 1960). No Brasil, este parasitoide já foi registrado em ovos de *N. viridula* e *Piezodorus guildinii* (Westwood, 1837) (Hymenoptera: Pentatomidae) no estado do Paraná (CORRÊA-FERREIRA e MOSCARDI, 1995) e em *Edessa meditabunda* (Fabricius, 1974) (Hymenoptera: Pentatomidae) no estado de Mato Grosso (GOLIN et al., 2011).

Ooencyrtus submetallicus é um endoparasitoide, que se reproduz por partenogênese telítoca em ovos de seus hospedeiros (WILSON e WOOLCOCK, 1960) originando indivíduos fêmeas diploides que são derivadas de ovos não fertilizados (STOUTHAMER, 1997; ESPINOSA et al., 2017), pois não dependem do acasalamento (MONTI et al., 2016). Este inseto parasita ovos de percevejos como o *Euschistus heros* (Fabricius, 1794) (EDUARDO, 2018), *Chinavia pengue* (Rolston, 1983) (FERREIRA, 2016), *P. guildinii* (CORRÊA-FERREIRA e MOSCARDI, 1995), *E. meditabunda* (GOLIN et al., 2011) e de lepidóptera como *Erinnyis ello* (Linnaeus, 1758) (Lepidoptera: Sphingidae) (SILVA et al., 2017).

Euschistus heros se destaca como o principal inseto-praga dentro do complexo de percevejos que atacam lavouras de soja [*Glycine max* (L.) Merrill Fabales: Fabaceae] no Brasil e na Argentina, causa acentuada redução na produção destes grãos, devido à sua ampla densidade populacional e, conseqüentemente, seus danos a cultura (SILVA et al., 2014;

PANIZZI e LUCINI, 2016; TUELHER et al., 2018). Durante o processo de alimentação, o percevejo marrom ao inserir o seu estilete nas vagens de soja, local de maior preferência alimentar, alcançando os grãos, podendo causar severos danos a esses grãos ou sementes produzidas, e nas estruturas da soja pode causar a retenção foliar associada à maturação tardia das plantas de soja, popularmente conhecida como “soja louca” (DEPIERI e PANIZZI, 2011; SILVA, 2012).

Parasitoides de ovos são importantes agentes de controle biológico de *E. heros* na cultura da soja (PACHECO e CORRÊA-FERREIRA, 2000), onde 23 espécies de parasitoides, já foram relatadas (BUENO et al., 2012). Dentre elas *Trissolcus basalis* (Wollaston, 1858) (CORRÊA-FERREIRA e MOSCARDI, 1995) *Trissolcus urichi* (Crawford, 1913) e *Telenomus podisi* (Ashmead, 1893) (Hymenoptera: Platygasteridae) são espécies que apresentam altas taxas de parasitismo (PAZ-NETO et al., 2015) e flexibilidade em se adaptar a novas espécies hospedeiras dependendo das condições ambientais (QUEIROZ et al., 2017). *Ooencyrtus submetallicus* é um parasitoide que não possui relatos na literatura sobre seu emprego como agente de controle biológico de percevejos na cultura da soja. De certa forma, demonstrou resultados positivos quando empregado em condições de semi-campo (FERREIRA, 2016).

A densidade de hospedeiros é um fator determinante na qualidade de descendentes (PEREIRA, 2010). Este fato é atribuído para as vespas parasitoides que possuem respostas comportamentais diante da densidade do hospedeiro que podem levar a uma taxa de parasitismo elevada dependente da densidade e à consequente regulação local eficiente das populações de percevejos (LAUMANN et al., 2008). A relação entre número de parasitoide e hospedeiros, pode variar de acordo com a preferência pela espécie, a idade e o tempo de exposição ao hospedeiro (FARIA et al., 2000).

Esta pesquisa levantou como hipótese que o aumento da densidade de ovos de *E. heros* por fêmea de *O. submetallicus* compromete a qualidade de suas características biológicas.

O objetivo deste trabalho foi avaliar a reprodução de fêmeas de *O. submetallicus* em diferentes densidades de ovos de *E. heros* para encontrar a relação mais adequada (parasitoide: hospedeiro) visando sua multiplicação.

Material e Métodos

Os experimentos foram conduzidos no Laboratório de Controle Biológico de Insetos (LECOBIOL) da Faculdade de Ciências Biológicas e Ambientais (FCBA) da Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD), Dourados, Mato Grosso do Sul, Brasil.

Etapa I - Criação de insetos utilizados nos experimentos.

Ooencyrtus submetallicus (Hymenoptera: Encyrtidae)

Adultos de *O. submetallicus* foram obtidos do estoque de criação do LECOBIOL, e para o estabelecimento da criação foi utilizada a metodologia proposta por Faca (2017). A criação foi mantida em câmara climatizada tipo BOD (modelo EL 222, ELETROLab[®], São Paulo, SP, Brazil), com temperatura de 25 ± 2 °C, $70 \pm 10\%$ umidade relativa do ar e fotofase de 12 horas. A espécie de parasitoide foi coletada pelo Dr. Antonio de Souza Silva, em ovos de *E. mediatubunda* em folhas de plantas de tomate *Solanum lycopersicum* (Linnaeus, 1753) (Solanales: Solanaceae), localizadas próximo a cultivos de soja, na região da Grande Dourados, Mato Grosso do Sul, Brasil. A identificação foi realizada pelo especialista Dr. Valmir Antonio Costa do Instituto Biológico de São Paulo. Espécimes vouchers do parasitoide foram depositadas na coleção permanente da Coleção de Insetos Entomófagos “Oscar Monte”, do Instituto Biológico, depositado em via úmida sob número IB-CBE-569-2.

Euschistus heros (Hemiptera: Pentatomidae)

A colônia de *E. heros* foi estabelecida a partir de indivíduos provenientes das coletas em lavouras de soja, ($22^{\circ}24'32,4''S$; $54^{\circ}29'43,8''W$), no município de Fátima do Sul-MS. A metodologia proposta por Silva et al. (2008) foi utilizada para a criação de *E. heros*. As gaiolas de criações (20 x 15 x 20 cm), foram mantidas em uma sala climatizada à 25 ± 2 °C, $70 \pm 10\%$ de UR e fotofase de 14 horas. A espécie de percevejo foi identificada pela especialista Dra. Jocélia Grazia (Universidade Federal do Rio Grande do Sul - UFRGS) taxonomista de percevejos pentatomídeos neotropicais.

Etapa II - Desenvolvimento experimental.

Densidade de ovos de *E. heros* submetidos ao parasitoide *O. submetallicus*.

Ovos de *E. heros* com 24 horas de idade foram colados em papel tipo cartão de cor azul celeste (0,50 x 1,00 cm) com goma arábica a 20%, e posteriormente inseridos em tubos de vidro (1,00 cm de diâmetro e 9,50 cm de altura) com alimento (gota de mel) e uma fêmea de *O.*

submetallicus de 120 – 144 horas de idade (FACA, 2017) nas densidades de 1:3; 1:6; 1:9; 1:12; 1:15 ou 1:18 (parasitoide: hospedeiro). O parasitismo foi permitido por 24 horas e após este período, as fêmeas de *O. submetallicus* foram retiradas e os ovos permaneceram nos tubos de vidro, então, sendo mantidos em câmaras climatizada até a emergência dos adultos de *O. submetallicus*, à 25 ± 2 °C, 70 ± 10 % de UR e fotofase de 12 horas.

As características biológicas avaliadas foram: porcentagem de parasitismo (número de ovos escuros/número total de ovos) x 100, porcentagem de emergência (número de ovos com orifício/número de ovos escuros) x 100. Os ovos parasitados foram determinados por meio da identificação na mudança de coloração, sendo que os ovos parasitados apresentam coloração escura diferenciando da coloração natural amarelada dos ovos não parasitados (MEDEIROS et al., 1997). O número de indivíduos emergidos por cada ovo de percevejo foi contabilizado ao se observar parasitoides adultos que emergiram, sendo realizado a dissecação dos ovos com auxílio de uma lupa e agulhas entomológicas, para verificar se não haviam parasitoides nas fases de larva, pupa ou adulto no interior.

O comprimento da tíbia posterior do parasitoide é utilizado, como base para correlacionar o tamanho corporal do parasitoide adulto. Portanto, o comprimento da tíbia posterior, foi mensurado a partir da articulação com o fêmur até a junção com o tarso, sendo selecionados ao acaso 10 fêmeas, (BAI et al., 1992; OLSON e ANDOW, 1998), utilizando microscópio estereoscópico Discovery.V8 e o Software ZEN lite from ZEISS Microscopy para fazer as medições morfométricas. Duração do ciclo de vida (tempo de desenvolvimento do parasitoide imaturo mensurado a partir do dia do parasitismo até a emergência do adulto). Longevidade de fêmeas (período de sobrevivência do parasitoide adulto) em dias, para a qual, foram selecionados 15 indivíduos ao acaso de cada tratamento, coletados no dia de sua emergência, e posteriormente, individualizadas em ependorff, alimentados com mel disperso em gotículas, onde permaneceram até sua morte. Razão sexual (número de fêmeas/número total de parasitoides).

Análises estatísticas

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado (DIC) com 6 tratamentos e 12 repetições, sendo cada repetição constituída por um tubo de vidro com uma fêmea e uma cartela com uma das diferentes densidades de ovos. Os dados foram submetidos ao teste de normalidade de Shapiro-Wilk (SHAPIRO e WILK, 1965). Os dados de porcentagem de parasitismo e emergência, número de ovos parasitados, número de indivíduos por ovos, o

comprimento da tíbia posterior, a duração do ciclo de vida, a longevidade e a razão sexual foram submetidos à análise de regressão a 5% de probabilidade. A equação que melhor se ajustou aos dados foi escolhida a partir dos modelos linear e quadrático, com base no coeficiente de determinação (R^2), na significância dos coeficientes de regressão (β_i) e de regressão pelo teste F (5% de probabilidade), e o fenômeno biológico estudado, utilizando o software estatístico SigmaPlot 30-Day Trial, sob o serial “775400014”.

Resultados

A porcentagem de parasitismo foi afetada pelas diferentes densidades de ovos de *E. heros* oferecidos as fêmeas de *O. submetallicus* ($F = 57,6458$; $gL = 5$; $P = 0,0001$) (Figura 1). Bem como a porcentagem de emergência dos parasitoides foram influenciadas pelas diferentes densidades de ovos por fêmea ($F = 19,5073$; $gL = 5$; $P = 0,0055$) (Figura 2).

Os maiores números de ovos de *E. heros* parasitado por uma fêmea de *O. submetallicus* foi obtido nas densidades 9 e 18 ovos, sendo $4,50 \pm 0,29$ e $4,67 \pm 0,97$, respectivamente ($F = 22,7806$; $gL = 5$; $P = 0,0423$) (Figura 3). A maior emergência de *O. submetallicus* por ovos de *E. heros* foi observado nas densidades de 3 e 6 ovos, $1,78 \pm 0,26$ e $1,72 \pm 0,21$, respectivamente, e a densidade com menor número de indivíduos foi a densidade de 15 ovos, com apenas $0,90 \pm 0,16$ (Figura 4).

Em relação ao comprimento da tíbia posterior, a duração do ciclo de vida (ovo-adulto), a longevidade e a razão sexual de *O. submetallicus* não foram influenciadas pelas diferentes densidades de ovos de *E. heros* ($P > 0,05$). Em geral, a média obtida para todos os tratamentos avaliados foram: $0,31 \pm 0,01$ mm, $19,00 \pm 00,00$ dias, $22,44 \pm 0,55$ dias e $1,00 \pm 00,00$, respectivamente (Tabela 1).

Discussão

Os resultados apresentados no presente estudo são fundamentais para o entendimento do comportamento biológico de *O. submetallicus* em função da densidade de ovos do hospedeiro *E. heros* em que foi submetido durante o parasitismo por 24 horas. A densidade ideal para a multiplicação do parasitoide *O. submetallicus*, foi na densidade 1:6 (parasitoide: hospedeiro), demonstrando um decréscimo no parasitismo (Figura 1), ao longo, do aumento dos números de ovos do hospedeiro.

A relação observada entre densidade do hospedeiro e número de ovos parasitados mostrou ter uma função sigmoideal, ou seja, resposta funcional do tipo III, o qual, possibilita

identificar a taxa de parasitismo em função da densidade do hospedeiro, até mesmo, fornece os parâmetros comportamentais envolvidos no processo de parasitismo (FARIA et al., 2000). Isto indica que para a multiplicação deste parasitoide, a relação 1:6 (parasitoide: hospedeiro) possa proporcionar o melhor desempenho biológico. Um exemplo, é o estudo com o parasitoide do gênero *Trissolcus*, em altas densidades de ovos de *E. heros*. Na medida em que, o parasitoide atinge o limite máximo de parasitismo em seu hospedeiro, logo em seguida, os demais ovos são deixados de parasitar, devido à insuficiência em parasitar os demais ovos (LAUMANN et al., 2008). Dessa forma, a função sigmoide nos possibilita analisar o desempenho do parasitoide em parasitar seu hospedeiro e determinar seu potencial de parasitismo nestas condições experimentais. Isto, permite explorar a capacidade do parasitoide, e obter descendentes com qualidade biológica.

Em espécies de *Trichogramma*, as fêmeas, quando são submetidas a ovos de seus hospedeiros, levam um determinado período para o processo de reconhecimento do hospedeiro, seguido pela introdução do ovipositor e oviposição (MOREIRA et al., 2009). O período de 24 horas de exposição das fêmeas do parasitoide aos ovos de hospedeiros nas densidades mais elevadas pode ter sido insuficiente para determinar seu potencial de parasitismo (POLANCZYK et al., 2011).

A porcentagem de emergência foi superior a 70% (Figura 2) para todas as densidades de ovos estudadas, permitindo considerar que os ovos de *E. heros* são apropriados para o desenvolvimento do parasitoide. A dissecação dos ovos de *E. heros* foi necessária para verificar se todos os adultos conseguiram emergir, pois são ovos caracterizados morfologicamente por possuírem uma tampa circular na superfície, conhecida como opérculo, a qual é presa às massas de ovos dos percevejos e facilita uma abertura para a emergência dos parasitoides (ESSELBAUGH, 1946). Dessa forma, não foi observado a presença de adultos no interior dos ovos em que não houve emergência.

A eficiência do parasitoide em superar as respostas imunes dos hospedeiros têm sido amplamente estudadas em estágios larval e pupal, e a resposta imunológica do ovo permaneceu desconhecida, no entanto, estudos recentes relataram que *Ooencyrtus telenomicida* (Vassiliev, 1904) (Hymenoptera: Encyrtidae) injetam substâncias que estão envolvidos nas modificações fisiológicas de seus hospedeiros para favorecer o desenvolvimento de seus descendentes em ovos de *N. viridula* (CUSMANO et al., 2018).

O número de ovos parasitados pode ser explicado pela multiplicação realizada no mesmo hospedeiro alternativo por várias gerações, indicando que ocorreu um provável condicionamento pré imaginal do parasitoide, que é a preferência pelo hospedeiro alternativo, adquirido durante o desenvolvimento larval do parasitoide (COBERT, 1985) e podendo estar ligado diretamente com a herança genética e as características herdadas por gerações (GOULART et al., 2008).

A razão pelo qual se obteve um menor número de indivíduos nas maiores densidades (Figura 4), foi devido ao superparasitismo ocasionado pelas fêmeas do parasitoide. Em condições laboratoriais, a baixa densidade de hospedeiros resultou no superparasitismo ocasionado pelo parasitoide, ou seja, uma fêmea parasitoide depositou mais de um ovo em um único hospedeiro (GODFRAY, 1987; ROSENHEIM, 1993). Por outro lado, o superparasitismo que ocorre em espécies de parasitoides, não é interessante para a criação massal. O superparasitismo resulta em competição intrínseca de larvas em um único hospedeiro, resultando em implicações para a criação (KASER e ODE, 2016). Isto, gera mais indivíduos por hospedeiro, e com tamanho corporal inferiores devido a aquisição de recursos para seu desenvolvimento durante a fase larval (PEREIRA et al., 2017).

Este fato foi observado quando houve competição entre larvas do parasitoide *Trichogramma pretiosum* (Riley, 1879) (Hymenoptera: Trichogrammatidae) por alimento, originando indivíduos menores e deformados quando submetidos a diferentes densidades de ovos de *Plutella xylostella* (Linnaeus, 1758) (Lepidoptera: Plutellidae) (PEREIRA et al., 2004). *Ooencyrtus kuvanae* (Howard, 1910) (Hymenoptera: Encyrtidae) sofreu efeitos adversos quando submetidos a densidades de ovos de *Lymantria dispar* (Linnaeus, 1758) (Lepidoptera: Erebidae), apresentando um prolongamento no tempo de desenvolvimento, diminuição da expectativa de vida e menor tamanho corporal (TUNCA, 2017).

A compreensão da biologia reprodutiva dos parasitoides é fundamental, pois, ela está relacionada com a produção de ovos e fertilidade das fêmeas (PAPAJ, 2000). Os parasitoides podem ser classificados como pró-ovigênicos ou sinovigênicos em relação ao seu modo de produção de ovos, pois as fêmeas parasitoides sinovigênicas tem como característica dar origem a descendentes que ao atingirem a maturação sexual, possuem vários ovos imaturos com capacidade de produzir novos óvulos por toda a vida adulta (FLANDERS, 1950).

Em algumas espécies a formação de gametas (oogênese) não é completada no momento da emergência, como em *Ooencyrtus* sp. (BATTISTI et al., 1990), caso em que muitas fêmeas

de espécies sinovigênicas necessitam de uma quantidade maior de nutrientes para sustentar a oogênese (TUNCA, 2015). De fato, é uma característica presente na família Encyrtidae a maturação sexual sinovigênica (KAPRANAS e TENA, 2015). *Ooencyrtus submetallicus*, necessita de mais tempo e recursos nutritivos para poder explorar os ovos de seus hospedeiros quando submetidas a densidades mais elevadas e assim, gerar mais indivíduos por ovo. O gênero *Ooencyrtus* possui a habilidade de depositar mais ovos por hospedeiro e não são seletivos quando decidem parasitar ou superparasitizar seus hospedeiros (TUNCA, 2017).

A poliembrionia está relacionada com o desenvolvimento de múltiplos indivíduos a partir de um único óvulo e ocorre em quatro famílias de parasitoides: Braconidae, Encyrtidae, Platygasteridae e Dryinidae (IVANOVA-KASAS, 1972). Na família Encyrtidae, as espécies poliembrionicas, iniciam-se com a divisão do ovo e forma um número variável de blastômeros (STRAND, 1989). No presente estudo, as fêmeas do parasitoide apresentaram aptidão e fertilidade para depositar mais de um único óvulo no interior do ovo do hospedeiro nas menores densidades ao qual foi submetido.

O comprimento da tibia posterior é uma medida utilizada para servir de parâmetro base para correlacionar o tamanho corporal dos parasitoides adultos (KAZMER e LUCK, 1991). Em espécies de *Trichogramma*, o tamanho do corpo é adquirido em função da espécie do hospedeiro em que se desenvolveu, e de acordo com a sua capacidade em explorar os recursos nutricionais e se desenvolver no interior do hospedeiro (BAI et al., 1992; GREENBERG et al., 1998; OLSON e ANDOW, 1998).

Ooencyrtus submetallicus quando submetidos à baixa densidade, oviposita mais de um ovo por ovo de *E. heros*, originando larvas que competem por recursos nutritivos para seu desenvolvimento. A escolha inadequada para a multiplicação deste parasitoide, resulta em parasitoides com qualidade biológica inferior. Os indivíduos com maior tamanho corporal (Tabela 1), podem ter maior capacidade de localizar fêmeas para acasalar, localizar seus hospedeiros, maior longevidade, e maior fecundidade das fêmeas, possuindo, portanto, maior vantagem competitiva (WAAGE e NG, 1984; BAI et al., 1992; GODFRAY, 1994).

O ciclo de vida de *E. heros* é em torno de 28,4 dias à 25 °C (PANIZZI et al., 2013), e o ciclo de vida de *O. submetallicus* corresponde a 60% do ciclo de vida de *E. heros*, ou seja, o parasitoide se desenvolve mais rápido que o seu hospedeiro (FERREIRA, 2016), portanto, pode se determinar que o ciclo de vida do parasitoide (Tabela 1), quando criado neste hospedeiro, não sofre alterações biológicas, sendo este hospedeiro adequado para sua reprodução.

A longevidade consiste no período de sobrevivência de um parasitoide adulto até a sua morte. Essa característica biológica, permite estimar a sobrevivência do parasitoide durante operações realizadas à campo e possibilita uma melhor sincronização na permanência dos agentes de controle biológico nas culturas (SORESEN et al., 2012). Portanto, a longevidade permite determinar o número de liberações inoculativas para a regulação de insetos-praga em áreas agrícolas.

O gasto energético durante a oviposição está relacionado com a longevidade do parasitoide (PACHECO e CORRÊA-FERREIRA, 1998). Nesse sentido, a densidade 1:3 (Tabela 1), tratamento com menor número de ovos do hospedeiro, foi onde as fêmeas tiveram maior gasto de energia quando depositaram mais de um ovo por hospedeiro, no entanto, este fator não interferiu na longevidade de *O. submetallicus*. Na presente pesquisa, os parasitoides de cada tratamento, encontravam-se, nas mesmas condições fisiológicas constantes de alimento, fotoperíodo, umidade relativa e temperatura, portanto, a longevidade não foi afetada em função da densidade em que foram submetidas. O parasitoide *Trichospilus diatraeae* (Margabandhu & Cherian, 1942) (Hymenoptera: Eulophidae) obteve a longevidade similar entre os tratamentos quando submetidos a diferentes densidades de pupas de *Anticarsia gemmatalis* (Hübner, 1818) (Lepidoptera: Erebidae) (OLIVEIRA, 2018) corroborando este estudo. Quando o objetivo é a produção massal, a capacidade de sobrevivência de inimigos naturais é um fator de interesse no manejo eficiente à campo (QUEIROZ et al., 2017).

A razão sexual não foi afetada diante das densidades de ovos de *E. heros* (Tabela 1) em que o parasitoide foi submetido. Essa é uma característica biológica de interesse para a escolha da espécie de parasitoide a ser utilizado em programas de controle biológico com sucesso, pois, é desejável uma maior produção de fêmeas, sendo elas as responsáveis pelo parasitismo (BUENO et al., 2009). Além disso, o número de fêmeas produzidas é fundamental para manter e aumentar a população de inimigos naturais (HEIMPEL e LUNDGREN, 2000).

Uma hipótese levantada por Houseweart et al. (1983) sobre a redução do número de indivíduos fêmeas para *Trichogramma* spp. em função da idade da fêmea, é devido à falta de esperma na espermateca por copular apenas uma vez, reduzindo a fertilização dos ovos e o número de fêmeas. A reprodução de *O. submetallicus* ocorre por partenogênese telítoca, gerando indivíduos fêmeas e os machos são raros nesta espécie, mas podem emergir em condições particulares de temperatura quando atinge a temperatura crítica de 29,44 °C (WILSON e WOOLCOCK, 1960). Dessa forma, é rara a cópula dentro desta espécie.

Diante das características biológicas de *O. submetallicus* pode se registrar a densidade ideal para sua reprodução em ovos de *E. heros* em condições de laboratório. Esse parasitoide possui hospedeiros pentatomídeos, sendo um parasitoide generalista que possui características de interesse observado em laboratório. Este estudo é ponto de partida para realizar futuros trabalhos em semi-campo e campo, pois, o parasitoide mostrou seu potencial no parasitismo pelo seu hospedeiro.

