

UNIVERSIDADE FEDERAL DOS VALES DO JEQUITINHONHA E MUCURI
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PRODUÇÃO VEGETAL
Zaira Vieira Caldeira

IMPACTOS DE INSETICIDAS BOTÂNICO E SINTÉTICO EM *Palmistichus elaeisis*
DELVARE & LASALLE 1993 (HYMENOPTERA: EULOPHIDAE)

Diamantina
2019

Zaira Vieira Caldeira

**IMPACTOS DE INSETICIDAS BOTÂNICO E SINTÉTICO EM *Palmistichus elaeisis*
DELVARE & LASALLE 1993 (HYMENOPTERA: EULOPHIDAE)**

Dissertação apresentada ao programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal da Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, como requisito para a obtenção do título de Mestra.

Orientador: Dr. Marcus Alvarenga Soares
Coorientador: Dr. Ronnie Von dos Santos Veloso

**Diamantina
2019**

Elaborado com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

C146i

Caldeira, Zaira Vieira

Impactos de inseticidas botânico e sintético em *Palmistichus elaeisis* Delvare & Lasalle 1993 (Hymenoptera: Eulophidae) / Zaira Vieira Caldeira, 2019.

48 p. :il.

Orientador: Marcus Alvarenga Soares

Coorientador: Ronnie Von dos Santos Veloso

Dissertação (Mestrado – Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal) - Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, Diamantina, 2019.

1. Manejo integrado de pragas. 2. Concentração letal. 3. Controle biológico. 4. Toxicidade. I. Soares, Marcus Alvarenga. II. Veloso, Ronnie Von dos Santos. III. Título. IV. Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri.

CDD 632.95

ZAIRA VIEIRA CALDEIRA

IMPACTOS DE INSETICIDAS BOTÂNICO E SINTÉTICO EM *Palmistichus elaeisis* DELVARE & LASALLE 1993 (HYMENOPTERA: EULOPHIDAE)

Dissertação apresentada ao
MESTRADO EM PRODUÇÃO
VEGETAL, nível de MESTRADO como
parte dos requisitos para obtenção do
título de MESTRA EM PRODUÇÃO
VEGETAL

Orientador (a): Prof. Dr. Marcus
Alvarenga Soares

Data da aprovação : 11/03/2019


Prof.Dr. MARCUS ALVARENGA SOARES - UFVJM


Prof.Dr. SEBASTIÃO LOURENÇO DE ASSIS JÚNIOR - UFVJM


Prof.Dr. RONNIE VON DOS SANTOS VELOSO - UFVJM

OFEREÇO

A Deus.

Aos meus pais.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço a Deus, por ter me sustentado até aqui com tanto amor. Essa conquista é Dele.

Aos meus pais, Jackson e Helena, pelas conversas, amizade, companheirismo, confiança e orações. Por sempre me apoiar e acreditar no meu melhor. E principalmente pelo amor incondicional por mim.

Aos meus irmãos Daniela e Álvaro, pelo carinho, amizade, e por sempre torcerem por mim.

Ao meu orientador Marcus Alvarenga Soares, a quem muito admiro, pelos ensinamentos passados com muita paciência, pelos conselhos, conversas, por sempre me acalmar e me fazer acreditar que vai dar certo, por ser responsável pelo meu crescente amor pela Entomologia, e por ser um verdadeiro pai para todos os seus filhos acadêmicos.

Ao meu coorientador Ronnie Von dos Santos Veloso, por todo auxílio no desenvolvimento do trabalho, pelo conhecimento transmitido com tanta paciência, pelas sugestões, por sempre estar disposto a ajudar.

À Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri e ao Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal, pela oportunidade de realizar essa pesquisa, por minha formação como mestra e pela bolsa de estudos concedida.

À banca examinadora, pela disponibilidade e contribuição.

Aos “meus meninos”, Rodrigo Amaral (Digão), Cleber Felipe e José Carlos, que estiveram comigo no desenvolvimento da pesquisa, sempre me salvando com tanta eficiência. E a todos os amigos do Laboratório de Controle Biológico de Insetos da UFVJM, Eliz, Daniel, Gilson, Michael, Gabi e todos os outros membros, que me ajudaram de alguma forma, até mesmo com os momentos de descontração, as altas risadas no horário do almoço, as comidinhas de sexta.