Conclusão

Este estudo permitiu avaliar as características biológicas de *O. submetallicus* em ovos de *E. heros* em diferentes densidades, determinando a densidade 1:6 ser a melhor combinação de parasitoide e hospedeiro. De fato, estes resultados possibilitam iniciar trabalhos em semi-campo e campo, para serem implementados em programas de controle biológico de insetos-praga.

Referências Bibliográficas

- BAI, B.; LUCK, R. F.; FOSTER, L.; STEPHENS, B.; JANSSEN, J. A. M. The effect of host size on quality attributes of the egg parasitoid, *Trichogramma pretiosum*. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v. 64, p. 37-48, 1992.
- BATTISTI, A.; IANNE, P.; MILANI, N.; ZANATA, M. Preliminary accounts on the rearing of *Ooencyrtus pityocampae* (Mercet) (Hym., Encyrtidae). **Journal of Applied Entomology**, v. 110, p. 121-127, 1990.
- BUENO, R. C. O. F.; PARRA, J. R. P.; BUENO, A. F.; HADDAD, M. L. Desempenho de Tricogramatídeos como potenciais agentes de controle de *Pseudoplusia includens* (Walker) (Lepidoptera: Noctuidae). **Neotropical Entomology**, v. 38, p. 389-394, 2009.
- BUENO, A. F.; SOSA-GÓMEZ, D.; CORRÊA-FERREIRA, B.; MOSCARDI, F.; BUENO, R. Inimigos Naturais das Pragas da Soja, pp. 493-629 In: Hoffman-Campo C. B, Corrêa-Ferreira BS, Moscardi F [eds], Soja: Manejo Integrado de Insetos e Outros Artrópodes-Praga. **Embrapa Soja**, Brasil, 2012.
- COBERT, S. A. Insect chemosensory responses: a chemical legacy hypothesis. **Ecological Entomology**, v. 10, p. 143-153, 1985.
- CORRÊA-FERREIRA, B. S.; MOSCARDI, F. Seasonal occurrence and host spectrum of egg parasitoids associated with soybean stink bugs. **Biological Control**, v. 5, p. 196-202, 1995.
- CUSMANO, A.; DUVIC, B.; JOUAN, V.; RAVALLEC, M.; LEGEAI, F.; PERI, E.; COLAZZA, S.; VOLKOFF, A. N. First extensive characterization of the venom gland from an egg parasitoid: structure, transcriptome and functional role. **Journal of Insect Physiology**, v. 107, p. 68-80, 2018.

DEPIERI, R. A.; PANIZZI, A. R. Duration of feeding and superficial and in depth damage to soybean seed by selected species of stink bugs (Heteroptera: Pentatomidae). **Neotropical Entomology**, v. 40, p. 197-203, 2011.

EDUARDO, W. I.; TOSCANO, L. C.; TOMQUELSKI, G. V.; MARUYAMA, W. I.; MORANDO, R. Action thresholds for the soybean stink bug complex: phytotechnical and physiological parameters and egg parasitismo. **Revista Colombiana de Entomología**, v. 44, p. 165-171, 2018.

ESPINOSA, M. S.; VIRLA, E. G.; CUOZZO, S. *Wolbachia* Infections Responsible for Thelytoky in Dryinid Wasps. The Case of *Gonatopus bonaerensis* Virla (Hymenoptera: Dryinidae). **Neotropical Entomology**, v. 46, p. 409-413, 2017.

ESSELBAUGH, C. O. A study of the eggs of the Pentatomidae Hemiptera. **Annals of the Entomological Society of America**, v. 39, p. 667-691, 1946.

FACA, E. C. **Interações biológicas entre *Trissolcus urichi* (Hymenoptera: Scelionidae) e *Ooencyrtus submetallicus* (Hymenoptera: Encyrtidae) em ovos de *Nezara viridula* e *Chinavia pengue* (Hemiptera: Pentatomidae)**. Dissertação Mestrado, Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados, p. 78, 2017.

FALLAHZADEH, M.; JAPOSHVILI, G. Checklist of Iranian Encyrtids (Hymenoptera: Chalcidoidea) with descriptions of new species. **Journal of Insect Science**, v. 10, p. 1-24, 2010.

FARIA, A. F.; TORRES, J. B.; FARIAS, A. M. I. Resposta funcional de *Trichogramma pretiosum* Riley (Hym.: Trichogrammatidae) parasitando ovos de *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lep.: Gelechiidae): Efeito da idade do hospedeiro. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v. 29, p. 85-93, 2000.

FERREIRA, N. G. P. ***Ooencyrtus submetallicus* (HYMENOPTERA: ENCYRTIDAE): Um potencial parasitoide de *Euschistus heros* e *Chinavia pengue* (HEMIPTERA: PENTATOMIDAE)**. Dissertação Mestrado, Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados, MS, p. 66, 2016.

FLANDERS, S. E. Regulation of ovulation and egg disposal in the parasitic Hymenoptera. **Canadian Entomologist**, v. 82, p. 134-140, 1950.

GODFRAY, H. C. J. The evolution of clutch size in parasitic wasps. **American Naturalist**, v. 129, p. 221-233, 1987.

GODFRAY, H. C. J. **Parasitoids: behavioral and evolutionary ecology**. Princeton University Press, Nova Jersey, 1994.

GOLIN, V.; LOIÁCONO, M. S.; MARGARÍA, C. B.; AQUINO, D. A. Natural incidence of egg parasitoids of *Edessa mediatubunda* (F.) (Hemiptera: Pentatomidae) on *Crotalaria spectabilis* in Campo Novo do Parecis, MT, Brazil. **Neotropical Entomology**, v. 40, p. 617-618, 2011.

GOULART, R. M.; DE BORTOLI, S. A.; THULER, R. T.; PRATISSOLI, D.; VIANNA, C. L. T. P.; VOLPE, H. X. L. Avaliação da seletividade de inseticidas a *Trichogramma* spp.

(Hymenoptera: Trichogrammatidae) em diferentes hospedeiros. **Arquivos do Instituto Biológico**, v.75, p. 69-77, 2008.

GREENBERG, S. M.; NORDLUND, D. A.; WU, Z. Influence of rearing host on adult size and oviposition behavior of mass produced female *Trichogramma minutum* Riley and *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae). **Biological Control**, v. 11, p. 43-48, 1998.

HEIMPEL, G. E.; LUNDGREN, J. G. Sex ratios of commercially reared biological control agents. **Biological Control**, v. 19, p. 77-93, 2000.

HOUSEWEART, M. W.; JENNINGS, D. T.; WELTY, C.; SOUTHARD, S. G. Progeny production by *Trichogramma minutum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) utilizing eggs for *Choristoneura fumiferana* (Lepidoptera: Tortricidae) and *Sitotroga cerealella* (Lepidoptera: Gelechiidae). **Canadian Entomology**, v. 115, p. 1245-1252, 1983.

IVANOVA-KASAS, O. M. **Polyembryony in insects**. In: *Developmental Systems: Insects* (Edited by Counce S. J. and Waddington C. H.), p. 243-271. Academic Press, New York. 1972.

KAPRANAS, A.; TENA, A. Encyrtid parasitoids of soft scale insects: Biology, behavior, and their use in biological control. **Annual Review of Entomology**, v. 60, p. 195-211, 2015.

KASER, J. M.; ODE, P. J. Hidden risks and benefits of natural enemy-mediated indirect effects. **Current Opinion in Insect Science**, v. 14, 105-111, 2016.

KAZMER, D. J.; LUCK, R. F. Female body size, fitness and biological control quality: field experiments with *Trichogramma pretiosum*. **Les Colloques de INRA**, v. 56, p. 37-40, 1991.

LAUMANN, R. A.; MORAES, M. C. B.; PAREJA, M.; BOTELHO, A. C.; MAIA, A. N. A.; LEONARDECZ, E.; BORGES, M. Comparative biology and functional response of *Trissolcus* spp. (Hymenoptera: Scelionidae) and implications for stink bugs (Hemiptera: Pentatomidae) biological control. **Biological Control**, v. 44, p. 32-41, 2008.

MAINALI, B. P.; LIM, U. T. Annual pattern of occurrence of *Riptortus pedestris* (Hemiptera: Alydidae) and its egg parasitoids *Ooencyrtus nezarae* Ishii and *Gryon japonicum* (Ashmead) in Andong, Korea. **Crop Protection**, v. 36, p. 37-42, 2012.

MEDEIROS, M. A.; SCHIMIDT, F. V. G.; LOIÁCONO, M. S.; CARVALHO, V. F.; BORGES, M. Parasitismo e Predação em Ovos de *Euschistus heros* (Fab.) (Heteroptera: Pentatomidae) no Distrito Federal, Brasil. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v. 26, p. 397-401, 1997.

MONTI, M. M.; NUGNES, F.; GUALTIERI, L.; GEBIOLA, M.; BERNARDO, U. No evidence of parthenogenesis-inducing bacteria involved in *Thripoctenus javae* thelytoky: an unusual finding in Chalcidoidea. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v. 160, p. 292-301, 2016.

MOREIRA, M. D.; MARIA, S. C. F. dos; BESERRA, E. B.; TORRES, J. B.; ALMEIDA, R. P. Parasitismo e superparasitismo de *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera:

Trichogrammatidae) em ovos de *Sitotroga cerealella* (Oliver) (Lepidoptera: Gelechiidae). **Neotropical Entomology**, v. 38, p. 237-242, 2009.

NOYES, J. **Universal Chalcidoidea Database. World Wide Web electronic publication.** Disponível em: <http://www.nhm.ac.uk/chalcidoids>. Acessado em: 16 fev 2019.

OLIVEIRA, F. A. L. D.; SILVA, R. O.; OLIVEIRA, N. R. X. D.; ANDRADE, G. S.; PEREIRA, F. F.; ZANUNCIO, J. C.; COUTINHO, C. R.; PASTORI, P. L. Reproduction of *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae) with Different Densities and Parasitism Periods in *Anticarsia gemmatalis* (Lepidoptera: Noctuidae) Pupae. **Folia Biologica (Kraków)**, v. 66, p. 103-110, 2018.

OLSON, D. M.; ANDOW, D. A. Larval crowding and adult nutrition effects on longevity and fecundity of female *Trichogramma nubilale* Ertle & Davis (Hymenoptera: Trichogrammatidae). **Environmental Entomology**, v. 27, p. 508-514, 1998.

PANIZZI, A. R.; LUCINI, T. What happened to *Nezara viridula* (L.) in the Americas? Possible reasons to explain populations decline. **Neotropical Entomology**, v. 45, p. 619–628, 2016.

PACHECO, D. J. P.; CORRÊA-FERREIRA, B. S. Potencial reprodutivo e longevidade do parasitoide *Telenomus podisi* Ashmead, em ovos de diferentes espécies de percevejos. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v. 27, p. 585-591, 1998.

PACHECO, D. J. P.; CORRÊA-FERREIRA, B. S. Parasitismo de *Telenomus podisi* Ashmead (Hymenoptera: Scelionidae) em populações de percevejos pragas da soja. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v. 29, p. 295-302, 2000.

PANIZZI, A. R.; BUENO, A. F.; SILVA, F. A. C. Insetos que atacam vagens e grãos. In: HOFFMAN-CAMPO, C. B.; CORRÊA-FERREIRA, B. S.; MOSCARDI, F. [eds.], **Soja: Manejo integrado de insetos e outros artrópodes-praga**. Embrapa, Brasília, p. 335-420, 2013.

PAPAJ, D. R. Ovarian dynamics and host use. **Annual Review of Entomology**, v. 45, p. 423-448, 2000.

PAZ-NETO, A. de A.; QUERINO, R. B.; MARGARÍA, C. B. Egg Parasitoids of Stink Bugs (Hemiptera: Coreidae and Pentatomidae) on Soybean and Cowpea in Brazil. **Florida Entomologist**, v. 98, p. 929-932, 2015.

PEREIRA, F. F.; BARROS, R.; PRATISSOLI, D. Desempenho de *Trichogramma pretiosum* Riley e *T. exiguum* Pinto & Platner (Hymenoptera: Trichogrammatidae) submetidos a diferentes densidades de ovos de *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae). **Ciência Rural**, v. 34, p. 1669-1674, 2004.

PEREIRA, F. F.; ZANUNCIO, J. C.; PASTORI, P. L.; CHICHERA, R. A.; ANDRADE, G. S.; SERRÃO, J. E. Reproductive biology of *Palmistichus elaeisis* (Hymenoptera: Eulophidae) with alternative and natural hosts. **Zoologia**, v. 27, p. 887-891, 2010.

- PEREIRA, K. S.; GUEDES, N. M.; SERRÃO, J. E.; ZANUNCIO, J. C.; GUEDES, R. N. C. Superparasitism, immune response and optimum progeny yield in the gregarious parasitoid *Palmistichus elaeisis*. **Pest Management Science**, v. 73, p. 1101-1109, 2017.
- PERI, E.; CUSUMANO, A.; AGRO, A.; COLAZZA, S. Behavioral response of the egg parasitoid *Ooencyrtus telenomicida* to host-related chemical cues in a tritrophic perspective. **BioControl**, v. 56, p. 163-171, 2011.
- POLANCZYK, R. A.; BARBOSA, W. F.; CELESTINO, F. N.; PRATISSOLI, D.; HOLTZ, A. M.; MILANEZ, A. M.; COCHETO, J. G.; SILVA, A. F. Influência da densidade de ovos de *Diaphania hyalinata* (L.) (Lepidoptera: Crambidae) na capacidade de parasitismo de *Trichogramma exiguum* Pinto & Platner e *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae). **Neotropical Entomology**, v. 40, p. 238-243, 2011.
- QUEIROZ, A. P.; BUENO, A. D.; POMARI-FERNANDES, A.; GRANDE, M. L. M.; BORTOLOTTI, O. C.; SILVA, D. M. Quality control of *Telenomus remus* (Hymenoptera: Platygasteridae) reared on the factitious host *Corcyra cephalonica* (Lepidoptera: Pyralidae) for successive generations. **Bulletin of Entomological Research**, v. 107, p. 791-798, 2017.
- ROSENHEIM, J. A. Single-sex broods and the evolution of nonsiblicidal wasps. **American Naturalist**, v. 141, p. 90-104, 1993.
- SHAPIRO, S. S.; WILK, M. B. An analysis of variance test for normality. **Biometrika**, v. 52, p. 591-611, 1965.
- SILVA, C. C.; LAUMANN, R. A.; BLASSIOLI, M. C.; PAREJA, M.; BORGES, M. *Euschistus heros* mass rearing technique for the multiplication of *Telenomus podisi*. **Pesquisa agropecuária brasileira**, v. 43, p. 575-580, 2008.
- SILVA, S. A. **CONTROLE BIOLÓGICO DE *Erinnyis ello* (LINNAEUS, 1758) (LEPIDOPTERA: SPHINGIDAE) COM PARASITOIDES NA CULTURA DA MANDIOCA**. Tese Doutorado, Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados, p. 85, 2017.
- SILVA, F. A.; SILVA, J. J.; DEPIERI, R. A.; PANIZZI, A. R. Feeding activity, salivary amylase activity, and superficial damage to soybean seed by adult *Edessa meditabunda* (F.) and *Euschistus heros* (F.) (Hemiptera: Pentatomidae). **Neotropical Entomology**, v. 41, p. 386-390, 2012.
- SILVA, G. V.; PASINI, A.; BUENO, A. de F.; BORTOLOTTI, O. C.; BARBOSA, G. C.; CRUZ, Y. K. S. No impact of *Bt* soybean that express Cry1Ac protein on biological traits of *Euschistus heros* (Hemiptera, Pentatomidae) and its egg parasitoid *Telenomus podisi* (Hymenoptera, Platygasteridae). **Revista Brasileira de Entomologia**, v. 58, p. 285-290, 2014.
- SORENSEN, J. G.; ADDISON, M. F.; TERBLANCHE, J. S. Mass-rearing of insects for pest management: Challenges, synergies and advances from evolutionary physiology. **Crop Protection**, v. 38, p. 87-94, 2012.

- STOUTHAMER, R. *Wolbachia*-induced parthenogenesis. In: O'NEILL, S. L.; HOFFMANN, A. A.; WERREN, J. H. (eds) **Influential passengers: inherited microorganisms and arthropod reproduction**. Oxford University Press, Oxford, p. 102-124, 1997.
- STRAND, M. R. Development of the polyembryonic parasitoid *Copidosoma floridanum* in *Trichoplusia ni*. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v. 50, p. 37-46, 1989.
- TUELHER, E. S.; da SILVA, E. H.; RODRIQUES, H. S.; HIROSE, E.; GUEDES, R. N. C.; OLIVEIRA, E. E. Area-wide spatial survey of the likelihood of insecticide control failure in the neotropical brown stink bug *Euschistus heros*. **Journal of Pest Science**, v. 91, p. 849-859, 2018.
- TUNCA, H.; COLOMBEL, E.; BEN SOUSSAN, T.; BURADINO, M.; GALIO, F.; TABONE, E. Optimal biological parameters for rearing *Ooencyrtus pityocampae* on the new laboratory host *Philosamia ricini*. **Journal of Applied Entomology**, v. 140, p. 527-525, 2015.
- TUNCA, H.; COLOMBEL, E.; VENARD, M.; TABONE, E. Incidence of superparasitism in the egg parasitoid, *Ooencyrtus kuvanae* Howard (Hymenoptera: Encyrtidae). **Biocontrol Science and Technology**, v. 27, p. 796-808, 2017.
- WAAGE, J. K.; NG, D. The reproductive strategy of a parasitic wasp: optimal progeny and sex allocation in *Trichogramma ecanescens*. **Journal of Animal Ecology**, v. 53, p. 401-415, 1984.
- WILSON, F.; WOOLCOCK, L. T. Temperature determination of sex in a parthenogenetic parasite, *Ooencyrtus submetallicus* (Howard) (Hymenoptera: Encyrtidae). **Australian Journal of Zoology**, v. 8, p. 153-169, 1960.

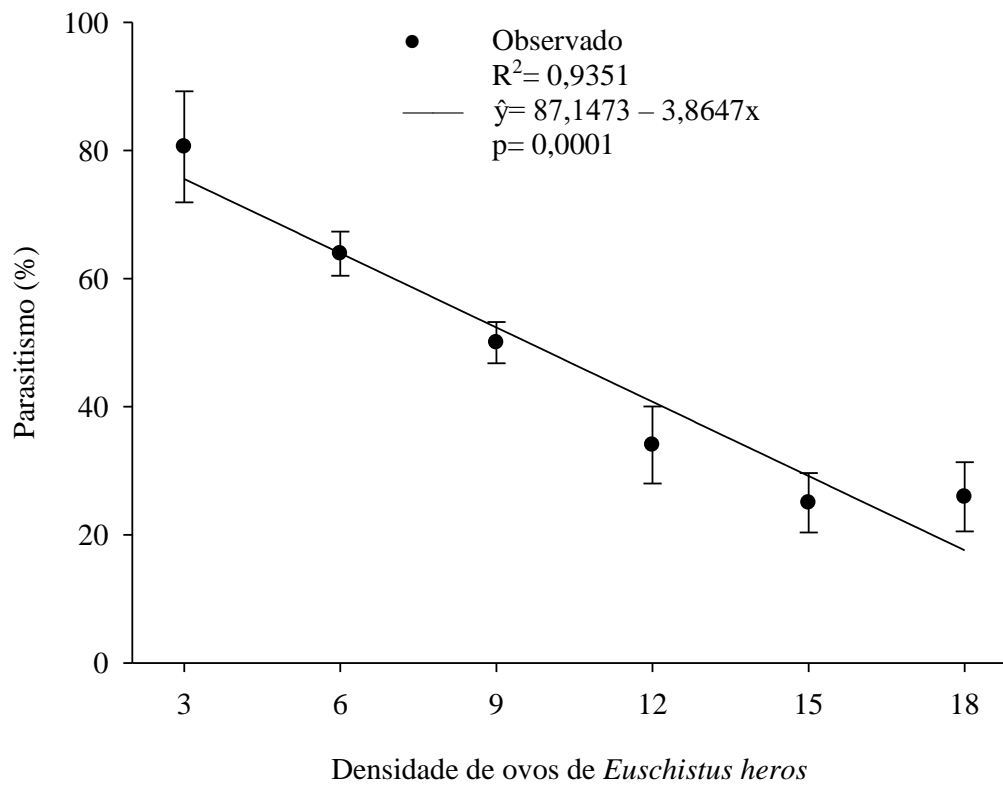


Figura 1. Porcentagem de parasitismo por fêmeas de *Ooencyrtus submetallicus* (Hymenoptera: Encyrtidae) durante 24 horas em função da densidade de ovos de *Euschistus heros* (Hemiptera: Pentatomidae). Temperatura de 25 ± 2 °C, umidade relativa de 70 ± 10 % e fotofase de 12 horas. Dourados–MS, UFGD, 2019.

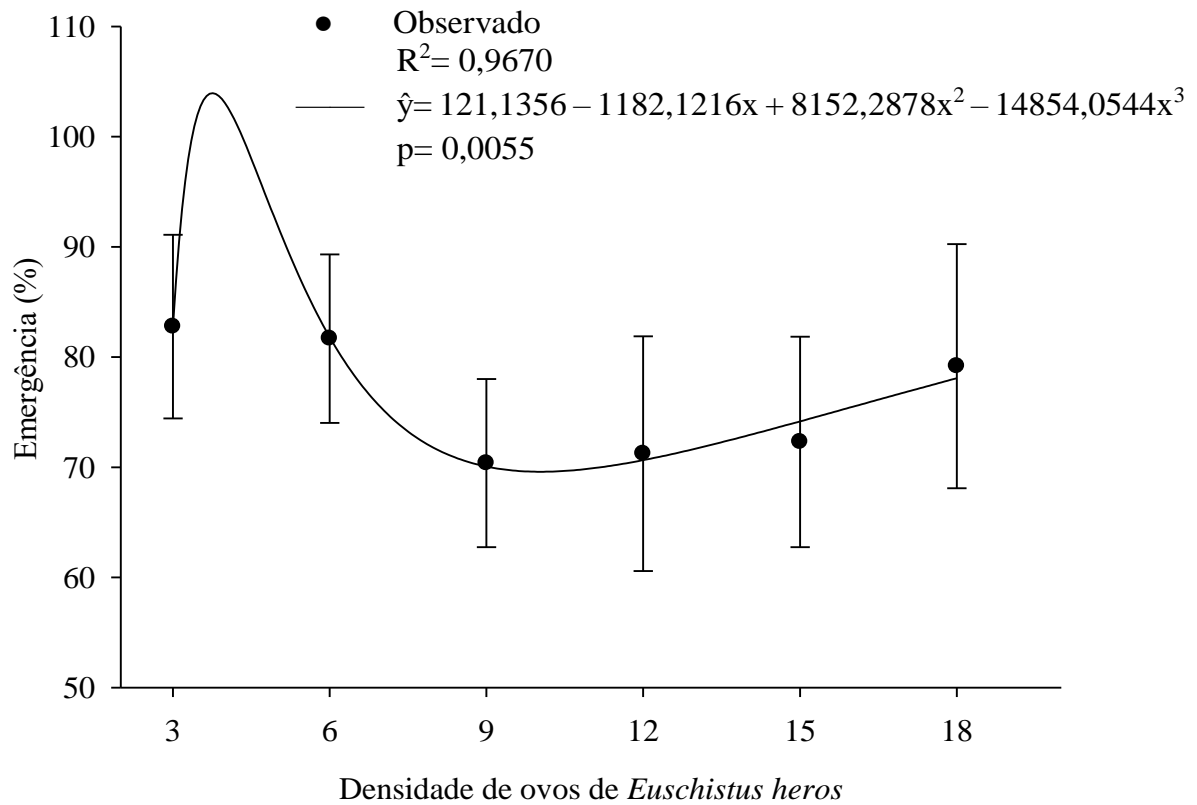


Figura 2. Porcentagem de emergência de adultos de *Ooencyrtus submetallicus* (Hymenoptera: Encyrtidae) em função da densidade de ovos de *Euschistus heros* (Hemiptera: Pentatomidae) expostos ao parasitismo por fêmeas durante 24 horas. Temperatura de 25 ± 2 °C, umidade relativa de 70 ± 10 % e fotofase de 12 horas. Dourados-MS, UFGD, 2019.

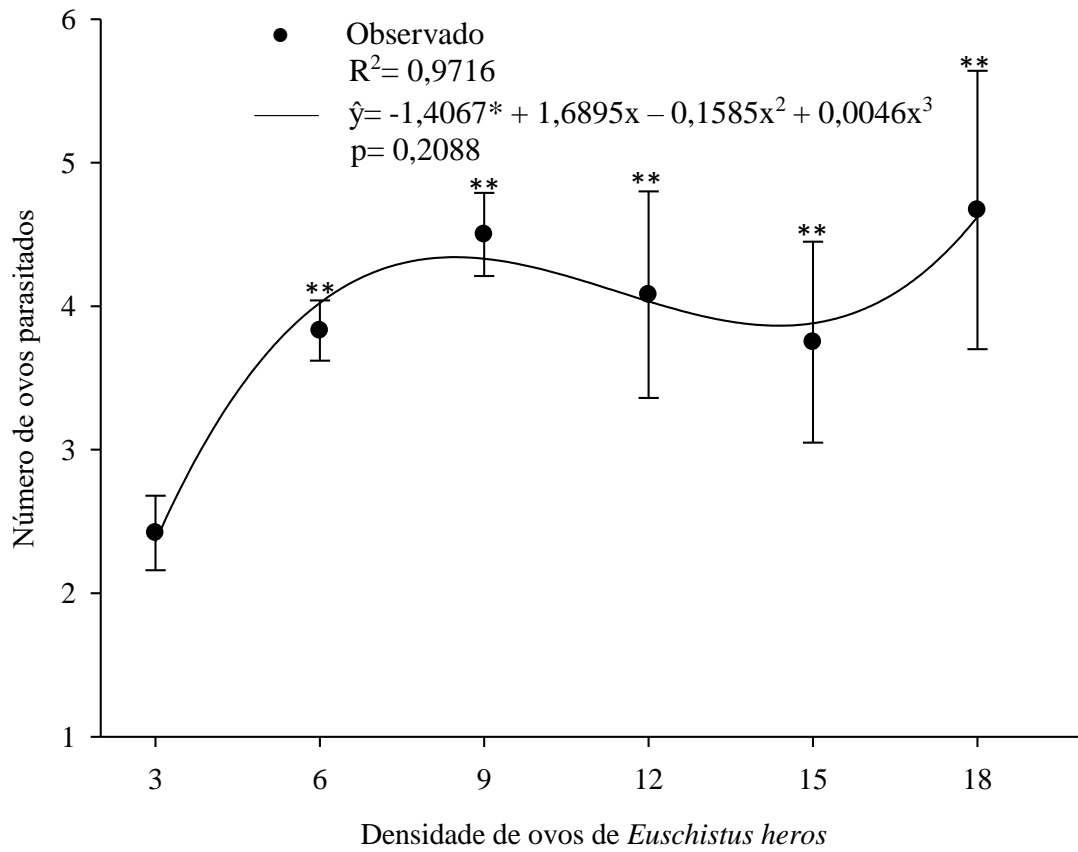


Figura 3. Número médio de ovos de *Euschistus heros* (Hemiptera: Pentatomidae) parasitados por fêmea de *Ooencyrtus submetallicus* (Hymenoptera: Encyrtidae) durante 24 horas em função da densidade de ovos. Temperatura de 25 ± 2 °C, umidade relativa de $70 \pm 10\%$ e fotofase de 12 horas. Dourados-MS, UFGD, 2019. * = probabilidade do β_0 não significativa ($p = 0,2088$).

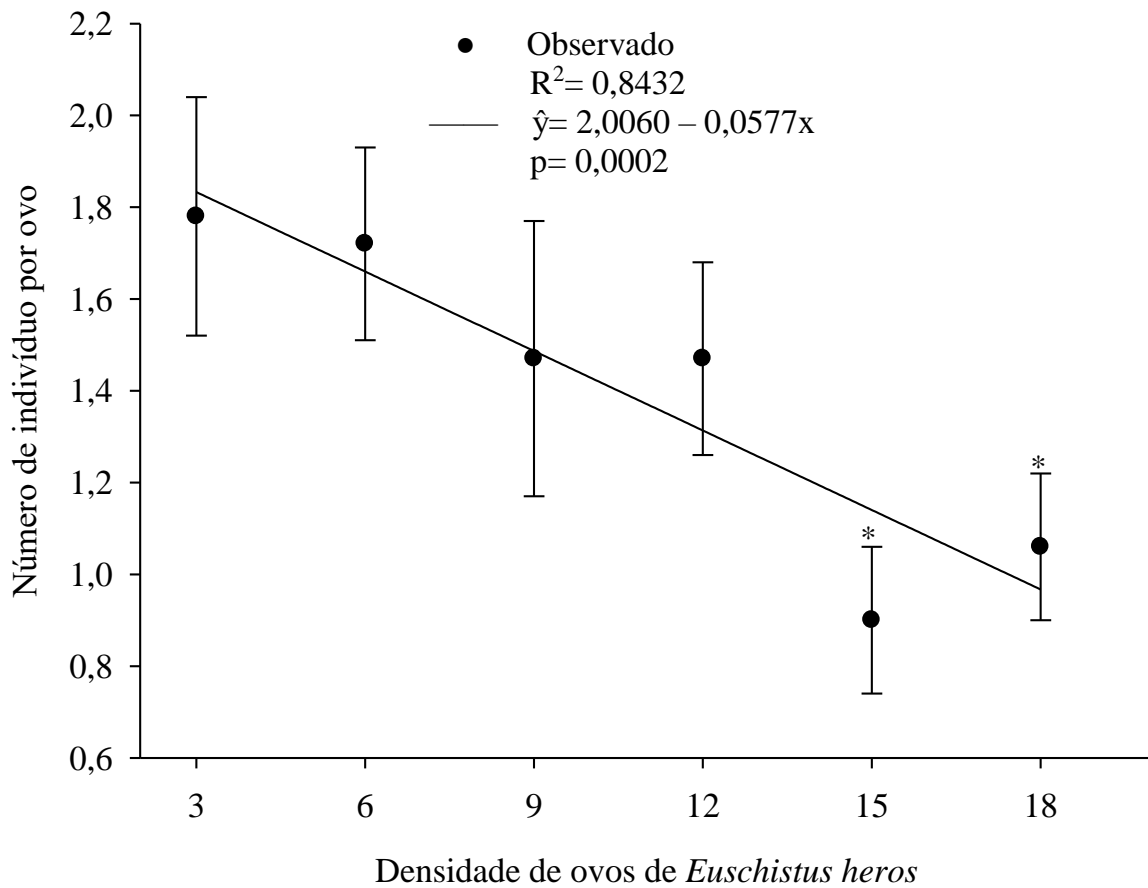


Figura 4. Número médio de indivíduos de *Ooencyrtus submetallicus* (Hymenoptera: Encyrtidae) emergidos por ovo de *Euschistus heros* (Hemiptera: Pentatomidae) parasitados durante 24 horas em função da densidade de ovos. Temperatura de 25 ± 2 °C, umidade relativa de $70 \pm 10\%$ e fotofase de 12 horas. Dourados-MS, UFGD, 2019.

Tabela 1. Médias (\pm erro padrão) do comprimento da tíbia posterior (mm), duração do ciclo de vida (dias), longevidade (dias) e razão sexual [$\Sigma_{\text{♀}} / \Sigma (\text{♀} + \text{♂})$] de adultos de *Ooencyrtus submetallicus* (Hymenoptera: Encyrtidae) submetidos a diferentes densidades de ovos de *Euschistus heros* (Hemiptera: Pentatomidae). Temperatura 25 ± 2 °C, umidade relativa de 70 ± 10 % e fotofase de 12 horas. Dourados–MS, UFGD, 2019.

Densidades (parasitoide: hospedeiros)	Comprimento da Tíbia (mm) ¹	Ciclo de vida (dias) ¹	Longevidade (dias) ¹	Razão Sexual [$\Sigma_{\text{♀}} / \Sigma (\text{♀} + \text{♂})$] ¹
1:3	0,33 \pm 0,01	19 \pm 00,00	22,93 \pm 0,94	1,00 \pm 00,00
1:6	0,32 \pm 0,01	19 \pm 00,00	22,20 \pm 0,66	1,00 \pm 00,00
1:9	0,31 \pm 0,01	19 \pm 00,00	22,73 \pm 0,36	1,00 \pm 00,00
1:12	0,30 \pm 0,02	19 \pm 00,00	21,80 \pm 0,46	1,00 \pm 00,00
1:15	0,32 \pm 0,01	19 \pm 00,00	22,87 \pm 0,66	1,00 \pm 00,00
1:18	0,30 \pm 0,01	19 \pm 00,00	22,13 \pm 0,27	1,00 \pm 00,00
Média geral	0,31 \pm 0,01	19 \pm 00,00	22,44 \pm 0,55	1,00 \pm 00,00
CV (%)	3,86	00,00	2,06	00,00

¹ Não significativo a análise de regressão ($P > 0,05$);
CV – Coeficiente de variação.

CAPÍTULO II – Reprodução de *Ooencyrtus submetallicus* (Hymenoptera: Encyrtidae) em ovos criopreservados de *Euschistus heros* (Hemiptera: Pentatomidae)

Autor: Willian Yoshio Sanomia

Orientador: Dr. Fabricio Fagundes Pereira

Resumo: A criopreservação é uma técnica que tem se mostrado promissora no armazenamento de ovos de percevejos em baixas temperaturas para reprodução de parasitoides em períodos de difícil ocorrência do hospedeiro. No entanto, nenhuma informação sobre o efeito da criopreservação para reprodução de *Ooencyrtus submetallicus* (Howard, 1897) (Hymenoptera: Encyrtidae) foi relatada. Objetivou-se avaliar a influência de diferentes períodos de armazenamento de ovos de *Euschistus heros* (Fabricius, 1794) (Hemiptera: Pentatomidae) em nitrogênio líquido sobre a reprodução de *O. submetallicus*. Ovos de *E. heros* foram armazenados por 0, 30, 60, 90, 120, 150 ou 180 dias em nitrogênio líquido a $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$ para o parasitismo de fêmeas de *O. submetallicus* de 120 – 144 horas de idade, durante 24 horas de parasitismo. As fêmeas parasitoides e a cartela de ovos foram acondicionadas em tubos de vidro e mantidas em câmara climatizada a $25 \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$, $70 \pm 10\%$ de umidade relativa e fotofase de 12 horas. As porcentagens de parasitismo e de emergência de *O. submetallicus* foram afetadas pelos períodos de armazenamento de ovos de *E. heros*. O comprimento da tíbia posterior, a duração do ciclo de vida (dias), a longevidade (dias) e a razão sexual de *O. submetallicus* não foram influenciados pelo hospedeiro. Fêmeas de *O. submetallicus* conseguem se reproduzir com êxito em ovos de *E. heros* armazenados em nitrogênio líquido (-196°C) por 0, 30, 60, 90, 120, 150 ou 180 dias.

Palavras-chave: Parasitoide de ovos; armazenamento; criação de insetos; percevejo-marrom-da-soja; temperatura criogênica.

CHAPTER II - Reproduction of *Ooencyrtus submetallicus* (Hymenoptera: Encyrtidae) on cryopreserved eggs of *Euschistus heros* (Hemiptera: Pentatomidae)

Author: Willian Yoshio Sanomia
Advisor: Dr. Fabricio Fagundes Pereira

Abstract: Cryopreservation is a technique that has been shown to be promising in the storage of stink bug eggs at low temperatures for parasitoid reproduction during periods of difficult host occurrence. However, no information on the effect of cryopreservation for the reproduction of *Ooencyrtus submetallicus* (Howard, 1897) (Hymenoptera: Encyrtidae) has been reported. The objective of this study was to assess the influence of different egg storage periods of *Euschistus heros* (Fabricius, 1794) (Hemiptera: Pentatomidae) in liquid nitrogen on the reproduction of *O. submetallicus*. Eggs of *E. heros* were stored for 0, 30, 60, 90, 120, 150 or 180 days in liquid nitrogen at $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$ for the parasitism of 120-144h old *O. submetallicus* females, during 24 hours of parasitism. The parasitoid females and the egg carton were conditioned in glass tubes (1.00 cm in diameter and 9.50 cm in height) and kept in an air-conditioned chamber at $25 \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$, $70 \pm 10\%$ relative humidity and photophase of 12 h. The percentages of parasitism and emergence of *O. submetallicus* were affected by the storage periods of *E. heros* eggs being greater 87.78 ± 3.03 and 98.89 ± 1.11 days and smaller 73.33 ± 5.35 and 93.33 ± 5.16 days obtained at 0 and 180 days, respectively. Posterior tibia length, life span (days), longevity (days) and sex ratio of *O. submetallicus* were not similar with 31 ± 0.01 mm, 19 ± 0.00 days, 12.26 ± 0.34 days and 1.00 ± 00.00 , respectively. Females of *O. submetallicus* can successfully reproduce in *E. heros* eggs stored in liquid nitrogen (-196°C) for 0, 30, 60, 90, 120, 150 or 180 days.

Key words: Eggs parasitoids; storage; insect rearing, Neotropical brown stink bug; cryogenic temperature.

Introdução

Ooencyrtus submetallicus (Howard, 1897) (Hymenoptera: Encyrtidae) é um endoparasitoide, que se reproduz por partenogênese telítica em ovos de seus hospedeiros (WILSON e WOOLCOCK, 1960) originando indivíduos fêmeas diploides que são derivadas de ovos não fertilizados (STOUTHAMER, 1997; ESPINOSA et al., 2017), pois não dependem do acasalamento com os indivíduos machos (MONTI et al., 2016). Este parasitoide de ovos tem como um de seus hospedeiros *Euschistus heros* (Fabricius, 1794) (Hemiptera: Pentatomidae) (FERREIRA, 2016), inseto-praga com maior abundância, ultimamente, em lavouras de soja no Brasil, responsável por reduzir a produção e qualidade dos grãos ao se alimentar de estruturas reprodutivas (SILVA et al., 2014).

Telenomus podisi (Ashmead, 1893) e *Trissolcus basalis* (Wollaston, 1858) (Hymenoptera: Platygasteridae) são espécies de endoparasitoides reconhecidos por serem utilizados em larga escala para o controle biológico de ovos de *E. heros*, devido sua eficiência no parasitismo deste hospedeiro (PACHECO e CORRÊA-FERREIRA, 2000; FAVETTI et al., 2014). Então, uma alternativa para atender a demanda de parasitoides é o armazenamento de ovos de percevejos pentatomídeos em baixas temperaturas e por períodos indeterminados, permitindo utiliza-los futuramente (ORR, 1988; KIVAN e KILIC, 2005; MAHMOUD e LIM, 2007). Assim, o parasitismo de ovos e desenvolvimento dos parasitoides pode ser realizado com sucesso (CORRÊA-FERREIRA e MOSCARDI, 1993; MAHMOUD e LIM, 2007), permitindo sincronizar as liberações de parasitoides com o ataque de insetos-praga (COLINET e BOIVIN, 2011; SPÍNOLA-FILHO et al., 2014).

Os principais métodos de armazenamento de ovos de diversas espécies à baixa temperatura são em refrigerador, freezer e nitrogênio líquido (GRECO e STILINOVIC, 1998). A criopreservação consiste em uma técnica que tem como princípio básico a redução da temperatura como forma de reduzir o metabolismo celular, permite que as células ou os tecidos sejam conservados por longos períodos e possibilita novamente o desenvolvimento celular normal, após longo período de armazenamento a baixas temperaturas em nitrogênio líquido (-196 °C) (PEGG, 2007). Essa técnica, tem se mostrado bastante promissora para a produção de *T. basalis* (CORRÊA-FERREIRA e OLIVEIRA, 1998) e *T. podisi* (PERES e CORRÊA-FERREIRA, 2004; DOETZER e FOERSTER, 2013; FAVETTI et al., 2014), porque os ovos não são danificados quando armazenados em nitrogênio líquido sendo a vitrificação do material biológico, instantânea (GRECO e STILINOVIC, 1998). Dessa forma, as características

morfológicas permanecem inalteradas por longos períodos de armazenamento (KRECHMER e FOESTER, 2016), possibilitando com esta técnica preservar a vida útil de inimigos naturais (RATHEE e RAM, 2018). Ovos de hospedeiros armazenados de forma adequada são fundamentais para o desenvolvimento de um endoparasitoide com qualidade e para manter a criação em massa do agente de controle biológico para liberação em programas de controle biológico (CHEN e LEOPOLD, 2007). Estudos, relataram que ovos de hospedeiros armazenados a baixas temperaturas possibilitam o parasitismo e desenvolvimento com sucesso pelos parasitoides de ovos (CORRÊA-FERREIRA e MOSCARDI, 1993; MAHMOUD e LIM, 2007). O desenvolvimento de métodos de armazenamento eficaz que não afete a aptidão dos parasitoides é um passo crucial no processo de criação em massa (LEOPOLD, 1998).

A criopreservação de ovos de *E. heros* para a reprodução de *O. submetallicus* ainda não possui registros na literatura, portanto, pode ser uma alternativa viável para a produção de *O. submetallicus* para atender a demanda de programas de controle biológico com este inimigo natural. Esta pesquisa levantou como hipótese que ovos de *E. heros* podem ser armazenados em nitrogênio líquido (-196°C) por diferentes períodos e posteriormente serem utilizados para a multiplicação de *O. submetallicus* sem comprometer suas características biológicas.

O objetivo deste estudo foi avaliar a reprodução de *O. submetallicus* em ovos de *E. heros* armazenados por diferentes períodos em nitrogênio líquido (-196°C).

Material e Métodos

O experimento foi conduzido no Laboratório de Controle Biológico de Insetos (LECOBIOL) pertencente a Faculdade de Ciências Biológicas e Ambientais (FCBA) da Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD), Dourados, Mato Grosso do Sul, Brasil.

Etapa I - Criação de insetos utilizados nos experimentos

***Ooencyrtus submetallicus* (Hymenoptera: Encyrtidae)**

Adultos de *O. submetallicus* foram obtidos do estoque de criação do LECOBIOL, e para o estabelecimento da criação foi utilizada a metodologia proposta por Faca (2017). A criação foi mantida em câmara climatizada com temperatura de 25 ± 2 °C, $70 \pm 10\%$ umidade relativa do ar e fotofase de 12 horas. Adultos foram criados em ovos de *Edessa mediatubunda* (Fabricius, 1794) (Hemiptera: Pentatomidae). A escolha desse hospedeiro foi devida sua capacidade reprodutiva observada durante os testes preliminares no período de desenvolvimento do

experimento, mostrando a aceitação do parasitoide pelos ovos do hospedeiro, favorecendo fácil parasitismo e reprodução das progênies do parasitoide. A espécie de parasitoide foi coletada pelo Dr. Antonio de Souza Silva, em ovos de *E. mediatubunda* em plantas de tomate *Solanum lycopersicum* (Linnaeus, 1753) (Solanales: Solanaceae), na região da Grande Dourados, Mato Grosso do Sul, Brasil. A identificação foi realizada pelo especialista Dr. Valmir Antonio Costa do Instituto Biológico de São Paulo. Espécime voucher do parasitoide foi depositada na coleção permanente da Coleção de Insetos Entomófagos “Oscar Monte”, do Instituto Biológico, depositado em via úmida sob número IB-CBE-569-2.

***Euschistus heros* (Hemiptera: Pentatomidae)**

A colônia de *E. heros* foi estabelecida a partir de indivíduos provenientes de coletas em lavouras de soja, no município de Fátima do Sul-MS. Para a criação foi utilizada a metodologia proposta por Silva et al. (2008) e os insetos acondicionados em gaiolas de criação (20 x 15 x 20 cm) mantidas em uma sala climatizada a 25 ± 2 °C, $70 \pm 10\%$ de umidade relativa e fotofase de 14 horas. A espécie de percevejo foi identificada pela Dra. Jocélia Grazia (Universidade Federal do Rio Grande do Sul - UFRGS), taxonomista de percevejos pentatomídeos neotropicais.

Etapa II – Criopreservação de ovos de *E. heros*

Ovos de *E. heros* com 24 horas de idade, foram coletados dos substratos de postura (algodão), transferidos para tubos criogênicos (Rosca Externa 2 mL, Corning[®], Ribeirão Preto, SP, Brasil) (CORRÊA-FERREIRA e OLIVEIRA, 1998). Os tubos criogênicos foram colocados diretamente em um container de nitrogênio líquido (HEXICRYO[®] Jacareí, SP, Brasil), capacidade de 20 L, armazenadas a uma temperatura criogênica de -196 °C, para posteriormente serem oferecidas às fêmeas do parasitoide *O. submetallicus*. O processo de criopreservação adotado foi o resfriamento rápido (vitrificação) (KASAI et al., 1996), processo que ocorre a uma velocidade de aproximadamente -10^7 °C/s (VAJTA e NAGY, 2006) para evitar a formação de cristais de gelo no interior dos compartimentos celulares (YAMAKI et al., 2002).

Etapa III – Desenvolvimento experimental

Desempenho de *O. submetallicus* em ovos de *E. heros* armazenados em nitrogênio líquido por 0, 30, 60, 90, 120, 150 ou 180 dias.

Ovos de *E. heros* em densidade 1:6, parasitoide: hospedeiro, foram colados em seções retangulares (0,50 cm x 1,00 cm) de papel tipo cartão, cor azul celeste com goma arábica a 20%

e subsequentemente inseridos em tubos de vidro (1,00 cm de diâmetro e 9,50 cm de altura) com alimento (gotas de mel), juntamente com uma fêmea de *O. submetallicus* de 120 – 144 horas de idade (FACA, 2017). O descongelamento dos ovos foi a partir da sua retirada do container de nitrogênio líquido, com posterior acondicionamento em placas de petri forradas com papel filtro umedecido por 24 horas em sala climatizada. O parasitismo foi permitido por 24 horas e após este período, as fêmeas de *O. submetallicus* foram retiradas e os ovos permaneceram em tubos de vidro, sendo mantido em BOD (modelo EL 222, ELETROLab[®], São Paulo, SP, Brasil) a 25 ± 2 °C, 70 ± 10 % de UR e fotofase de 12 horas.