A todos os professores, funcionários e colaboradores do Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal da UFVJM.

A toda minha família por sempre torcerem por mim.

Às amigas de longa data e feitas em Diamantina. Que sempre estiveram torcendo pelo meu sucesso. Atrevo-me citar alguns nomes, Sandy (Bê), Vinícius, Faustino, Diulia (Migs), Marcelo, Josi e Cleriston (Maninho).

Aos amigos dos ministérios de música, Cassiano, Camila, Esther, Wemerson, João Esdras, Luana, Mateus, João Victor, Ernesto, Igor, Jhonathan, Anabele, Nathália, e todos do Coral da Sé.

À família GOU Anjos de Resgate, principalmente às meninas do Núcleo, por todas as partilhas, conselhos e orações.

A todos que me apoiaram e ajudaram direta ou indiretamente para conclusão dessa etapa em minha vida.

RESUMO

Palmistichus elaeisis Delvare & LaSalle (Hymenoptera: Eulophidae) e o óleo de neem (*Azadirachta indica*), são alternativas promissoras para o controle de lepidópteros desfolhadores. O objetivo desse estudo foi avaliar a seletividade do óleo de neem sobre *P. elaeisis* em três gerações consecutivas, por meio de avaliações de toxicidade aguda e crônica, em comparação à dose comercial do inseticida deltametrina. O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado. Os insetos foram expostos às concentrações de 0; 0,187; 0,375; 0,750; 1,5; 3,0 e 6,0% do óleo de neem. Para determinação da relação dose-resposta e estimativa da CL_{50} do neem, fêmeas de *P. elaeisis* foram colocadas em frascos tipo penicilina com o interior completamente coberto pelas soluções de neem, com 04 repetições para cada tratamento. Após 48h de exposição realizou-se a avaliação do efeito agudo com a contagem do número de indivíduos mortos e vivos. Para avaliação dos efeitos subletais na biologia de *P. elaeisis* nas gerações parental, F1, F2 e F3, além das concentrações do neem, utilizou-se a dose de 33,3 mg/L de deltametrina, com 10 repetições para cada tratamento. Pupas de *Tenebrio molitor* Linnaeus (Coleoptera: Tenebrionidae) foram expostas aos tratamentos pelo método de imersão. Parasitismo, longevidade, emergência, razão sexual, morfometria e período ovo-adulto das gerações foram avaliados. A mortalidade de *P. elaeisis* aumentou com o incremento das concentrações do óleo de neem, e a CL_{50} foi estimada na concentração de 0,3916%. O parasitismo das fêmeas parentais foi de 0% em pupas tratadas com a dose comercial de deltametrina e concentrações de 3,0 e 6,0% do óleo de neem, inviabilizando a emergência da geração F1 nesses tratamentos. A sobrevivência de *P. elaeisis* foi afetada pelas concentrações de neem e deltametrina até a segunda geração. A longevidade dos parentais foi menor na dose comercial de deltametrina e concentração de 6,0% do neem. O número de parasitoides emergidos por pupa foi reduzido nas concentrações de 0,187 a 1,5% do neem na geração F1, e na geração F2 pela concentração de 1,5%. A razão sexual foi acima de 80% em todos os tratamentos de todas as gerações. A morfometria das fêmeas da geração F1 foi menor em pupas da testemunha. O período ovo-adulto foi maior nas concentrações de 0,187 a 1,5% do neem na geração F1. O óleo de neem utilizado nesse estudo não é seletivo para o parasitoide *P. elaeisis* devido aos efeitos letais em fêmeas adultas e subletais observados na geração parental, F1 e F2.

Palavras-chave: Manejo integrado de pragas. Concentração letal. Controle biológico.

Toxicidade.