As características biológicas avaliadas foram: porcentagem de parasitismo (número de ovos escuros/número total de ovos) x 100, porcentagem de emergência (número de ovos com orifício/número de ovos escuros) x 100. Os ovos parasitados foram determinados por meio da identificação na mudança de coloração, sendo que os ovos parasitados apresentam coloração escura diferenciando da coloração natural amarelada dos ovos não parasitados (MEDEIROS et al., 1997). O número de indivíduos emergidos por cada ovo de percevejo foi contabilizado ao se observar parasitoides adultos que emergiram, sendo realizado a dissecação dos ovos com auxílio de uma lupa e agulhas entomológicas, para verificar se não haviam parasitoides nas fases de larva, pupa ou adulto no interior. O comprimento da tibia posterior foi medido para auxiliar uma possível correlação do tamanho corporal do parasitoide adulto. Para isso, o comprimento da tibia posterior, foi mensurado a partir da articulação com o fêmur até a junção com o tarso, sendo selecionados ao acaso 10 fêmeas, (BAI et al., 1992; OLSON e ANDOW, 1998), utilizando microscópio estereoscópico Discovery.V8 e o Software ZEN lite from ZEISS Microscopy para fazer as medições morfométricas. Duração do ciclo de vida (tempo de desenvolvimento do parasitoide imaturo mensurado a partir do dia do parasitismo até a emergência do adulto). Longevidade de fêmeas (período de sobrevivência do parasitoide adulto) em dias, para a qual, foram selecionados 15 indivíduos ao acaso de cada tratamento, coletados no dia de sua emergência, e posteriormente, individualizadas em ependorff, alimentados com mel disperso em gotículas, onde permaneceram até sua morte. Razão sexual (número de fêmeas/número total de parasitoides).

Análises estatísticas

O delineamento utilizado foi inteiramente casualizado (DIC) com 7 tratamentos e 15 repetições. Cada repetição foi constituída por um tubo de vidro com uma fêmea do parasitoide e uma cartela com 6 ovos de *E. heros* armazenados em diferentes períodos. Os dados foram

submetidos ao teste de normalidade de Shapiro-Wilk (SHAPIRO & WILK, 1965). Os dados de porcentagem de parasitismo e emergência, número de ovos parasitados, número de indivíduos por ovos, o comprimento da tibia posterior, a duração do ciclo de vida, a longevidade e a razão sexual foram submetidos à análise de regressão a 5% de probabilidade. A equação que melhor se ajustou aos dados foi escolhida a partir dos modelos linear e quadrático, com base no coeficiente de determinação (R^2), na significância dos coeficientes de regressão (β_i) e de regressão pelo teste F (5% de probabilidade), e o fenômeno biológico estudado, utilizando o software estatístico SigmaPlot 30-Day Trial, sob o serial “775400014”.

Resultados

A porcentagem de parasitismo foi afetada pelo período de armazenamento de ovos de *E. heros* oferecidos a fêmeas de *O. submetallicus* ($F = 27,59$; $gL = 6$; $P = 0,0033$) sendo o maior $87,78 \pm 3,03$ e o menor $73,33 \pm 5,35$, parasitismo obtidos aos 0 e 180 dias, respectivamente (Figura 1), diferenciando significativamente, quando comparado ao período de 0 à 150 dias ($P = 0,05$) e 180 dias ($P = 0,02$). A porcentagem de emergência foi afetada pelo período de armazenamento de ovos de *E. heros* ($F = 19,43$; $gL = 6$; $P = 0,0070$), sendo a maior $98,89 \pm 1,11$ emergência obtida nos tratamentos 0 dias, não houve diferenças significativas quando os períodos de armazenamento foram comparados ao período de 0 dias (Figura 2).

Houve influência no número de ovos parasitados ($F = 28,28$; $gL = 6$; $P = 0,0031$), sendo maior $5,27 \pm 0,18$ e menor $4,40 \pm 0,32$ nos tratamentos 0 e 180 dias, respectivamente (Figura 3), diferenciando significativamente, quando comparado o período de 0 dias a 180 dias ($P = 0,02$). O número de indivíduos por ovo foi influenciado pelo período de armazenamento ($F = 20,55$; $gL = 6$; $P = 0,0062$), sendo maior $1,90 \pm 0,11$ e menor $1,48 \pm 0,13$ nos tratamentos 60 e 180 dias, respectivamente (Figura 4), diferenciando significativamente, quando comparado com o período de 0 dias a 150 dias ($P = 0,02$) e 180 dias ($P = 0,01$).

O comprimento da tibia posterior, a duração do ciclo de vida, a longevidade e a razão sexual de *O. submetallicus* não foram influenciados pelo período de armazenamento de ovos de *E. heros* ($P > 0,05$). A média geral obtida de todos os tratamentos avaliados foram: $0,31 \pm 0,01$ mm, $19 \pm 0,00$ dias, $12,26 \pm 0,34$ dias e $1,00 \pm 00,00$, respectivamente (Tabela 1).

Discussão

A porcentagem de parasitismo diminuiu (Figura 1) com o aumento do período em que os ovos permaneceram armazenados em nitrogênio líquido. Uma forma de se determinar a

adequabilidade dos ovos armazenados a baixas temperaturas, é de acordo com a porcentagem de parasitismo e no sucesso do desenvolvimento de seus descendentes (DROOZ e WEEMS, 1982; KIVAN e KILIC, 2005). Neste estudo, essa porcentagem permaneceu superior a 70%.

Esse decréscimo está relacionado com a perda de água, à medida que, esses ovos envelhecem, e conseqüentemente, o desenvolvimento do embrião é afetado (KIVAN e KILIC, 2005; BOIVIN, 2010). Os fatores inadequados de armazenamento como temperatura e umidade relativa afetaram a qualidade de parasitismo de *Ooencyrtus nezarae* (Ishii, 1928) (Hymenoptera: Encyrtidae) em ovos de *Riptortus pedestris* (Fabricius, 1775) (Hemiptera: Alydidae), sendo as condições ideais de armazenamento uma temperatura de 6 °C e alta umidade relativa 90-95% (MAINALI e LIM, 2013).

Os resultados obtidos, permitem determinar que ovos de *E. heros* armazenados até 180 dias, proporcionam uma aceitável emergência de *O. submetallicus* (Figura 2). Na literatura, resultados obtidos com emergência de seus descendentes foram variáveis, com diferentes temperaturas e períodos de armazenamento com ovos de percevejos (ORR, 1988; CORRÊA-FERREIRA e MOSCARDI, 1993; CORRÊA-FERREIRA e OLIVEIRA, 1998). Vale ressaltar que, neste estudo, ovos foram dissecados para verificar se havia algum parasitoide adulto que não conseguiu emergir, no entanto, não foi verificado a presença dos parasitoides em estágios larval e adultos no interior do hospedeiro. Portanto, ovos de *E. heros*, permitiram o desenvolvimento favorável desta espécie de parasitoide, e a sua emergência.

O número médio de parasitoides por ovo apresentou um decréscimo a partir dos 60 dias de armazenamento (Figura 4), ou seja, dando origem a menos indivíduos por ovo. Assim, foi observado que quanto mais parasitoides por ovo, menor era seu tamanho corporal, quando comparadas aos tratamentos que possuíam o menor número de descendentes. Geralmente, uma fêmea adulta pode produzir mais progênie quando alimentadas com recursos mais nutritivos de seus hospedeiros como a hemolinfa, carboidratos, proteínas e fontes de açúcar líquido (JERVIS et al., 1992).

Fêmeas de *O. submetallicus* não tiveram o comprimento da tíbia posterior afetado pelo período de armazenamento (Tabela 1). O comprimento da tíbia do parasitoide é utilizado como referência para correlacionar o tamanho corporal do parasitoide (JERVIS e COPLAND, 1996), sendo um importante indicador de aptidão, longevidade e fecundidade de fêmeas (SAGARRA et al., 2001). Contudo, parasitoide com maior tamanho corporal são responsáveis por terem maiores quantidades de reservas de energia devido a capacidade da larva durante o seu

desenvolvimento, conseguir explorar os recursos nutricionais (CHONG e OETTING, 2006). Ovos de *E. heros* armazenados até 180 dias permite que adultos de *O. submetallicus* tenham as mesmas quantidades de reservas de energia que indivíduos provenientes de ovos armazenados a 0 dias, pois seu tamanho corporal não sofreu influência diante de diferentes períodos de armazenamento à baixas temperaturas.

A duração do ciclo de vida dos parasitoides que emergiram de ovos armazenados não foi afetado (Tabela 1), pois, o processo de vitrificação em que os ovos foram submetidos, evita a perda da água e a cristalização do conteúdo interno (VAJTA e NAGY, 2006). Portanto, estes dados corroboram Doetzer e Foester (2013) que não encontram diferenças significativas na duração do ciclo de vida quando se utilizou ovos armazenados até 6 meses, em comparação a ovos frescos.

O armazenamento de ovos não influenciou a longevidade dos parasitoides (Tabela 1) corroborando os resultados obtidos por Favetti et al. (2014) que armazenaram ovos de *E. heros* por até 6 meses, e depois os submeteu ao parasitismo de *T. podisi*. Pode-se explicar que não ocorreram variações devido as mesmas condições de alimentação e temperatura em que os parasitoides foram submetidos (PACHECO e CORRÊA-FERREIRA, 1998).

A razão sexual não foi afetada diante do período em que os ovos foram armazenados a baixas temperaturas (Tabela 1). Este resultado, corrobora Alim e Lim (2010) que não encontraram diferenças significativas na razão sexual de *O. nezarae*, quando os ofereceu ovos de *Riptortus pedestris* (Fabricius, 1775) (Hemiptera: Alydidae) armazenados em diferentes períodos (0 - 120 dias) à baixa temperatura em um refrigerador à $2,0 \pm 0,7$ °C. Diante do fato, Queiroz et al. (2017) também observaram que ovos de *C. cephalonica* armazenados a baixas temperaturas não afetaram a razão sexual das proles de *T. remus*. Os ovos de *Mythimna sequax* (Franclemont, 1951) (Lepidoptera: Noctuidae) armazenados em nitrogênio líquido não afetaram o número de fêmeas de *Trichogramma* spp., tendo em vista, que este método pode aumentar a eficácia de liberações em programas de controle biológico (KRECHEMER e FOESTER, 2016). Uma hipótese levantada por Greco e Stilinovic (1998), seria de que os indivíduos machos seriam mais sensíveis a mudanças de temperaturas durante o armazenamento, levando-os a morte no estágio pupal em *Trichogramma*. Contudo, a reprodução de *O. submetallicus* ocorre por partenogênese telítoca, gerando indivíduos fêmeas e os machos são raros nesta espécie, mas podem emergir em condições particulares de temperatura quando atinge a temperatura crítica de 85 °F (29,44 °C) (WILSON e WOOLCOCK, 1960), portanto, não ocorre a cópula dentro desta espécie. Está técnica é uma vantagem para a

produção desta espécie de parasitoide, uma vez que, a baixa temperatura e o período de armazenamento não afetaram essa característica biológica. A razão sexual é um fator determinante em programas de controle biológico, por serem as fêmeas, as responsáveis pela regulação populacional de insetos-pragas.

A técnica de armazenamento de ovos de hospedeiros em nitrogênio líquido tem se mostrado bastante promissora para a produção de várias espécies de parasitoide, além disso, neste trabalho ficou evidente grande êxito para a produção de *O. submetallicus*. Na ausência ou em períodos de diapausa de hospedeiros, pode-se utilizar desta técnica para produzir uma grande quantidade deste parasitoide para sua possível liberação visando controle biológico de insetos-praga, especialmente *E. heros*.

Conclusão

Fêmeas de *O. submetallicus* conseguem se reproduzir em ovos de *E. heros* armazenados em nitrogênio líquido (-196°C) por 0, 30, 60, 90, 120, 150 ou 180 dias com parasitismo e emergência acima de 70 %. Estes resultados são relevantes para a produção desta espécie de parasitoide em ovos de *E. heros*, para atender demandas de produção e serem utilizadas em larga escala na regulação populacional de percevejos durante períodos críticos de ocorrência de percevejos na soja.

Referências Bibliográficas

- ALIM, M. A.; LIM, U. T. Biological attributes of *Ooencyrtus nezarae* Ishii (Hymenoptera: Encyrtidae) reared on refrigerated eggs of *Riptortus pedestris* (=clavatus) Fabricius (Hemiptera: Alydidae). **Journal of Asia-Pacific Entomology**, v. 13, p. 139-143, 2010.
- BAI, B.; LUCK, R. F.; FOSTER, L.; STEPHENS, B.; JANSSEN, J. A. M. The effect of host size on quality attributes of the egg parasitoid, *Trichogramma pretiosum*. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v. 64, p. 37-48, 1992.
- BOIVIN, G. Phenotypic plasticity and fitness in egg parasitoids. **Neotropical Entomology**, v. 39, p. 457-463, 2010.
- COLINET, H.; BOIVIN, G. Insect parasitoids cold storage: A comprehensive review of factors of variability and consequences. **Biological Control**, v. 58, p. 83-95, 2011.
- CORRÊA-FERREIRA, B. S., MOSCARDI, F. Storage techniques of stink bug eggs for laboratory production of the parasitoid, *Trissolcus basalus* (Wollaston). **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 28, p. 1247-1253, 1993.

CORRÊA-FERREIRA, B. S.; OLIVEIRA, M. C. N. Viability of *Nezara viridula* (L.) eggs for parasitism by *Trissolcus basal* (Woll.), under different storage techniques in liquid nitrogen. **Anais da Sociedade Entomologica do Brasil**, v. 27, p. 101-107, 1998.

CHEN, W.; LEOPOLD, R. A. Progeny quality of *Gonatocerus ashmeadi* (Hymenoptera: Mymaridae) reared on stored eggs of *Homalodisca coagulate* (Hemiptera: Cicadellidae). **Journal of Economic Entomology**, v. 100, p. 685-694, 2007.

CHONG, J. H.; OETTING, R. D. Influence of Temperature, Nourishment, and Storage Period on the Longevity and Fecundity of the Mealybug Parasitoid, *Anagyrus* sp. nov. nr. *sinope* Noyes and Menezes (Hymenoptera: Encyrtidae). **Environmental Entomology**, v. 35, 1198-1207, 2006.

DOETZER, A. K.; FOERSTER, L. A. Storage of Pentatomid Eggs in Liquid Nitrogen and Dormancy of *Trissolcus basal* (Wollaston) and *Telenomus podisi* Ashmead (Hymenoptera: Platygasteridae) Adults as a Method of Mass Production. **Neotropical Entomology**, v. 42, p. 534-538, 2013.

DROOZ, A. T.; WEEMS, M. L. Cooling eggs of *Eutrapela clemataria* (Lepidoptera: Geometridae) to 10 C forestalls decline in parasite production with *Ooencyrtus enomophagus* (Hymenoptera: Encyrtidae). **The Canadian Entomologist**, v. 114, p. 1195-1196, 1982.

ESPINOSA, M. S.; VIRLA, E. G.; CUOZZO, S. *Wolbachia* Infections Responsible for Thelytoky in Dryinid Wasps. The Case of *Gonatopus bonaerensis* Virla (Hymenoptera: Dryinidae). **Neotropical Entomology**, v. 46, p. 409-413, 2017.

FACA, E. C. **Interações biológicas entre *Trissolcus urichi* (Hymenoptera: Scelionidae) e *Ooencyrtus submetallicus* (Hymenoptera: Encyrtidae) em ovos de *Nezara viridula* e *Chinavia pengue* (Hemiptera: Pentatomidae)**. Dissertação Mestrado, Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados, p. 78, 2017.

FAVETTI, B. M.; BUTNARIU, A. R.; DOETZER, A. K. Storage of *Euschistus heros* Eggs (Fabricius) (Hemiptera: Pentatomidae) in Liquid Nitrogen for Parasitization by *Telenomus podisi* Ashmead (Hymenoptera: Platygasteridae). **Neotropical Entomology**, v. 43, p. 291-293, 2014.

FERREIRA, N. G. P. ***Ooencyrtus submetallicus* (HYMENOPTERA: ENCYRTIDAE): Um potencial parasitoide de *Euschistus heros* e *Chinavia pengue* (HEMIPTERA: PENTATOMIDAE)**. Dissertação Mestrado, Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados, p. 76, 2016.

GRECO, C. F.; STILINOVIC, D. Parasitization performance of *Trichogramma* spp. (Hym., Trichogrammatidae) reared on eggs of *Sitotroga cerealella* Oliver (Lep., Gelechiidae), stored at freezing and subfreezing conditions. **Journal of Applied Entomology**, v. 122, p. 311-314, 1998.

JERVIS, M. A.; KIDD, N. A. C.; WALTON, M. A review of methods for determining dietary range in adult parasitoids. **Entomophaga**, v. 37, p. 565-574, 1992.

JERVIS, M. A.; COPLAND, M. J. W. The life cycle, pp. 63-160. In: M. A. Jervis and N. Kidd (eds.), *Insect natural enemies: practical approaches to their study and evaluation*. Chapman & Hall, London, UK, 1996.

KASAI, M.; ZHU, S. E.; PEDRO, P. B.; NAKAMURA, K.; EDASHIGE, K. Fracture damage of embryos and its prevention during vitrification and warming. **Cryobiology**, v. 33, p. 459-464, 1996.

KIVAN, M.; KILIC, N. Effects of storage at low temperature of various heteropteran host eggs on the egg parasitoid, *Trissolcus semistriatus*. **BioControl**, v. 50, p. 589-600, 2005.

KRECHEMER, F. S.; FOERSTER, L. A. Mass production of *Trichogramma* spp. using *Mythimna sequax* eggs stored in liquid nitrogen. **BioControl**, v. 61, p. 497-505, 2016.

LEOPOLD, R. A. Cold storage of insects for integrated pest management. In: Hallman, G. J., and D. L. Denlinger (eds.) **Temperature sensitivity in insects and application in integrated pest management**. Westview Press, Boulder, CO, USA, p. 235-267, 1998.

MAHMOUD, A. M. A.; LIM, U. T. Evaluation of cold-stored eggs of *Dolycoris baccarum* (Hemiptera: Pentatomidae) for parasitization by *Trissolcus nigripedius* (Hymenoptera: Scelionidae). **Biological Control**, v. 43, p. 287-293, 2007.

MAINALI, B. P.; LIM, U. T. Quality assessment of *Riptortus pedestris* (Hemiptera: Alydidae) eggs cold-stored at different temperature and relative humidity regime. **Biological Control**, v. 64, p. 132-137, 2013.

MEDEIROS, M. A.; SCHIMIDT, F. V. G.; LOIÁCONO, M. S.; CARVALHO, V. F.; BORGES, M. Parasitismo e Predação em Ovos de *Euschistus heros* (Fab.) (Heteroptera: Pentatomidae) no Distrito Federal, Brasil. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v. 26, p. 397-401, 1997.

MONTI, M. M.; NUGNES, F.; GUALTIERI, L.; GEBIOLA, M.; BERNARDO, U. No evidence of parthenogenesis-inducing bacteria involved in *Thripoctenus javae* thelytoky: an unusual finding in Chalcidoidea. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v. 160, p. 292-301, 2016.

OLSON, D. M.; ANDOW, D. A. Larval crowding and adult nutrition effects on longevity and fecundity of female *Trichogramma nubilale* Ertle & Davis (Hymenoptera: Trichogrammatidae). **Environmental Entomology**, v. 27, p. 508-514, 1998.

ORR, D. B. Scelionid wasps as biological control agents: a review. **Florida Entomologist**, v. 71, p. 506-527, 1988.

PACHECO, D. J. P.; CORRÊA-FERREIRA, B. S. Potencial reprodutivo e longevidade do parasitóide *Telenomus podisi* Ashmead, em ovos de diferentes espécies de Percevejos. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v. 27, p. 585-591, 1998.

PACHECO D. J. P.; CORRÊA-FERREIRA B. S. Parasitismo de *Telenomus podisi* Ashmead (Hymenoptera: Scelionidae) em populações de percevejos pragas da soja. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v. 29, p. 295-302, 2000.

- PEGG, D. E. Cryopreservation and Freeze-Drying Protocols Methods. In: **Molecular Biology**. 2nd edn. Totowa: Humana Press Inc., p. 348, 2007.
- PERES, A. A.; CORRÊA-FERREIRA, B. S. Methodology of Mass Multiplication of *Telenomus podisi* Ash. and *Trissolcus basalisi* (Woll.) (Hymenoptera: Scelionidae) on Eggs of *Euschistus heros* (Fab.) (Hemiptera: Pentatomidae). **Neotropical Entomology**, v. 33, p. 457-462, 2004.
- QUEIROZ, A. P.; BUENO, A. F.; POMARI-FERNANDES, A.; GRANDE, M. L. M.; BORTOLOTTI, O. C.; SILVA, D. M. Low Temperature Storage of *Telenomus remus* (Nixon) (Hymenoptera: Platygasteridae) and its Factitious Host *Corcyra cephalonica* (Stainton) (Lepidoptera: Pyralidae). **Neotropical Entomology**, v. 46, p. 182–192, 2017.
- RATHEE, M.; RAM, P. Impact of cold storage on the performance of entomophagous insects: an overview. **Phytoparasitica**, v. 46, p. 421-449, 2018.
- SAGARRA, L. A.; VINCENT, C.; STEWART, R. K. Body size as an indicator of parasitoid quality in male and female *Anagyrus kamali* (Hymenoptera: Encyrtidae). **Bulletin of Entomological Research**, v. 91, p. 363-367, 2001.
- SILVA, C. C.; LAUMANN, R. A.; BLASSIOLI, M. C.; PAREJA, M.; BORGES, M. *Euschistus heros* mass rearing technique for the multiplication of *Telenomus podisi*. **Pesquisa agropecuária brasileira**, v. 43, p. 575-580, 2008.
- SILVA, G. V.; PASINI, A.; BUENO, A. de F.; BORTOLOTTI, O. C.; BARBOSA, G. C.; CRUZ, Y. K. S. No impact of Bt soybean that express Cry1Ac protein on biological traits of *Euschistus heros* (Hemiptera, Pentatomidae) and its egg parasitoid *Telenomus podisi* (Hymenoptera, Platygasteridae). **Revista Brasileira de Entomologia**, v. 58, p. 285-290, 2014.
- SPÍNOLA-FILHO, P. R. de C.; LEITE, G. L. D.; SOARES, M. A.; ALVARENGA, A. C.; PAULO, P. D. de; TUFFI-SANTOS, L. D.; ZANUNCIO, J. C. Effects of Duration of Cold Storage of Host Eggs on Percent Parasitism and Adult Emergence of Each of Ten Trichogrammatidae (Hymenoptera) Species. **Florida Entomologist**, v. 97, p. 14-21, 2014.
- STOUTHAMER, R. *Wolbachia*-induced parthenogenesis. In: O'NEILL, S. L.; HOFFMANN, A. A.; WERREN, J. H. (eds) **Influential passengers: inherited microorganisms and arthropod reproduction**. Oxford University Press, Oxford, p. 102-124, 1997.
- SHAPIRO, S. S.; WILK, M. B. An analysis of variance test for normality. **Biometrika**, v. 52, p. 591-611, 1965.
- VAJTA, G.; NAGY, Z. P. Are programmable freezers still needed in the embryo laboratory? Review on vitrification. **Reproductive Biomedicine Online**, v. 12, p. 779-796, 2006.
- WILSON, F.; WOOLCOCK, L. T. Temperature determination of sex in a parthenogenetic parasite, *Ooencyrtus submetallicus* (Howard) (Hymenoptera: Encyrtidae). **Australian Journal of Zoology**, v. 8, p. 153-169, 1960.

YAMAKI, S. B.; PEDROSO, A. G.; ATVARIS, T. D. Z. O estado vítreo dentro da perspectiva do curso de graduação em química (físico-química). **Química Nova**, v. 25, p. 330-334, 2002.

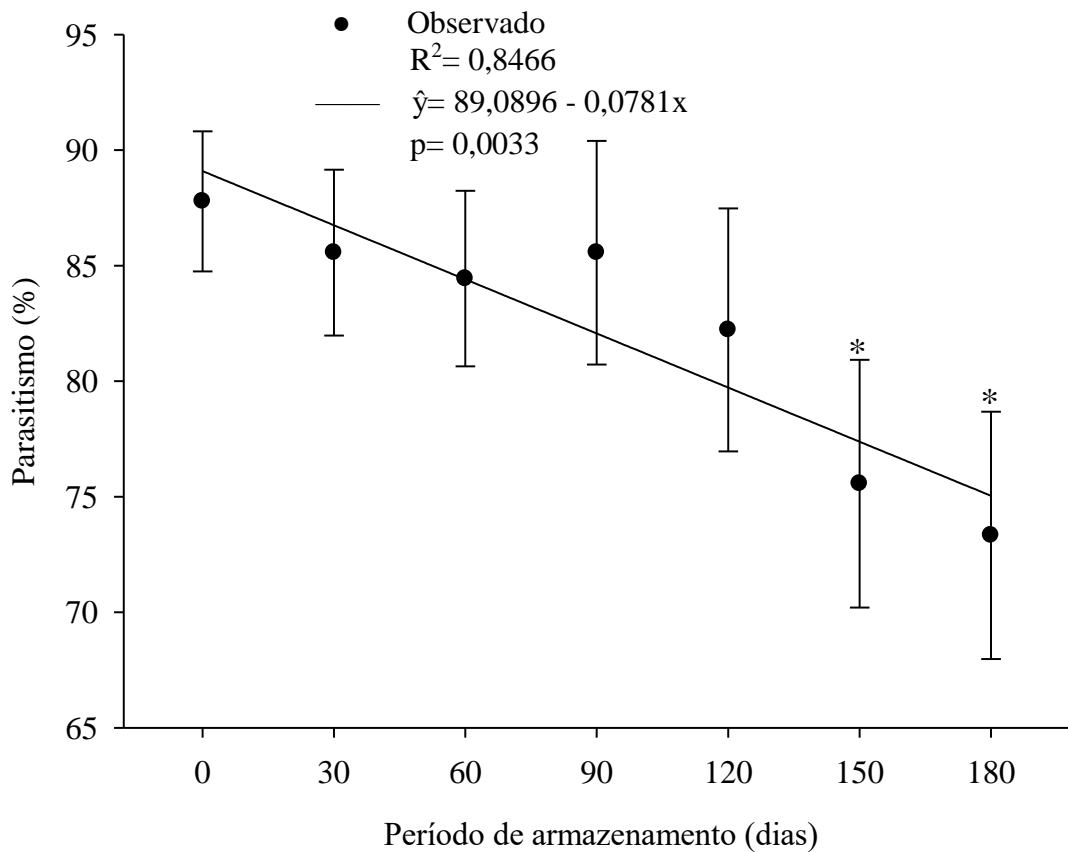


Figura 1. Porcentagem de parasitismo por fêmeas de *Ooencyrtus submetallicus* (Hymenoptera: Encyrtidae) em função do período de armazenamento de ovos de *Euschistus heros* (Hemiptera: Pentatomidae) em nitrogênio líquido à $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$ e expostos por 24 horas ao parasitismo, a $25 \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$, umidade relativa de $70 \pm 10\%$ e fotofase de 12 horas. Dourados-MS, UFGD, 2019.

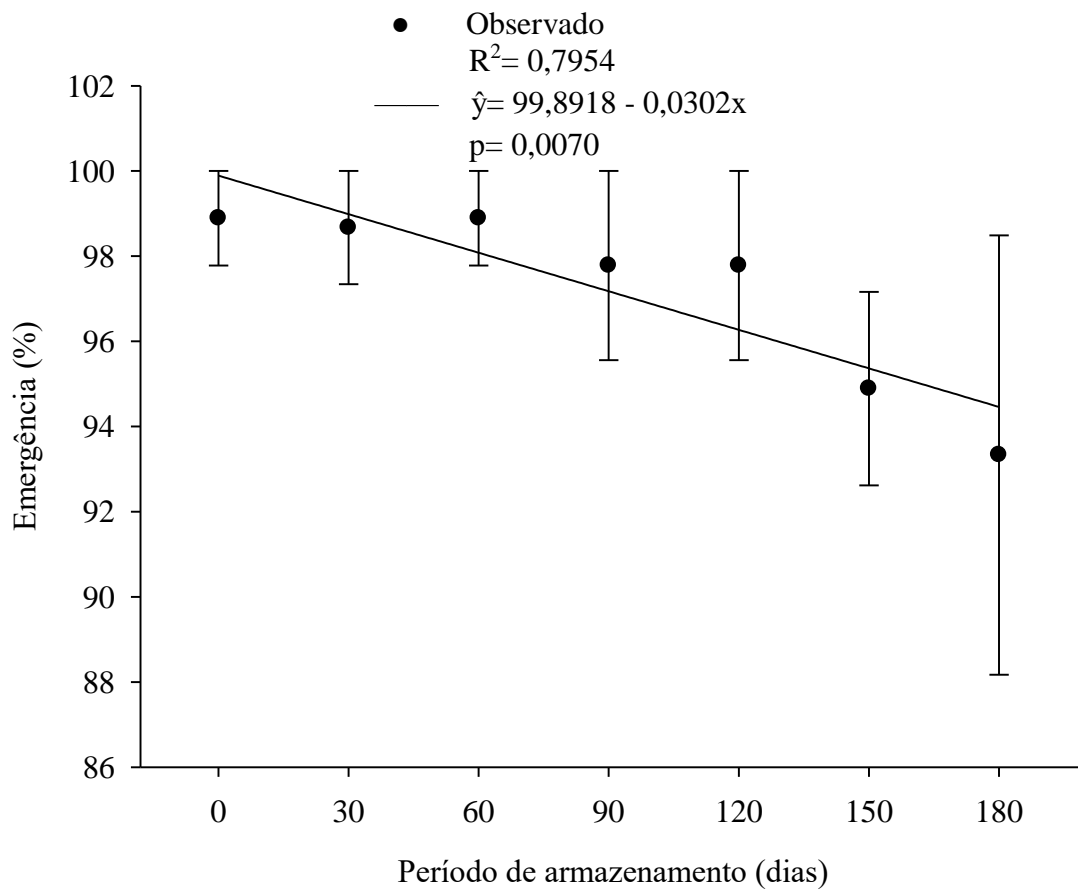


Figura 2. Porcentagem de emergência de adultos de *Ooencyrtus submetallicus* (Hymenoptera: Encyrtidae) em função do período de armazenamento de ovos de *Euschistus heros* (Hemiptera: Pentatomidae) em nitrogênio líquido à $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$ e expostos por 24 horas ao parasitismo, a $25 \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$, umidade relativa de $70 \pm 10\%$ e fotofase de 12 horas. Dourados-MS, UFGD, 2019.

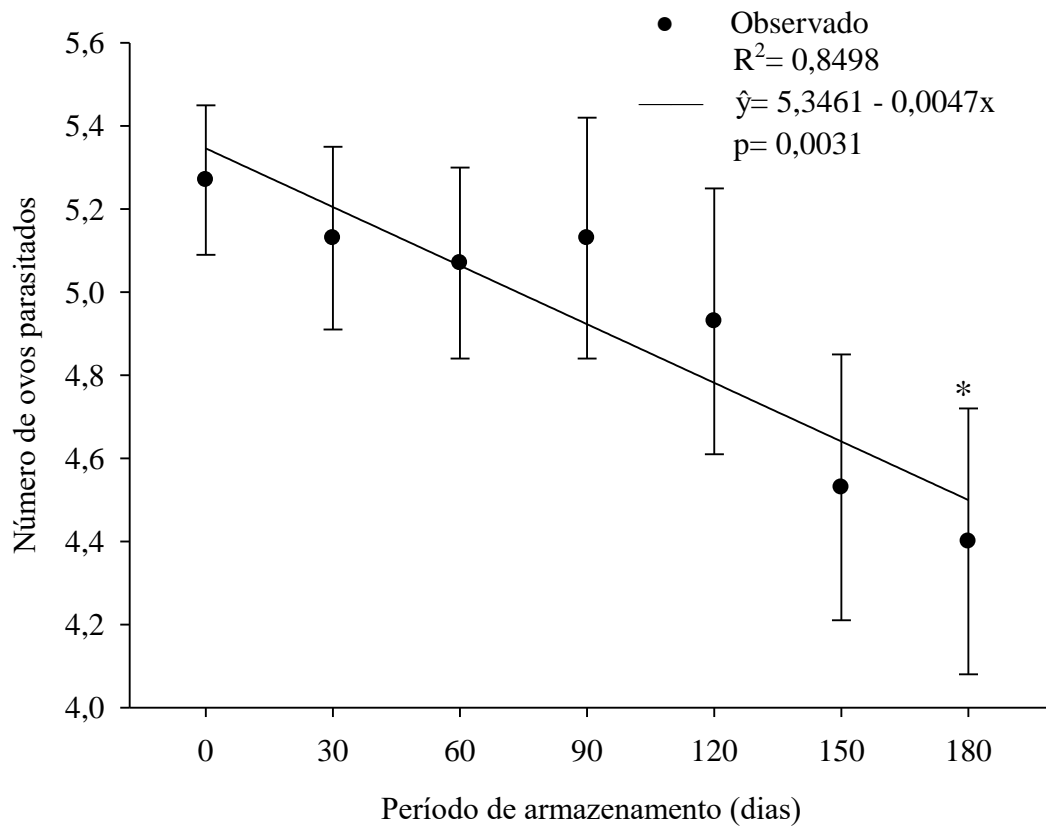


Figura 3. Número médio de ovos de *Euschistus heros* (Hemiptera: Pentatomidae) parasitados por fêmea de *Ooencyrtus submetallicus* (Hymenoptera: Encyrtidae) durante 24 horas em função do período de armazenamento de ovos em nitrogênio líquido à $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$. Temperatura de $25 \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$, umidade relativa de $70 \pm 10\%$ e fotofase de 12 horas. Dourados-MS, UFGD, 2019.

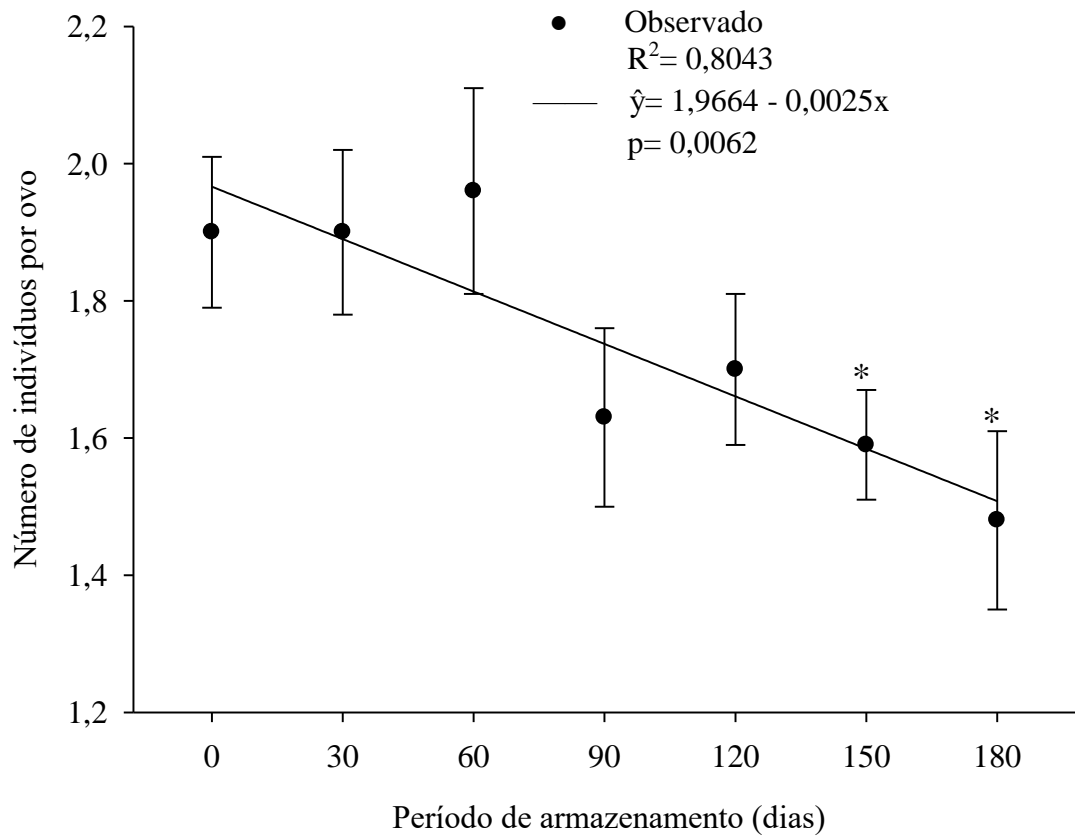


Figura 4. Número médio de indivíduos de *Ooencyrtus submetallicus* (Hymenoptera: Encyrtidae) por ovo de *Euschistus heros* (Hemiptera: Pentatomidae) em função de diferentes períodos de armazenamento de ovos em nitrogênio líquido à $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$. Temperatura $25 \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$, umidade relativa de $70 \pm 10\%$ e fotofase de 12 horas. Dourados–MS, UFGD, 2019.

Tabela 1. Médias (\pm erro padrão) do comprimento da tíbia posterior (mm), duração do ciclo de vida (dias), longevidade (dias) e razão sexual [$\Sigma \text{♀} / \Sigma (\text{♀} + \text{♂})$] de adultos de *Ooencyrtus submetallicus* (Hymenoptera: Encyrtidae) submetidos a ovos de *Euschistus heros* (Hemiptera: Pentatomidae) armazenados por diferentes períodos em nitrogênio líquido à $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$. Temperatura $25 \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$, umidade relativa de $70 \pm 10\%$ e fotofase de 12 horas. Dourados–MS, UFGD, 2019.

Períodos (dias)	Comprimento da Tibia (mm)¹	Ciclo de vida (dias)¹	Longevidade (dias)¹	Razão Sexual [$\Sigma \text{♀} / \Sigma (\text{♀} + \text{♂})$]¹
0	0,32 \pm 0,01	19 \pm 0,00	12,20 \pm 0,28	1,00 \pm 00,00
30	0,32 \pm 0,01	19 \pm 0,00	12,40 \pm 0,45	1,00 \pm 00,00
60	0,31 \pm 0,01	19 \pm 0,00	13,00 \pm 0,45	1,00 \pm 00,00
90	0,33 \pm 0,02	19 \pm 0,00	12,00 \pm 0,38	1,00 \pm 00,00
120	0,30 \pm 0,01	19 \pm 0,00	12,47 \pm 0,32	1,00 \pm 00,00
150	0,31 \pm 0,01	19 \pm 0,00	11,93 \pm 0,27	1,00 \pm 00,00
180	0,33 \pm 0,01	19 \pm 0,00	11,87 \pm 0,24	1,00 \pm 00,00
Média geral	0,31 \pm 0,01	19 \pm 0,00	12,26 \pm 0,34	1,00 \pm 00,00
CV (%)	3,50	00,00	3,23	00,00

¹ Não significativo a análise de regressão ($P > 0,05$);
CV – Coeficiente de variação.

CAPÍTULO III – Seletividade de inseticidas a *Ooencyrtus submetallicus* (Hymenoptera: Encyrtidae) em condições de laboratório ampliado

Autor: Willian Yoshio Sanomia
Orientador: Dr. Fabricio Fagundes Pereira

Resumo: O teste de seletividade é uma importante ferramenta para determinar a seletividade de inseticidas em questão e os utilizar de forma mais adequada em programas de controle biológico, sem afetar outros organismos. O objetivo deste estudo foi avaliar os efeitos dos principais inseticidas aplicados na cultura da soja utilizando-se a metodologia padrão de testes da IOBC adaptada. Os inseticidas testados foram: metomil, lambda-cialotrina + tiametoxan, beta-ciflutrina + imidacloprid, novaluron e teflubenzuron nas maiores concentrações conforme a recomendação do fabricante e a testemunha foi composta somente de água. Os inseticidas passaram a ser classificados de acordo com sua seletividade com base nas metodologias proposta pela IOBC adotando o Sistema ASPECLE. Conforme o grupo químico que os inseticidas pertencem, afetaram as características biológicas de *Ooencyrtus submetallicus* (Hymenoptera: Encyrtidae) com maior ou menor toxicidade. As características afetadas foram número de ovos parasitados, parasitismo, emergência, mortalidade e redução de parasitismo, sendo a razão sexual ($1,00 \pm 0,00$) a característica não afetada pela aplicação de inseticidas. Assim, metomil e lambda-cialotrina + tiametoxan foram classificados classe 4 (nocivo), beta-ciflutrina + imidacloprid classe 3 (moderadamente prejudicial), e novaluron e teflubenzuron classe 1 (inócuo). Os produtos classificados como classe 3 (moderadamente prejudicial) e classe 4 (nocivo) devem, na medida do possível, ser substituídos por outros inseticidas mais seletivos aos inimigos naturais.

Palavras-chave: pesticida; parasitoide de ovos; percevejo-marrom-da-soja; mortalidade; Sistema ASPECLE.

CHAPTER III - Selectivity of insecticides to *Ooencyrtus submetallicus* (Hymenoptera: Encyrtidae) under extended laboratory conditions

Author: Willian Yoshio Sanomia
Advisor: Dr. Fabricio Fagundes Pereira

Abstract: The selectivity test is an important tool to determine the selectivity of insecticides in question and to use them more appropriately in biological control programs, without prejudice to other organisms. The objective of this study was to evaluate the effects of the main insecticides in the soybean crop using the standard methodology of IOBC adapted tests. The insecticides tested were: methomyl, lambda-cyhalothrin + thiamethoxan, beta-cyfluthrin + imidacloprid, novaluron and teflubenzuron in the highest concentrations according to the manufacturer's recommendation and the control was composed only of water. The insecticides began to be classified according to their selectivity based on the methodologies proposed by IOBC adopting the ASPECLE System. According to the chemical group that the insecticides belong to, they affected the biological characteristics of *Ooencyrtus submetallicus* (Hymenoptera: Encyrtidae) with higher toxicity or lower toxicity. The affected characteristics were number of parasitized eggs, parasitism, emergence, mortality and parasitism reduction, with the sexual ratio (1.00 ± 00.00) being the characteristic not affected by the application of insecticides. Thus, methomyl and lambda-cyhalothrin + Tiametoxan were considered (class 4 - harmful), beta-cyfluthrin + imidacloprid (class 3 - moderately harmful), Novaluron and Teflubenzuron were (class 1 - innocuous). Products classified as (class 3 - moderately harmful) and (class 4 - harmful) should, as far as possible, be replaced by other insecticides more selective to natural enemies.

Key words: pesticide; egg parasitoid; Neotropical brown stink bug, mortality; ASPECLE system.

Introdução

Ooencyrtus submetallicus (Howard, 1897) (Hymenoptera: Encyrtidae) é um endoparasitoide, que se reproduz através de partenogênese telítoca em ovos de seus hospedeiros (WILSON e WOOLCOCK, 1960) originando indivíduos fêmeas diploides que são derivadas de ovos não fertilizados (STOUTHAMER, 1997; ESPINOSA et al., 2017), pois não dependem do acasalamento com os indivíduos machos (MONTI et al., 2016). Este inseto parasita ovos de pentatomídeos como *Nezara viridula* (Linnaeus, 1758) (WILSON e WOOLCOCK, 1960) *Euschistus heros* (Fabricius, 1794), *Chinavia pengue* (Rolston, 1983) (FERREIRA, 2016), *Piezodorus guildinii* (Westwood, 1837) (CORRÊA-FERREIRA e MOSCARDI, 1995), *Edessa meditabunda* (Fabricius, 1974) (GOLIN et al., 2011) e bem como Lepidoptera, *Erinnyis ello* (Linnaeus, 1758) (Lepidoptera: Sphingidae) (SILVA, 2017) podendo ser amplamente utilizado em programas de controle biológico.

Euschistus heros é atualmente a principal espécie dentre os percevejos fitófagos que ocasionam danos relevantes na cultura da soja [*Glycine max* (L.) Merrill Fabales: Fabaceae] (PANIZZI e LUCINI 2016; TUELHER et al., 2018). O aumento populacional de *E. heros* está relacionado com sua resistência a diversos inseticidas sintéticos, tornando difícil o seu controle (SOSA-GOMEZ e SILVA 2010; SALUSO et al., 2011; BUENO et al., 2015) devido a falha e excesso de aplicações no controle deste inseto-praga (PANIZZI, 2013; GUEDES, 2017).

Para um manejo sustentável da cultura, é necessário adotar estratégias para o controle de pragas no contexto do manejo integrado de pragas (MIP) (BUENO et al., 2015). Uma alternativa para o controle de *E. heros*, é a utilização dos parasitoides de ovos que são importantes agentes de controle biológico na cultura da soja (PACHECO e CORRÊA-FERREIRA, 2000). Portanto, é preciso estudar os efeitos letais e subletais que os produtos fitossanitários podem ocasionar ao parasitoide *O. submetallicus*, um agente com potencial dentro do controle biológico de insetos-praga, que ainda, não possui relatos de seletividade a inseticidas, na literatura.

O termo Pesticida é definido como qualquer substância ou mistura de substâncias com capacidade de prevenir, destruir, repelir ou desestabilizar qualquer praga (FAO, 2014). Os pesticidas podem ser classificados de acordo com o tipo de praga – algicidas, fungicidas, herbicidas, inseticidas, acaricidas, moluscidas, nematocidas e ovicidas, podendo ser incluídos substâncias desfolhantes, dessecantes ou reguladoras do crescimento de insetos e plantas (EPA, 2019).

Em 1974, a “*International Organisation for Biological and Integrated Control (IOBC), West Palearctic Regional Section (WPRS)*” criaram o “*Working Group Pesticides and Beneficial Organisms*” tendo em vista, reduzir a maioria dos problemas com relação à divergência das diversas metodologias de testes de seletividade (BUENO et al., 2017), e assim, buscar padronizar métodos experimentais para realizar os testes de seletividade, e classificar os inseticidas em função de seu risco aos inimigos naturais (HASSAN, 1992; HASSAN, 1997; STERK et al., 1999).

Os bioensaios laboratoriais de inseticidas e seus efeitos aos inimigos naturais é parte integrante do processo para se registrar um produto fitossanitário na Europa (DESNEUX et al., 2007). Os testes iniciais de inseticidas são conduzidos em laboratório e, dependendo dos resultados obtidos, as etapas seguintes são realizadas em testes de semi-campo ou campo (HASSAN, 1992; VOGT et al., 2000). Estes estudos servem também para classificar a seletividade do inseticida testado sobre a espécie de inimigo natural em estudo e utilizar produtos mais seletivos com relação a preservação do controle biológico (MILLS et al., 2016). Além de causar a mortalidade direta dos inimigos naturais, a exposição a um inseticida pode afetar as características fisiológicas (por exemplo, desenvolvimento, fecundidade, longevidade e razão sexual) e comportamentais (por exemplo, mobilidade, orientação, hospedagem e oviposição) (SABER e ABEDI, 2013).

Este estudo levantou como hipótese que os inseticidas novaluron, teflubenzuron, beta-ciflutrina + imidacloprid, lambda-cialotrina + tiametoxan e metomil são seletivos aos adultos de *O. submetallicus*.

Neste trabalho objetivou-se estudar os efeitos dos principais inseticidas utilizados na cultura da soja sobre adultos de *O. submetallicus* em condições de laboratório ampliado, utilizando-se da metodologia padrão de testes da IOBC adaptada, para estudos de seletividade no Brasil.

Material e Métodos

O experimento foi conduzido no Laboratório de Controle Biológico de Insetos (LECOBIOL) da Faculdade de Ciências Biológicas e Ambientais (FCBA) e na casa de vegetação da Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD), Dourados, Mato Grosso do Sul, Brasil.

Etapa I - Criação de insetos utilizados nos experimentos.

***Ooencyrtus submetallicus* (Hymenoptera: Encyrtidae)**

Adultos de *O. submetallicus* foram obtidos da criação estoque do LECOBIO, e para o estabelecimento da criação foi utilizado a metodologia proposta por Faca (2017). A criação foi mantida em câmara climatizada com temperatura de 25 ± 2 °C, $70 \pm 10\%$ umidade relativa do ar e fotofase de 12 horas. A espécie de parasitoide foi coletada por um dos ex-membro do grupo de pesquisa do LECOBIO, Dr. Antonio de Souza Silva, em ovos de *E. meditabunda* encontradas em folhas de plantas de tomate *Solanum lycopersicum* (Linnaeus, 1753) (Solanales: Solanaceae) localizadas próximo ao cultivo de soja, na região da Grande Dourados, Mato Grosso do Sul, Brasil. A identificação foi realizada pelo especialista Dr. Valmir Antonio Costa do Instituto Biológico de São Paulo, SP, Brasil. Espécimes vouchers do parasitoide foram depositadas na coleção permanente da Coleção de Insetos Entomófagos “Oscar Monte”, do Instituto Biológico, depositado em via úmida sob número IB-CBE-569-2.

***Euschistus heros* (Hemiptera: Pentatomidae)**

A colônia de *E. heros* foi estabelecida a partir de indivíduos provenientes das coletas em lavouras de soja, no município de Fátima do Sul-MS. Para a criação foi adotada a metodologia proposta por Silva et al. (2008). A dieta natural era a base de sementes de soja *G. max*, sementes de girassol *Helianthus annuus* (Linnaeus, 1753) (Asterales: Asteraceae) e amendoim descascado cru *Arachis hypogaea* (Linnaeus, 1753) (Fabales: Fabaceae), vagens frescas de feijão verde *Phaseolus vulgaris* (Linnaeus, 1753) (Fabales: Fabaceae), e algodão umedecido em água. As gaiolas de criação (20 x 15 x 20 cm) foram mantidas em uma sala climatizada a 25 ± 2 °C, $70 \pm 10\%$ de UR e fotofase de 14 horas. A espécie de percevejo foi identificada pela especialista Dra. Jocélia Grazia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS) taxonomista de espécies pentatomídeos neotropicais.

Etapa II – Sistema de Avaliação da Seletividade de Pesticidas em Condições de Laboratório Estendido (ASPECLE)

Este sistema adaptado do modelo padrão da IOBC, foi desenvolvido com o objetivo de realizar testes de seletividade em condições de laboratório e laboratório ampliado por Miranda (2010) e determinar a inocuidade dos inseticidas em condições de laboratório e laboratório ampliado, sobre os inimigos naturais em estudo.

Sistema de ventilação

Para a eliminação de gases no interior das gaiolas foi desenvolvido um sistema de ventilação, constituído por:

- Uma bomba de vácuo aspirador/compressor (Mod 089/Cal, Fanem[®], São Paulo, SP, Brasil), cuja função era aspirar os gases tóxicos dentro da gaiola.
- Um tubo central (Polipropileno Copolímero Random – PPR, Amanco[®], São Paulo, SP, Brasil) de 2,20 cm de diâmetro, responsável por distribuir a aspiração da bomba de vácuo entre as gaiolas.
- Uma mangueira de 1,00 cm de diâmetro x 100 cm de comprimento, utilizada para conectar a bomba de vácuo ao tubo central.
- Várias mangueiras de 0,50 cm de diâmetro x 13 cm comprimento, responsáveis por conectar as gaiolas ao tubo central.

Uma das extremidades do tubo de Polipropileno Copolímero Random foi vedada e a outra recebeu uma conexão pneumática com rosca BSP (1/8” modelo RPC08G01, RubberPlastic[®], Cajamar, SP, Brasil) para conectar a mangueira de 1,00 cm de diâmetro ao bico aspirador de ar da bomba de vácuo. Também foram feitas perfurações laterais espelhadas a cada 10 cm de distância, o que possibilitou a conexão das gaiolas nos dois lados do tubo. Essas perfurações também receberam conexões pneumáticas, utilizado para facilitar a conexão e desconexão das mangueiras de 0,50 cm de diâmetro ao tubo central.

Gaiolas de seletividade

As gaiolas foram constituídas de um cilindro de vidro (Borosilicato, Laborglas[®], São Paulo, SP, Brasil) de 25 cm de comprimento x 3,50 cm de diâmetro, totalizando 24 gaiolas adaptadas de modelos propostos pela IOBC para este sistema. Foram alocadas duas rolhas de isopor para vedar as extremidades do cilindro, uma delas contendo perfuração central de aproximadamente 0,50 cm de diâmetro para ligar a mangueira do sistema de ventilação e possibilitar a troca de gases. As rolhas de isopor foram revestidas com plástico preto para evitar que os parasitoides ficassem nas proximidades do isopor atraídas pela cor branca.

Cilindros a base de papel cartão (verde) de 8,00 cm de comprimento x 3,60 cm de diâmetro foram confeccionados e sobrepostos nas extremidades da gaiola, fazendo com que

houvesse sombra em seu interior e o parasitoide permanecesse no centro da gaiola, local onde foi depositado a cartela de ovos do hospedeiro e onde percorre luminosidade, e então os parasitoides são atraídos pela luz.

Etapa III – Substrato, Inseticidas e Pulverização

Substrato

Sementes de soja, cultivar BRS 284 - *Glycine max* (L.) Merr., foram semeadas em vasos plásticos com capacidade de 7 L, contendo uma mistura de areia terra e substrato (1:1:1) Após a emergência das plântulas, foram realizados desbastes, deixando apenas duas plantas de soja, as quais foram cultivadas em casa de vegetação da UFGD, em condições ambientais com sistema de irrigação automática e isentas da aplicação de produtos fitossanitários. As folhas, foram utilizadas como substratos para serem introduzidas no interior das gaiolas de seletividade.

Inseticidas avaliados

Os inseticidas foram selecionados devido à sua eficiência no controle de lepidópteras-praga e percevejos fitófagos, sendo estas registrados em AGROFIT (2018) para a cultura da soja no Brasil (Tabela 1). Sendo, portanto, o Bazuka[®] 216 SL (metomil), pertence ao grupo químico dos carbamatos, e seu modo de ação ocorre por contato e ingestão, atua como inibidor da enzima acetilcolinesterase. Este inseticida, foi utilizado como padrão de toxicidade sendo a testemunha positiva, devido sua propriedade química de ser extremamente tóxico e pouco seletivo a insetos-praga e parasitoides. As substâncias testes foram Engeo Pleno[®] (lambda-cialotrina + tiametoxan), Connect[®] (beta-ciflutrina + imidacloprid), Rimon[®] 100 EC (novaluron), Nomolt[®] (teflubenzuron) e a água foi utilizada como testemunha negativa.

Pulverização dos inseticidas

O pulverizador de compressão prévia (Guarany[®], Itu, SP, Brasil) com capacidade de 1,20 L, calibrado a uma pressão de 3,00 bar, considerando-se um volume de calda de 100 L ha⁻¹, foi utilizado para pulverizar as cartelas de ovos e as plantas de soja na dose máxima de cada inseticida recomendada para a cultura pelo fabricante (Tabela 1), sendo pulverizado com uma distância de 20 cm, até atingir o ponto de escorrimento para que a calda cobrisse ambas as superfícies das folhas.

As folhas coletadas se encontravam no início do florescimento da soja, denominado estágio R1, quando apresenta uma flor em qualquer nó do caule (FEHR e CAVINESS, 1977), pois, nesse período as plantas possuíam um maior índice de área foliar, possibilitando uma melhor cobertura da superfície interna da gaiola. As folhas foram acondicionadas em bandejas etiquetadas por duas horas para secarem em um local fresco e serem introduzidas nas gaiolas de seletividade.

As cartelas azul-celeste (3,00 cm x 3,00 cm), contendo 30 ovos de *E. heros*, colados com goma arábica (20% de água), foram pulverizadas com os inseticidas ou água, e posteriormente, acondicionados em placas Petri, e identificadas, para secarem em um local fresco e serem introduzidas nas gaiolas de seletividade.

Etapa IV – Desenvolvimento experimental

Para o bioensaio de seletividade com adultos de *O. submetallicus*, foram utilizados: fêmeas do parasitoide com 120-144 horas de idade (FACA, 2017); ovos de *E. heros* coletados diariamente e armazenados em container de nitrogênio líquido até 60 dias em temperatura de -196 °C; cartelas azul-celeste (3,00 cm x 3,00 cm), contendo 30 ovos de *E. heros*; e folhas de soja. A pulverização com inseticidas ou água foi realizada nas cartelas contendo ovos e nas folhas de soja, e, posteriormente, foram introduzidas nas gaiolas de seletividade do sistema ASPECLE, juntamente com 5 fêmeas de *O. submetallicus* na densidade de 1:6 (parasitoide: hospedeiros), com o auxílio de tubos de vidro (1 cm de diâmetro x 10 cm de comprimento). O bioensaio foi desenvolvido em uma sala climatizada com temperatura de 25 ± 2 °C, umidade relativa do ar de $70 \pm 10\%$ e fotofase de 14 horas. As gaiolas foram desconectadas após 24 horas e as cartelas contendo os ovos parasitados foram acondicionadas em placas de Petri e mantidas em sala climatizada até que ocorresse a emergência total dos adultos, nas mesmas condições do experimento.

Condução dos bioensaios

O bioensaio foi conduzido seguindo-se as normas propostas pela IOBC/WPRS, em condições de laboratório ampliado, o qual, permite executar os testes de seletividade em laboratório, simulando as condições de semi-campo (STERK et al., 1999), expondo o adulto de *O. submetallicus* aos resíduos de inseticidas.

Avaliações

As características biológicas avaliadas foram: número de ovos parasitados identificado por meio da coloração escura dos ovos; porcentagem de parasitismo (número de ovos escuros/número total de ovos) x 100; porcentagem de emergência (número de ovos com orifício/número de ovos escuros) x 100; e razão sexual [$\Sigma \text{♀} / \Sigma (\text{♀} + \text{♂})$].

Mortalidade

O número de parasitoides mortos/repetição foi verificado após 24 horas de exposição dos parasitoides aos resíduos dos inseticidas, contando-se o número de indivíduos vivos e mortos em cada unidade experimental. Os indivíduos que não apresentaram reação ao ser tocado por uma agulha entomológica foram considerados mortos. A porcentagem de mortalidade foi corrigida de acordo com a fórmula de Abbott (1925):

$$Mc\% = \frac{(\text{Testemunha} - \text{Tratamento})}{100 - \text{Testemunha}} * 100$$

Em que:

Mc% = Mortalidade corrigida

Testemunha = Porcentagem de mortalidade da testemunha

Tratamento = Porcentagem de mortalidade de tratamento

Redução no Parasitismo

A redução na capacidade de parasitismo das fêmeas que foram submetidas aos inseticidas foi calculada por meio da seguinte fórmula em relação à testemunha (água), conforme Rocha e Carvalho (2004):

$$R = \left[1 - \left(\frac{P}{p} \right) \right] * 100$$

Em que:

R= porcentagem de redução da capacidade de parasitismo

P= valor do parasitismo médio para cada produto

p= parasitismo médio observado para o tratamento testemunha

Análises estatísticas

O delineamento utilizado para o bioensaio de seletividade foi inteiramente casualizado (DIC) com 6 tratamentos e 12 repetições. Cada repetição foi constituída por uma gaiola de exposição contendo folhas de soja, uma cartela com 30 ovos de *E. heros*, e cinco fêmeas do parasitoide. O bioensaio foi realizado em três etapas, sendo realizadas 4 repetições/tratamento, totalizando 24 repetições em cada uma das etapas. Os resultados obtidos foram corrigidos para a porcentagem de mortalidade Abbott (1925) e a porcentagem de redução no parasitismo (ROCHA e CARVALHO, 2004). Os dados referentes ao número de ovos parasitados, parasitismo, emergência, e razão sexual foram submetidos ao teste de normalidade de Shapiro-Wilk (SHAPIRO e WILK, 1965), e posteriormente à análise de variância (ANOVA). As médias foram comparadas pelo teste de Tukey a ($P \leq 0,05$) utilizando-se o software estatístico SASM-AGRI (CANTERI et al., 2001). Em função das porcentagens da redução do parasitismo, os inseticidas testados, passaram a ser classificados, de acordo com as normas padronizadas pela IOBC em condições de laboratório ampliado em: classe 1, inócuo (<25%); classe 2, ligeiramente prejudicial (25-50%); classe 3, moderadamente prejudicial (51-75%); e classe 4, nocivo (> 75%) (STERK et al., 1999).

Resultados

O número de ovos parasitados de *E. heros* por *O. submetallicus* foi afetado pelos inseticidas metomil, lambda-cialotrina + tiametoxan, e beta-ciflutrina + imidacloprid, reduzindo o número de ovos parasitados (Tabela 2), quando comparados à testemunha, e aos inseticidas novaluron e teflubenzuron, obtiveram resultados similares.

O parasitismo foi afetado pelos inseticidas metomil, lambda-cialotrina + tiametoxan, e beta-ciflutrina + imidacloprid, reduzindo seu parasitismo, enquanto que, novaluron e teflubenzuron apresentaram inocuidade, sendo semelhante a testemunha (Tabela 2).

A emergência dos parasitoides foi afetada por metomil, lambda-cialotrina + tiametoxan e beta-ciflutrina + imidacloprid, enquanto os inseticidas novaluron e teflubenzuron não afetaram a emergência de *O. submetallicus* quando comparados com a testemunha (Tabela 2). A razão sexual desta espécie de parasitoide também não foi afetada em função dos inseticidas testados (Tabela 2).

A maior porcentagem de mortalidade foi ocasionada por metomil seguido por lambda-cialotrina + tiametoxan e beta-ciflutrina + imidacloprid, enquanto, novaluron e teflubenzuron

apresentaram inocuidade semelhante a testemunha (Tabela 3). A redução do parasitismo de fêmeas de *O. submetallicus* que entraram em contato com as superfícies tratadas foram afetadas por todos os produtos avaliados. Metomil, lambda-cialotrina + tiametoxan foram classificadas como classe 4, nocivo, causando mortalidade e reduzindo o parasitismo, e beta-ciflutrina + imidacloprid classe 3, moderadamente prejudicial, enquanto novaluron e teflubenzuron foram classe 1, inócuo aos parasitoides (Tabela 3).

Discussão

O número de ovos parasitados foi afetado principalmente pelo inseticida metomil que pertence ao grupo químico dos Carbamatos (Tabela 2). Rocha e Carvalho (2004) verificaram em seu estudo que o inseticida pirimicarbe do grupo químico dos Carbamatos apresentou uma toxicidade intermediária sobre *Trichogramma pretiosum* (Riley, 1879) (Hymenoptera: Trichogrammatidae). Turchen et al. (2015) verificaram que lambda-cialotrina + tiametoxan (piretroide + neonicotinoide), afetaram negativamente o número de ovos parasitados de *Telenomus podisi* (Ashmead, 1893) (Hymenoptera: Platygasteridae). Os piretroides agem no sistema nervoso afetando seu funcionamento, onde seu modo de ação é a interferência com os canais iônicos no axônio nervoso (CLARK e BROOKS, 1998) levando a uma abertura prolongada nos canais de sódio (BLOOMQUIST, 1996). Os neonicotinoides são inseticidas considerados como neurotóxicos altamente seletivos para insetos, atua inibindo os receptores de acetilcolina do tipo nicotínico (nAChRs), nas sinapses do sistema nervoso central do inseto, e leva a produção de efeitos neurológicos letais e subletais (TOMIZAWA e CASIDA, 2005; CASIDA e DURKIN, 2013). Por outro lado, os inseticidas lufenuron e triflumuron, tiveram ação de toxicidade similar de pirimicarbe (ROCHA e CARVALHO, 2004). Neste estudo, os inseticidas com ação seletiva a inimigos naturais, novaluron e teflubenzuron, tiveram resultados similares ao da testemunha (Tabela 2).

Os inseticidas de ação não seletiva são responsáveis por causarem a mortalidade de diversos inimigos naturais. A utilização de inseticidas de ação não seletiva, reduziu a porcentagem de parasitismo (beta-ciflutrina + imidacloprid) e o uso de organofosforados (acefato e clorpirifos) causou redução a 00,00%, (CARMO et al., 2010).

A inocuidade dos inseticidas teflubenzuron, triflumuron, tebufenozide, novaluron e metoxifenozida foi observada por Stecca et al. (2018) que demonstraram que o parasitismo de *T. podisi* em ovos de *E. heros* foi semelhante ao da testemunha, corroborando os resultados obtidos neste estudo com novaluron e teflubenzuron (Tabela 2). Os inseticidas do grupo

químico Benzoilfenilureia são considerados reguladores de crescimento do inseto, e especificamente atingem seus insetos alvo (PAZINI et al., 2016). Estes inseticidas atuam sobre o exoesqueleto (SPARKS e NAUEN, 2015), inibindo a síntese de quitina (STECCA et al., 2018), principalmente em estágios imaturos durante o processo de muda dos insetos, e, dessa forma, raramente atingem os parasitoides adultos (BASTOS et al., 2006). Diflubenzuron, flufenoxuron e metoxifenoazida foram considerados inócuos por apresentarem resultados similares ao da testemunha quando aplicados em ovos de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) para o parasitismo de *Telenomus remus* (Nixon, 1937) (Hymenoptera: Scelionidae) (CARMO et al., 2010). Os inseticidas com ação seletiva podem contribuir para a sobrevivência de *O. submetallicus*, além de outros inimigos naturais, os quais, podem realizar a regulação populacional de pragas-chave. Isto pode resultar em um manejo mais sustentável e preservar o agroecossistema.

A emergência dos parasitoides foi afetada por metomil (Tabela 2), pois este inseticida neurotóxico pulverizado nas folhas de soja e ovos de *E. heros*, entrou em contato direto com os parasitoides, levando à morte imediata e impedindo que ocorresse o parasitismo do hospedeiro. Feltrin-Campos et al. (2018) avaliaram a ação dos inseticidas lambda-cialotrina + tiametoxan em *T. podisi*, que causaram ao parasitoide, baixa porcentagem de emergência, 10,25%, sendo inferior quando comparada com o resultado deste estudo. Quando aqueles autores testaram acefato que pertence ao grupo químico dos Organofosforados, e possuem o mesmo sítio de ação que os Carbamatos (IRAC, 2018), apresentou 82,40% de emergência, porém neste estudo o metomil acabou causando baixa emergência dos indivíduos. Pazini et al. (2017) observaram que utilizando a mistura de piretroide + carbamato (bifentrina + carbosulfan), não houve emergência de *T. podisi*. Os efeitos ocasionados por meio de inseticidas neurotóxicos são esperados devido ao seu modo de ação sobre os insetos. Em alguns estudos inseticidas neurotóxicos foram nocivos aos parasitoides, reduzindo sua taxa de emergência, devido a ação sinérgica de inseticidas com misturas piretroides + neonicotinoides (TURCHEN et al., 2015), mas em algumas espécies estes mesmos inseticidas testados tiveram uma ação menos nociva, permitindo a emergência dos parasitoides. O conhecimento sobre a ação de cada inseticida neurotóxico, para cada espécie de inimigo natural, é fundamental para posterior implementação em programas de controle biológico.

A ação seletiva dos inseticidas seletivos diflubenzuron e flufenoxuron foi verificada por Carmo et al. (2010) que constataram emergência de 83,60 e 62,30%, respectivamente, e neste estudo, utilizando inseticidas seletivos, foi obtido porcentagem de emergência superior a 90%.

A utilização destes inseticidas, na medida do possível, é fundamental para preservar os inimigos naturais.

A razão sexual dos indivíduos de *O. submetallicus* não foi afetada pela aplicação dos inseticidas em ovos de *E. heros* (Tabela 2). Bayram et al. (2010) observaram que os piretroides (ciflutrina e deltametrina) não afetaram a razão sexual em *Telenomus busseolae* (Gahan, 1922) (Hymenoptera: Scelionidae) à semelhança do observado neste trabalho. Rocha e Carvalho (2004) verificaram que quando testaram lufenurom, abamectina, acefato e esfenvalerato em *T. pretiosum*, sua razão sexual foi reduzida em relação a testemunha. Contudo, o principal fator que afeta a razão sexual desta espécie são as condições de temperatura, considerando-se como temperatura crítica 85 °F (29,44 °C) (WILSON e WOOLCOCK, 1960). Além disso, a característica biológica desta espécie, permite a utilização de produtos seletivos sem que altere sua razão sexual, independente da classe de toxicidade do inseticida aplicado.

Os inseticidas que pertencem ao grupo químico dos organofosforados e carbamatos podem causar alta e rápida mortalidade (TURCHEN et al., 2015), e geralmente são considerados compostos de amplo espectro e, portanto, apresentam baixa seletividade a inimigos naturais (FUKUTO, 1990; HEMINGWAY et al., 1993). O grupo químico dos carbamatos, possuem como modo de ação a inibição da enzima acetilcolinesterase (AChE) nas terminações nervosas (UMINA et al., 2012). A toxicidade exercida por esses dois grupos químicos está relacionada com suas baixas massas moleculares (BACCI et al., 2007), que possibilita fácil penetração na cutícula do inseto (STOCK e HOLLOWAY, 1993). Resultados sobre aplicação de inseticidas organofosforados (clorpirifos, fenitrothion, phoxim, profenofos e triazofos) e carbamatos (carbosulfano, carbaril, isoprocarb, metolcarb e promecarb) foram obtidos por Wang et al. (2012), onde estes produtos foram responsáveis por causar as maiores porcentagens de mortalidade em adultos de *Trichogramma nubilale* (Ertle & Davis, 1975) (Hymenoptera: Trichogrammatidae). De forma contrária, produtos do grupo químicos das benzoilfenilureias (chlorfluazuron, fufenozide, hexaflumuron e tebufenozide) causaram as menores porcentagens de mortalidade ao parasitoide, corroborando os resultados obtidos com os mesmos grupos químicos utilizados neste estudo. Comparados ao metomil, os inseticidas lambda-cialotrina + tiametoxan e beta-ciflutrina + Imidacloprid, causaram mortalidade similar ao parasitoide. A ação do metomil foi verificada por Ramos et al. (2018) que observaram alta taxa de mortalidade (100%) de *Copidosoma truncatellum* (Dalman, 1820) (Hymenoptera: Encyrtidae) quando expostos a nove inseticidas, sendo metomil, considerado um ingrediente

ativo com propriedades não seletivas aos inimigos naturais que também afeta o comportamento das vespas parasitoides.

A redução no parasitismo de fêmeas de *O. submetallicus* que entraram em contato com superfícies tratadas foi registrada para todos os inseticidas. Os inseticidas neurotóxicos imidacloprid + beta-ciflutrina e lambda-cialotrina + tiametoxam, passaram a ser classificados pelos padrões da IOBC, de acordo com a redução no parasitismo, aos parasitoides de ovos, *T. podisi* e *T. basallis* (ZANTEDESCHI et al., 2018). Para *T. podisi*, os inseticidas foram classificados como classe 2, levemente nocivo, e a *T. basallis* classe 3, moderadamente prejudicial. Pazini et al. (2016) observaram redução de 100% do parasitismo quando pulverizou lambda-cialotrina + tiametoxam em adultos de *T. podisi* e *T. pretiosum*, portanto, devem ser evitados estes inseticidas em programas de manejo integrado de pragas.

Os inseticidas diflubenzuron e lufenuron foram descritos como, classe 1, inócuo, para *T. podisi* e *T. basallis* (ZANTEDESCHI et al., 2018), e flufenoxuron e metoxifenoazida foram inócuos para *T. remus* (CARMO et al., 2010), estes inseticidas, podem de fato ser recomendados para os programas de controle biológico.

Este é o primeiro estudo a determinar, em condições de laboratório ampliado, inseticidas que possuem ação seletiva ao parasitoide de ovos *O. submetallicus*. No entanto, é indispensável realizar os testes em condições de campo, porque os inseticidas podem ter menor impacto devido a sua própria degradação, ou até porque, os inimigos naturais se recuam a abrigos e evitam locais com aplicações. Com este conhecimento, pode-se realizar programas de controle biológico sem que comprometa a atividade deste parasitoide em controlar as populações de insetos-praga. Além de avaliar a seletividade do inseticida, pode-se determinar como as características biológicas são influenciadas diante de cada inseticida.

Conclusão

Os produtos novaluron e teflubenzuron foram classificados como classe 1, inócuo; beta-ciflutrina + imidacloprid classe 3, moderadamente prejudicial; e lambda-cialotrina + tiametoxam e metomil classe 4 - nocivo, em condições de laboratório ampliado. Os inseticidas classificados na classe 1, inócuo, podem ser, futuramente, associados com programas de controle biológico, na medida em que houver necessidade, pois não oferecem riscos a *O. submetallicus*. Os demais inseticidas classificados na classe 3, moderadamente prejudicial e classe 4, nocivo, devem ser testados nas próximas etapas para determinar a sua inocuidade.

Referências Bibliográficas

- ABBOTT, W. S. A method of computing the effectiveness of an insecticide. **Journal of Economic Entomology**, v. 18, p. 265-266, 1925.
- AGROFIT. **Sistema de agrotóxicos fitossanitários**. Disponível em: http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons. Acessado: 12 mar 2018.
- BACCI, L.; CRESPO, A. L. B.; GALVAN, T. L.; PEREIRA, E. J. G.; PICANÇO, M. C.; SILVA, G. A.; CHEDIAK, M. Toxicity of insecticides to the sweetpotato whitefly (Hemiptera: Aleyrodidae) and its natural enemies. **Pest Management Science**, v. 63, p. 699-706, 2007.
- BAYRAM, A.; SALERNO, G.; ONOFRI, A.; CONTI, E. Sub-lethal effects of two pyrethroids on biological parameters and behavioral responses to host cues in the egg parasitoid *Telenomus busseolae*. **Biological Control**, v. 53, p. 153-160, 2010.
- BASTOS, C. S.; ALMEIDA, R. P. de; SUINAGA, F. A. Selectivity of pesticides used on cotton (*Gossypium hirsutum*) to *Trichogramma pretiosum* reared on two laboratory-reared hosts. **Pest Management Science**, v. 62, p. 91-98, 2006.
- BLOOMQUIST, J. R. Ion channels as targets for insecticides. **Annual Review of Entomology**, v. 41, p. 163-190, 1996.
- BUENO A. F.; BORTOLOTTI O. C.; POMARI-FERNANDES, A.; FRANÇA-NETO, J. B. Assessment of a more conservative stink bug economic threshold for managing stink bugs in Brazilian soybean production. **Crop Protection**, v.71, p. 132-137, 2015.
- BUENO, A. de F.; CARVALHO, G. A.; SANTOS, A. C. dos; SOSA-GÓMEZ, D. R.; SILVA, D. M. da. Pesticide selectivity to natural enemies: challenges and constraints for research and field recommendation. **Ciência Rural**, v. 47, p. 1-10, 2017.
- CANTERI, M. G.; ALTHAUS, R. A.; FILHO, J. S. das V.; GIGLIOTI, É. A.; GODOY, C. V. SASM-AGRI - Sistema para análise e separação de médias em experimentos agrícolas pelos métodos Scott-Knott, Tukey e Duncan. **Revista Brasileira de Agrocomputação**, v. 1, p. 18-24, 2001.
- CARMO, E. L.; BUENO, A. F.; BUENO, R. C. O. F. Pesticide selectivity for the insect egg parasitoid *Telenomus remus*. **BioControl**, v. 55, p. 455-464, 2010.
- CASIDA, J. E.; DURKIN, K. A. Neuroactive insecticides: targets, selectivity, resistance, and secondary effects. **Annual Review of Entomology**, v. 58, p. 99-117, 2013.
- CLARK, J. M.; BROOKS, G. M. Neurotoxicity of pyrethroids: Single or multiple mechanisms of action. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 8, p. 361-72, 1998.
- CORRÊA-FERREIRA, B. S.; MOSCARDI, F. Seasonal occurrence and host spectrum of egg parasitoids associated with soybean stink bugs. **Biological Control**, v. 5, p. 196-202, 1995.

DESNEUX, N.; DECOURTYE, A.; DELPEUCH, J. M. The sublethal effects of pesticides on beneficial arthropods. **Annual Review of Entomology**, v. 52, p. 81–106, 2007.

EPA. **Basic Information about Pesticide Ingredients**. Disponível em: <https://www.epa.gov/ingredients-used-pesticide-products/basic-information-about-pesticide-ingredients>. Acessado em: 05 jan 2019.

ESPINOSA, M. S.; VIRLA, E. G.; CUOZZO, S. *Wolbachia* Infections Responsible for Thelytoky in Dryinid Wasps. The Case of *Gonatopus bonaerensis* Virla (Hymenoptera: Dryinidae). **Neotropical Entomology**, v. 46, p. 409-413, 2017.

FACA, E. C. **Interações biológicas entre *Trissolcus urichi* (Hymenoptera: Scelionidae) e *Ooencyrtus submetallicus* (Hymenoptera: Encyrtidae) em ovos de *Nezara viridula* e *Chinavia pengue* (Hemiptera: Pentatomidae)**. Dissertação Mestrado, Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados, p. 78, 2017.

FAO. In: The International Code of Conduct on Pesticide Management. **Food and Agriculture Organization of the United Nations and World Health Organization**, Rome, p. 37, 2014.

FEHR, W. R.; CAVINESS, C. E. **Stages of soybean development**. Ames: Iowa State University of Science and Technology, 1977. 11 p. (Special Report 80).

FELTRIN-CAMPOS, E.; FERNANDES, M. G.; MASSON, G. L.; CORRÊA, T. A.; GRIGOLLI, J. F. J. Selectivity of Insecticides Against *Telenomus podisi* Ashmead (Hymenoptera: Platygasteridae) on Corn. **Journal of Agricultural Science**, v. 10, p. 185-191, 2018.

FERREIRA, N. G. P. ***Ooencyrtus submetallicus* (HYMENOPTERA: ENCYRTIDAE): UM POTENCIAL PARASITOIDE DE *Euschistus heros* E *Chinavia pengue* (HEMIPTERA: PENTATOMIDAE)**. Dissertação Mestrado, Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados, p. 76, 2016.

FUKUTO, T. R. Mechanism of action of organophosphorus and carbamate insecticides. **Environmental Health Perspectives**, v. 87, p. 245-254, 1990.

GOLIN, V.; LOIÁCONO, M. S.; MARGARÍA, C. B.; AQUINO, D. A. Natural incidence of egg parasitoids of *Edessa meditabunda* (F.) (Hemiptera: Pentatomidae) on *Crotalaria spectabilis* in Campo Novo do Parecis, MT, Brazil. **Neotropical Entomology**, v. 40, p. 617-618, 2011.

GUEDES, R. N. C. Insecticide resistance, control failure likelihood and the first law of geography. **Pest Management Science**, v. 73, p. 479-484, 2017.

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

HASSAN, S. A. Métodos padronizados para testes de seletividade com ênfase em *Trichogramma*. In: PARRA, J.R.P.; ZUCCHI, R.A. [eds]. ***Trichogramma e o controle biológico aplicado***. Piracicaba: Fealq, Cap. 8, p. 207-233, 1997.

HEMINGWAY, J.; SMALL, G. J.; MONRO, A. G. Possible Mechanisms of Organophosphorus and Carbamate Insecticide Resistance in German Cockroaches (Dictyoptera: Blattellidae) from Different Geographical Areas. **Journal of Economic Entomology**, v. 86, p. 1623-1630, 1993.

IRAC. Insecticide Resistance Action Committee. IRAC MoA Classification Scheme. Version 8.4. Disponível em: <http://www.irc-online.org>. Acessado: 13 out 2018.

MILLS, N. J.; BEERS, E. H.; SHEARER, P. W. UNRUH, T. R.; AMARASEKARE, K. G. Comparative analysis of pesticide effects on natural enemies in western orchards: A synthesis of laboratory bioassay data. **Biological Control**, v. 102, p. 17-25, 2016.

MIRANDA, G. A. S. **Padronização de metodologia para avaliar a seletividade de pesticidas sobre parasitoides de ovos**. Dissertação Mestrado, Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados, p. 42, 2010.

MONTI, M. M.; NUGNES, F.; GUALTIERI, L.; GEBIOLA, M.; BERNARDO, U. No evidence of parthenogenesis-inducing bacteria involved in *Thripoctenus javae* thelytoky: an unusual finding in Chalcidoidea. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v. 160, p. 292-301, 2016.

PACHECO, D. J. P.; CORRÊA-FERREIRA, B. S. Parasitismo de *Telenomus podisi* Ashmead (Hymenoptera: Scelionidae) em populações de percevejos pragas da soja. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v. 29, p. 295-302, 2000.

PANIZZI, A. R. History and contemporary perspectives of the integrated pest management of soybean in Brazil. **Neotropical Entomology**, v. 42, p. 119-127, 2013.

PANIZZI, A. R.; LUCINI, T. What happened to *Nezara viridula* (L.) in the Americas? Possible reasons to explain populations decline. **Neotropical Entomology** v. 45, p. 619-628, 2016.

PAZINI, J. B.; GRUTZMACHER, A. D.; MARTINS, J. F. da S.; PASINI, R. A.; RAKES, M. Selectivity of pesticides used in rice crop on *Telenomus podisi* and *Trichogramma pretiosum*. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 46, p. 327-335, 2016.

PAZINI, J. B.; PASINI, R. A.; SEIDEL, E. J.; RAKES, M.; MARTINS, J. F. D. S.; GRUTZMACHER, A. D. Side-effects of pesticides used in irrigated rice areas on *Telenomus podisi* Ashmead (Hymenoptera: Platygasteridae). **Ecotoxicology**, v. 26, p. 782-791, 2017.

RAMOS, R. S.; ARAUJO, V. C. R.; PEREIRA, R. R.; MARTINS, J. C.; QUEIROZ, O. S.; SILVA, R. S.; PICANÇO, M. C. Investigation of the lethal and behavioral effects of comercial insecticides on the parasitoid wasp *Copidosoma truncatellum*. **Chemosphere**, v. 191, p. 77-778, 2018.

ROCHA, L. C. D.; CARVALHO, G. A. Adaptação da metodologia padrão da IOBC para estudos de seletividade com *Trichogramma pretiosum* Riley, 1879 (Hymenoptera:

Trichogrammatidae) em condições de laboratório. **Acta Scientiarum. Agronomy**, v. 26, p. 315-320, 2004.

SABER, M.; ABEDI, Z. Effects of methoxyfenozide and pyridalyl on the larval ectoparasitoid *Habrobracon hebetor*. **Journal of Pest Science**, v. 86, p. 685-693, 2013.

SALUSO, A.; XAVIER, L.; SILVA, F. A. C.; PANIZZI, A. R. An invasive pentatomid pest in Argentina: Neotropical stink bug, *Euschistus heros* (F.) (Hemiptera: Pentatomidae). **Neotropical Entomology**, v. 40, p. 704-705, 2011.

SILVA, C. C.; LAUMANN, R. A.; BLASSIOLI, M. C.; PAREJA, M.; BORGES, M. *Euschistus heros* mass rearing technique for the multiplication of *Telenomus podisi*. **Pesquisa agropecuária brasileira**, v. 43, p. 575-580, 2008.

SILVA, S. A. **Controle biológico de *Erinnyis ello* (LINNAEUS, 1758) (LEPIDOPTERA: SPHINGIDAE) com parasitoides na cultura da mandioca**. Tese Doutorado, Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados, p. 85, 2017.

SHAPIRO, S. S.; WILK, M. B. An analysis of variance test for normality. **Biometrika**, v. 52, p. 591-611, 1965.

SOSA-GÓMEZ, D. R.; SILVA, J. J. D. Neotropical brown stink bug (*Euschistus heros*) resistance to methamidophos in Paraná, Brazil. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 45, p. 767-769, 2010.

SPARKS, T. C.; NAUEN, R. IRAC: mode of action classification and insecticide resistance management. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 121, p. 122-128, 2015.

STECCA, C. S.; BUENO, A. F.; PASINI, A.; SILVA, D. M.; ANDRADE, K.; ZIRONDI FILHO, D. M. Impact of Insecticides Used in Soybean Crops to the Egg Parasitoid *Telenomus podisi* (Hymenoptera: Platygasteridae). **Neotropical Entomology**, v. 47, p. 281-291, 2018.

STERK, G.; HASSAN, S. A.; BAILLOD, M.; BAKKER, F.; BIGLER, F.; BLÜMEL, S.; BOGENSCHÜTZ, H.; BOLLER, E.; BROMAND, B.; BRUN, J.; CALIS, J. N. M.; COREMANS-PELSENEER, J.; DUSO, C.; GARRIDO, A.; GROVE, A.; HEIMBACH, U.; HOKKANEN, H.; JACAS, J.; LEWIS, G.; MORETH, L.; POLGAR, L.; ROVERSTI, L.; SAMSOE-PETERSEN, L.; SAUPHANOR, B.; SCHAUB, L.; STÄUBLI, A.; TUSET, J. J.; VAINIO, A.; VAN DE VEIRE, M.; VIGGIANI, G.; VIÑUELA, E.; VOGT, H. 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.

STOCK, D.; HOLLOWAY, P. J. Possible mechanisms for surfactant-induced foliar uptake of agrochemicals. **Pesticide Science**, v. 38, p. 165-177, 1993.

STOUTHAMER, R. *Wolbachia*-induced parthenogenesis. In: O'NEILL, S. L.; HOFFMANN, A. A.; WERREN, J. H. [eds]. **Influential passengers: inherited microorganisms and arthropod reproduction**. Oxford University Press, Oxford, p. 102-124, 1997.

TOMIZAWA, M.; CASIDA, J. E. Neonicotinoid insecticide toxicology: mechanisms of selective action. **Annual Review of Pharmacology and Toxicology**, v. 45, p. 247-268, 2005.

TUELHER, E. S.; da SILVA, E. H.; RODRIQUES, H. S.; HIROSE, E.; GUEDES, R. N. C.; OLIVEIRA, E. E. Area-wide spatial survey of the likelihood of insecticide control failure in the neotropical brown stink bug *Euschistus heros*. **Journal of Pest Science**, v. 91, p. 849-859, 2018.

TURCHEN, L. M.; GOLIN, V.; BUTNARIU, A. R.; GUEDES, R. N. C.; PEREIRA, M. J. B. Lethal and Sublethal Effects of Insecticides on the Egg Parasitoid *Telenomus podisi* (Hymenoptera: Platygasteridae). **Journal of Economic Entomology**, v. 109, p. 84-92, 2015.

UMINA, P. A.; WEEKS, A. R.; ROBERTS, J.; JENKINS, S.; MANGANO, G. P. LORD, A.; MICIC, S. The current status of pesticide resistance in Australian populations of the redlegged earth mite (*Halotydeus destructor*). **Pest Management Science**, v. 68, p. 889-896, 2012.

VOGT, H.; BIGLER, F.; BROWN, K.; CANDOLFI, M. P.; KEMMETER, F.; KÜHNER, C.; MOLL, M.; TRAVIS, A.; UFER, A.; VIÑUELA, E.; WLADBURGER, M.; WALTERSDORFER, A. Laboratory method to test effects of plant protection products on larvae of *Chrysoperla carnea* (Neuroptera: Chrysopidae). In: CANDOLFI, M. P.; BLUMEL, 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**. IOBC/ WPRS, Montfavet, p. 27-44, 2000.

WANG, Y.; YU, R.; ZHAO, X.; CHEN, L.; WU, C.; CANG, T.; WANG, Q. Susceptibility of adult *Trichogramma nubilale* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) to selected insecticides with different modes of action. **Crop Protection**, v. 34, p. 76-82, 2012.

WILSON, F.; WOOLCOCK, L. T. Temperature determination of sex in a parthenogenetic parasite, *Ooencyrtus submetallicus* (Howard) (Hymenoptera: Encyrtidae). **Australian Journal of Zoology**, v. 8, p. 153-169, 1960.

ZANTEDESCHI, R.; RAKES, M.; PASINI, R. A.; ARAUJO, M. B.; BUENO, F. A.; GRUTZMACHER, A. D. Toxicity of soybean-registered agrochemicals to *Telenomus podisi* and *Trissolcus basalus* immature stages. **Phytoparasitica**, v. 46, p. 203-212, 2018.

Tabela 1. Inseticidas registrados para o controle de insetos-praga na cultura da soja, avaliados sobre adultos de *Ooencyrtus submetallicus* (Hymenoptera: Encyrtidae). Dourados-MS, UFGD, 2019.

Ingrediente ativo	P.C.¹	Título de Registro	C²	D³	Modo de Ação⁴	Formulação⁵
Lambda-cialotrina + Tiametoxan	Engeo Pleno	Syngenta Proteção de Cultivos Ltda	141+106	0,20	3A, 4A	SC
Beta-ciflutrina + Imidacloprid	Connect	Bayer S.A.	100+12,50	1,00	3A, 4A	SC
Metomil	Bazuka 216 SL	Rotam do Brasil Agroquímica Produtos Agrícolas LTDA	383,50+216	1,99	1A	SL
Novalurom	Rimon 100 EC	Adama Brasil S/A	100	0,07	15	EC
Teflubenzuron	Nomolt 150	BASF S.A.	150	0,15	15	SC

¹ P.C. Produto comercial®;

² C Concentração do ingrediente ativo (g L⁻¹);

³ D Dose P.C. (L ha⁻¹) utilizada para realizar o teste de seletividade;

⁴ Classificação do modo de ação conforme Insecticide Resistance Action Committee (IRAC) v 8.4;

⁵ SC - Suspensão Concentrada; SL - Concentrado Solúvel; EC - Concentrado Emulsionável.

Tabela 2. Médias (\pm erro padrão) das características biológicas dos indivíduos de *Ooencyrtus submetallicus* (Hymenoptera: Encyrtidae) submetidos ao teste de seletividade em condições de laboratório ampliado. Temperatura 25 ± 2 °C, umidade relativa de $70 \pm 10\%$ e fotofase de 14 horas. Dourados-MS, UFGD, 2019.

Tratamentos	Número de ovos parasitados¹ (n=30)²	Parasitismo (%)¹	Emergência (%)¹	Razão Sexual [Σ♀ / Σ (♀ + ♂)]¹
Testemunha	18,41 \pm 1,19 a	61,38 \pm 3,97 a	94,12 \pm 2,80 a	1,00 \pm 0,00 a
Lambda-cialotrina + Tiametoxan	3,91 \pm 0,89 b	13,05 \pm 2,97 b	62,89 \pm 11,28 ab	1,00 \pm 0,00 a
Beta-ciflutrina + Imidacloprid	5,41 \pm 0,66 b	18,05 \pm 2,26 b	51,06 \pm 10,04 bc	1,00 \pm 0,00 a
Metomil	2,83 \pm 0,58 b	9,44 \pm 1,92 b	26,38 \pm 10,22 c	1,00 \pm 0,00 a
Novaluron	14,67 \pm 1,05 a	48,88 \pm 4,41 a	90,94 \pm 3,25 a	1,00 \pm 0,00 a
Teflubenzuron	14,50 \pm 1,05 a	48,33 \pm 3,49 a	94,40 \pm 1,83 a	1,00 \pm 0,00 a
CV (%)	34,26	34,26	38,05	00,00

¹ Médias (\pm EP) seguidas da mesma letra na coluna (minúscula) não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$);

² Número de ovos avaliados;

³ Coeficiente de variação.

Tabela 3. Porcentagem média (\pm erro padrão) da mortalidade, mortalidade corrigida (Mc) e redução no parasitismo (RP) em fêmeas de *Ooencyrtus submetallicus* submetidos ao teste de seletividade em condições de laboratório ampliado e a alocação do produto fitossanitário dentro da classificação da IOBC. Temperatura 25 ± 2 °C, umidade relativa de $70 \pm 10\%$ e fotofase de 14 horas. Dourados–MS, UFGD, 2019.

Tratamentos	Mortalidade (%) ¹	Mortalidade corrigida ²	RP (%) ³	Classe de Toxicidade ⁴
Testemunha	1,67 \pm 1,67 a	-	-	-
Lambda-cialotrina + Tiametoxan	91,67 \pm 4,58 b	91,52	80,37	4
Beta-ciflutrina + Imidacloprid	81,67 \pm 4,58 b	81,35	74,25	3
Metomil	96,67 \pm 2,25 b	96,61	86,09	4
Novaluron	3,33 \pm 2,25 a	1,68	23,80	1
Teflubenzuron	1,67 \pm 1,67 a	-	24,68	1
CV (%) ⁵	32,43%			

¹ Médias (\pm EP) seguidas da mesma letra na coluna (minúscula) não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$);

² Mc (%) = (Testemunha – Tratamento) / (100 – Testemunha) * 100 (ABBOTT, 1925);

³ Redução no parasitismo comparado com a testemunha (ROCHA e CARVALHO, 2004);

⁴ Classes: 1, inócuo (<25%); 2, ligeiramente prejudicial (25–50%); 3, moderadamente prejudicial (51–75%); e 4, nocivo (> 75%) (STERK et al., 1999);

⁵ Coeficiente de variação.

Considerações Gerais

Este estudo permitiu avaliar as características biológicas de *O. submetallicus* em ovos de *E. heros* em diferentes densidades, determinando a densidade 1:6 ser a melhor combinação de parasitoide e hospedeiro. De fato, estes resultados possibilitam iniciar trabalhos em semi-campo e campo, para serem implementados em programas de controle biológico de insetos-praga;

Fêmeas de *O. submetallicus* conseguem se reproduzir em ovos de *E. heros* armazenados em nitrogênio líquido (-196°C) por 0, 30, 60, 90, 120, 150 ou 180 dias com parasitismo e emergência acima de 70 %. Estes resultados são relevantes para a produção desta espécie de parasitoide em ovos de *E. heros*, para atender demandas de produção e serem utilizadas em larga escala na regulação populacional de percevejos durante períodos críticos de ocorrência de percevejos na soja;

Os produtos novaluron e teflubenzuron foram classificados como classe 1, inócuo; beta-ciflutrina + imidacloprid classe 3, moderadamente prejudicial; e lambda-cialotrina + tiametoxan e metomil classe 4 - nocivo, em condições de laboratório ampliado. Os inseticidas classificados na classe 1, inócuo, podem ser, futuramente, associados com programas de controle biológico, na medida em que houver necessidade, pois aparentemente, não oferecem riscos a *O. submetallicus*. Os demais inseticidas classificados na classe 3, moderadamente prejudicial e classe 4, nocivo, devem ser testados nas próximas etapas para determinar a sua inocuidade.

Considerações Finais

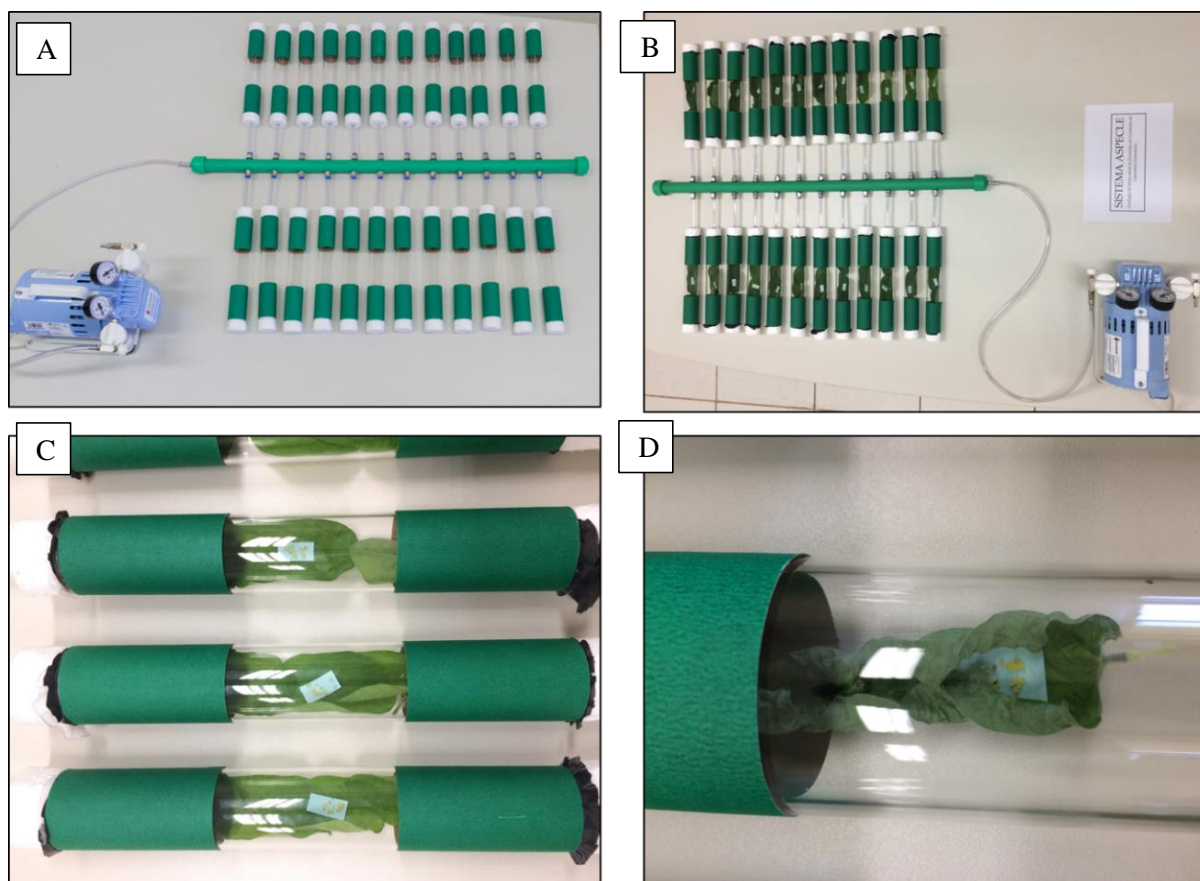
A densidade é um ponto inicial para determinar a capacidade do parasitoide *O. submetallicus* sobre alguns de seus hospedeiros, como *E. heros*, e poder montar experimentos em laboratórios, semi-campo e campo, e começar a extrapolar para diversas culturas agrícolas de importância econômica. Na literatura, trabalhos como estes são escassos para *O. submetallicus*, portanto, este estudo é de suma importância para iniciar os trabalhos com este agente de controle biológico;

O armazenamento de ovos de pentatomídeos a baixas temperaturas permite a multiplicação de agentes de controle biológico em laboratório a qualquer época do ano,

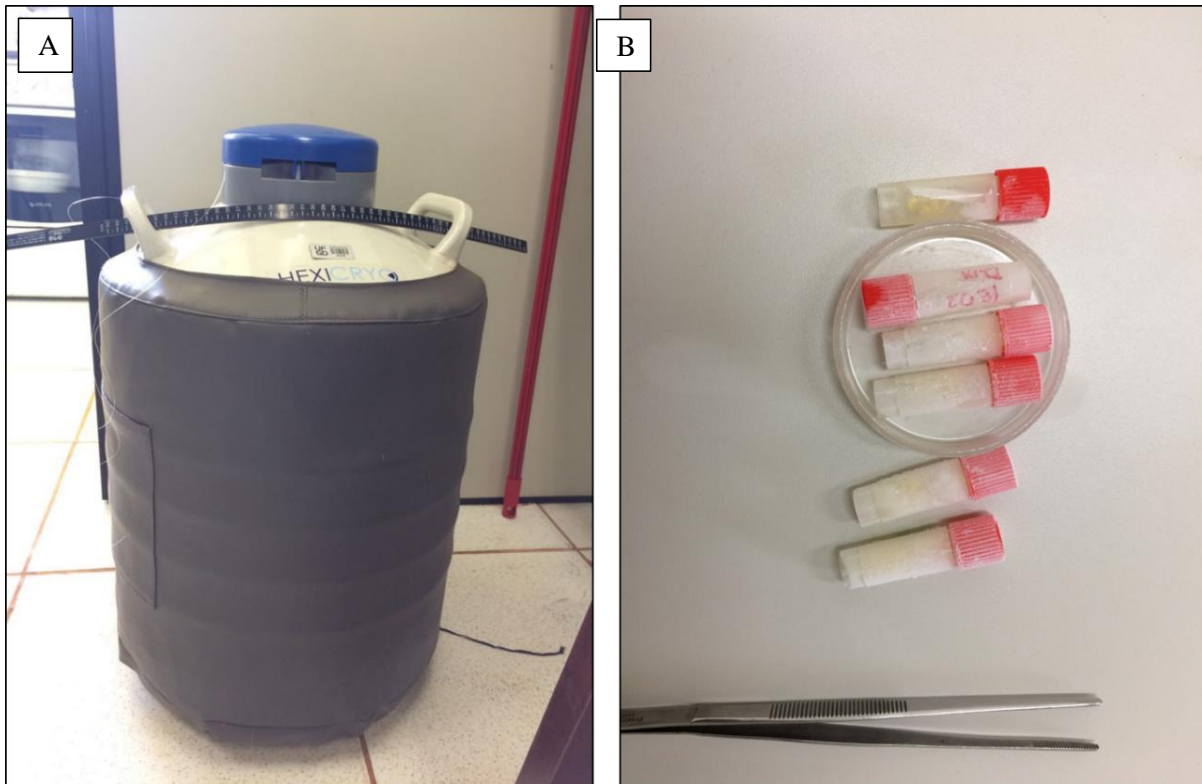
possibilitando sincronizar a multiplicação com a sua liberação em períodos de maior ocorrência de seus hospedeiros;

Os resultados obtidos com o sistema ASPECLE nos permite determinar a inocuidade dos inseticidas em condições de laboratório ampliado, uma vez que, os parasitoides são expostos diretamente sobre superfícies tratadas com os inseticidas. Caso o inseticida não demonstre inocuidade neste sistema, torna-se necessário realizar novos ensaios apenas em condições de campo pois o sistema ASPECLE simula o semi-campo, o que economiza tempo e recursos financeiros.

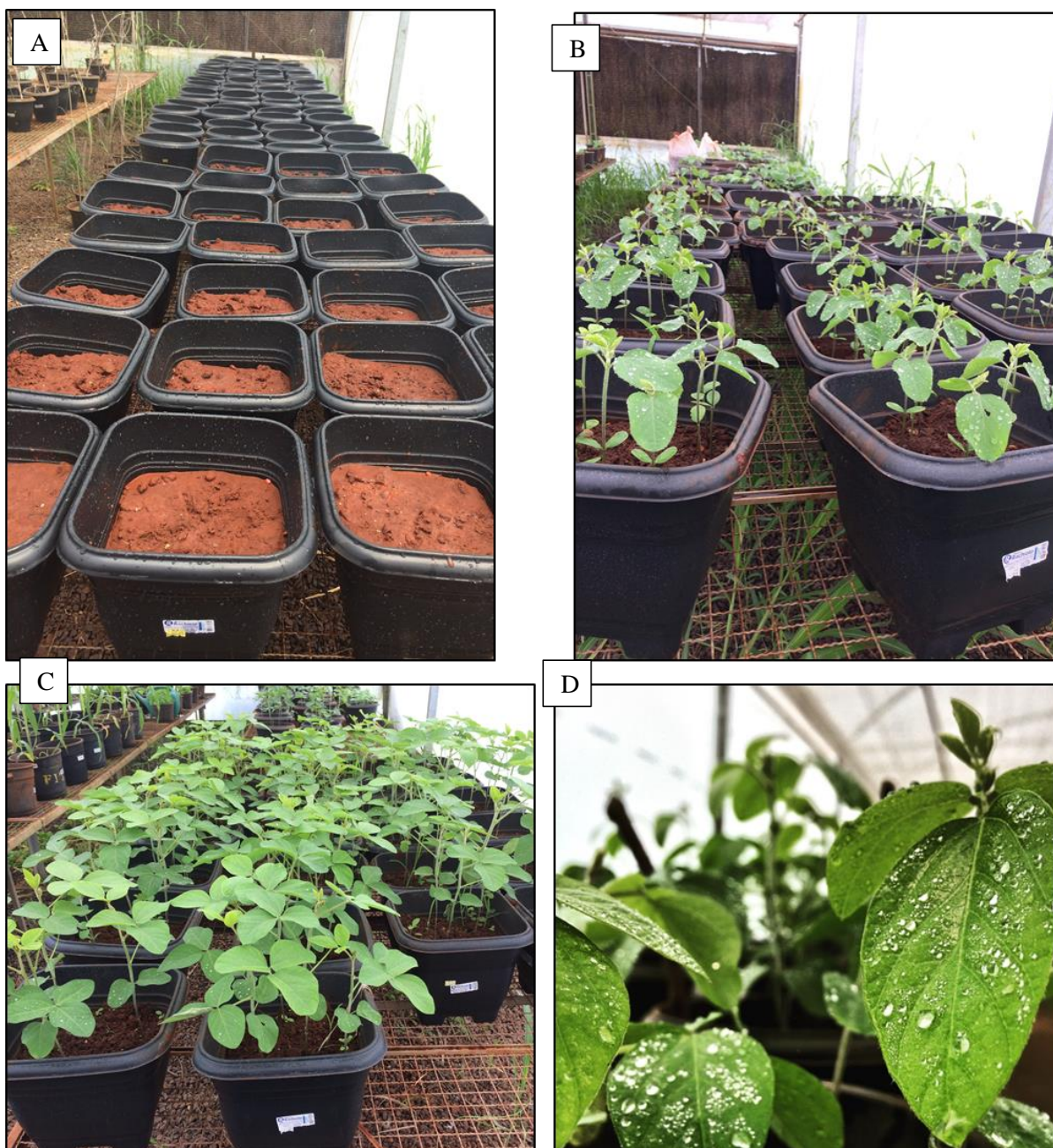
ANEXOS



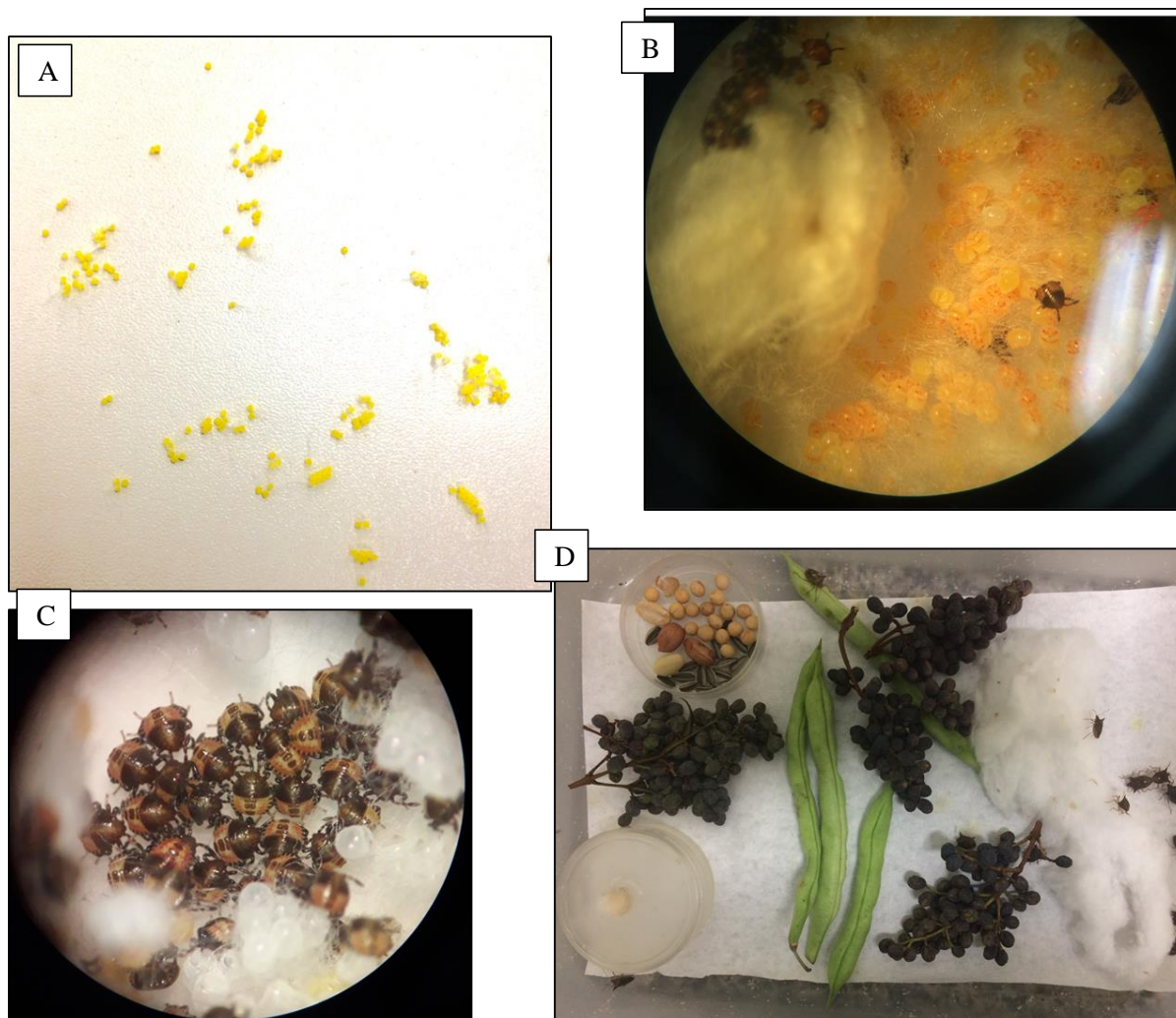
ANEXO I. A. Sistema ASPECLE (Avaliação da Seletividade de Pesticidas em Condições de Laboratório Estendido); **B.** Sistema ASPECLE após 1h de funcionamento; **C.** Gaiolas de seletividade contendo substratos, cartela de ovos de *Euschistus heros* (Hemiptera: Pentatomidae) e fêmeas de *Ooencyrtus submetallicus* (Hymenoptera: Encyrtidae); **D.** Gaiola de seletividade após 14h de funcionamento. Dourados–MS, UFGD, 2019.



ANEXO II. A. Container de nitrogênio líquido HEXICRYO® capacidade de 20 L. **B.** Tubos criogênicos Corning® capacidade de 2 mL contendo ovos de *Euschistus heros* (Hemiptera: Pentatomidae) armazenados em nitrogênio líquido. Dourados-MS, UFGD, 2019.



ANEXO III. A. Sementes de sojas da cultivar BRS 284 - *Glycine max* (L.) Merr. semeadas em vasos com capacidade de 7L, isentas de produtos fitossanitários; **B.** Plantas de soja no estágio V1; **C.** Plantas de soja no estágio V4-V5; **D.** Folhas de soja utilizadas como substrato no Sistema ASPECLE. Dourados–MS, UFGD, 2019.



ANEXO IV. A. Ovos de 24 horas de idade de *Euschistus heros* (Hemiptera: Pentatomidae); **B.** Ovos de *Euschistus heros* (Hemiptera: Pentatomidae) de 144-168 horas de idade, com coloração alaranjada e eclosão de ninfas de 1º instar; **C.** Ninfas de 1º instar de *Euschistus heros* (Hemiptera: Pentatomidae); **D.** Gaiola de criação de adultos de *Euschistus heros* (Hemiptera: Pentatomidae) contendo sua dieta e substrato de oviposição. Dourados-MS, UFGD, 2019.



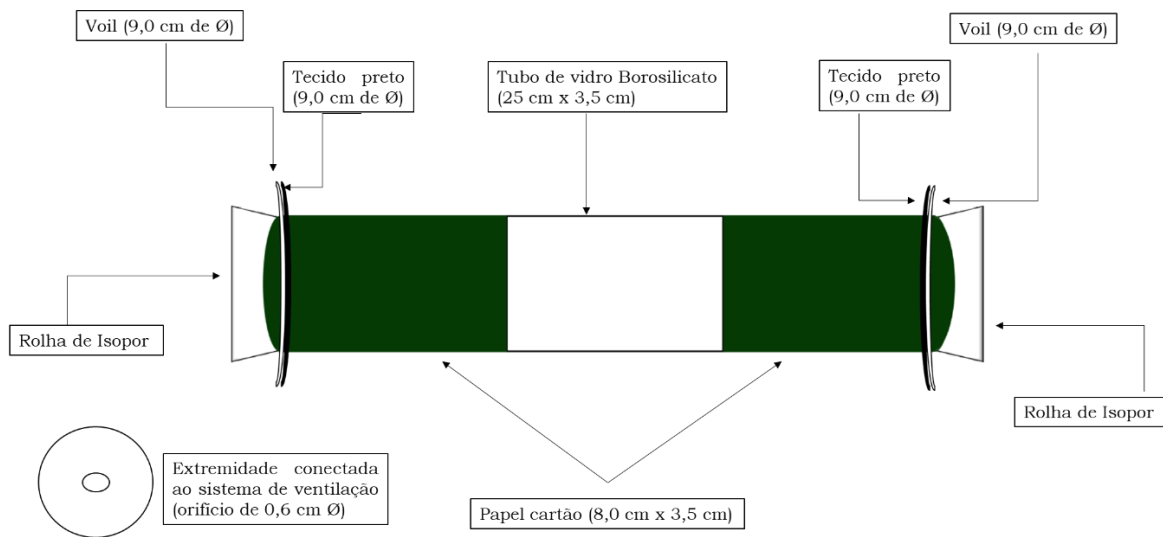
ANEXO V. A. Pulverização com inseticidas em cartelas contendo ovos de *Euschistus heros* (Hemiptera: Pentatomidae) que foram ofertados ao parasitoide *Ooencyrtus submetallicus* (Hymenoptera: Encyrtidae). **B.** Pulverização com inseticidas nos substratos (folhas de soja) que foram inseridas nas gaiolas de seletividade. Dourados–MS, UFGD, 2019.



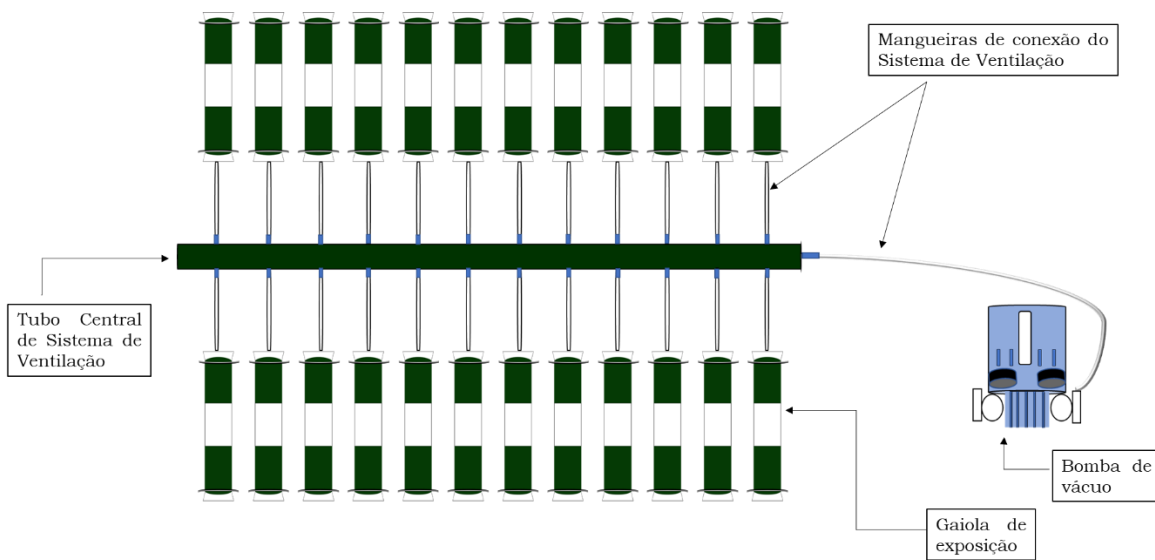
ANEXO VI. Fêmea de *Ooencyrtus submetallicus* (Hymenoptera: Encyrtidae) de 120-144 horas de idade parasitando ovos de *Euschistus heros* (Hemiptera: Pentatomidae). Dourados-MS, UFGD, 2019.



ANEXO VII. Fêmea de *Ooencyrtus submetallicus* (Hymenoptera: Encyrtidae) emergido de diferentes densidades para mensurar o comprimento da tíbia posterior com o auxílio do software ZEN lite from ZEISS Microscopy. Dourados-MS, UFGD, 2019.



ANEXO VIII. Gaiola de seletividade para realizar testes de laboratório e laboratório estendido. Dourados–MS, UFGD, 2019.



ANEXO IX. Sistema de Avaliação da Seletividade de Pesticidas em Condições de Laboratório Estendido (ASPECTLE) e seus componentes. Dourados-MS, UFGD, 2019.