ABSTRACT

Palmistichus elaeisis Delvare & LaSalle (Hymenoptera: Eulophidae) and neem oil (*Azadirachta indica*) are promising alternatives for the control of lepidopteran defoliants. The objective of this study was to evaluate the selectivity of neem oil on *P. elaeisis* in three consecutive generations, through acute and chronic toxicity evaluations, in comparison to the commercial dose of the insecticide deltamethrin. The experiment was conducted in a completely randomized design. The insects were exposed to concentrations of 0; 0.187; 0.375; 0.750; 1.5; 3.0 and 6.0% of neem oil. To determine the dose-response relationship and neem LC₅₀ estimation, females of *P. elaeisis* were placed in penicillin-type bottles with the interior completely covered by the neem solutions, with 04 replicates for each treatment. After 48 hours of exposure, the acute effect was evaluated by counting the number of dead and alive individuals. In order to evaluate the sublethal effects in the biology of *P. elaeisis* in the parental, F1, F2 and F3 generations, in addition to neem concentrations, the 33.3 mg/L deltamethrin dose was used, with 10 replicates for each treatment. Pupae of *Tenebrio molitor* Linnaeus (Coleoptera: Tenebrionidae) were exposed to treatments by the immersion method. Parasitism, longevity, emergency, sexual ratio, morphometry and egg-adult period of the generations were evaluated. The mortality of *P. elaeisis* increased with increasing concentrations of neem oil, and the LC₅₀ was estimated at the concentration of 0.3916%. The parasitism of the parental females was 0% in pupae treated with the commercial dose of deltamethrin and concentrations of 3.0 and 6.0% of neem oil, making the emergence of the F1 generation in these treatments impossible. The survival of *P. elaeisis* was affected by the concentrations of neem and deltamethrin until the second generation. Parental longevity was lower in the commercial dose of deltamethrin and 6.0% concentration of neem. The number of parasitoids emerged per pupa was reduced in the concentrations of 0.187 to 1.5% of the neem in the F1 generation, and in the F2 generation by the concentration of 1.5%. The sex ratio was above 80% in all treatments of all generations. Morphometry of F1 females was lower in control pupae. The egg-adult period was higher at concentrations of 0.187 to 1.5% of neem in F1 generation. The neem oil used in this study is not selective for *P. elaeisis* parasitoid due to the lethal effects in adult and sublethal females observed in parental, F1 and F2 generation.

Key words: Integrated pest management. Lethal concentration. Biological control. Toxicity.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1** - Curva dose-resposta para determinação da toxicidade do óleo de neem em fêmeas de *Palmistichus elaeisis* Delvare & LaSalle 1993 (Hymenoptera: Eulophidae). O eixo y representa a probabilidade de sobrevivência (%). O eixo x representa as concentrações do óleo de neem. Temp.: $25 \pm 2^\circ\text{C}$, UR: $70 \pm 10\%$ e fotoperíodo: 12h.....25
- Figura 2** - Porcentagem de pupas de *Tenebrio molitor* Linnaeus (Coleoptera: Tenebrionidae) parasitadas por *Palmistichus elaeisis* Delvare & LaSalle 1993 (Hymenoptera: Eulophidae), submetidas às diferentes concentrações de óleo de neem e à dose máxima recomendada de deltametrina (Decis 25 CE[®]). Temp.: $25 \pm 2^\circ\text{C}$, UR: $70 \pm 10\%$ e fotoperíodo: 12h.....26
- Figura 3** - Porcentagem de pupas de *Tenebrio molitor* Linnaeus (Coleoptera: Tenebrionidae) parasitadas pela geração F1 de *Palmistichus elaeisis* Delvare & LaSalle 1993 (Hymenoptera: Eulophidae) submetidos indiretamente às diferentes concentrações de óleo de neem. Temp.: $25 \pm 2^\circ\text{C}$, UR: $70 \pm 10\%$ e fotoperíodo: 12h26
- Figura 4** - Porcentagem de pupas de *Tenebrio molitor* Linnaeus (Coleoptera: Tenebrionidae) parasitadas pela geração F2 de *Palmistichus elaeisis* Delvare & LaSalle 1993 (Hymenoptera: Eulophidae) submetidos indiretamente às diferentes concentrações de óleo de neem. Temp.: $25 \pm 2^\circ\text{C}$, UR: $70 \pm 10\%$ e fotoperíodo: 12h27
- Figura 5** - Estimativa de probabilidade de sobrevivência de Kaplan-Meier. O eixo y representa a probabilidade de sobrevivência de fêmeas de *Palmistichus elaeisis* Delvare & LaSalle 1993 (Hymenoptera: Eulophidae) da geração parental submetidas às diferentes concentrações do óleo de neem e à dose máxima recomendada do inseticida deltametrina (Decis 25 CE[®]). O eixo x representa o tempo (dias) de observação. Temp.: $25 \pm 2^\circ\text{C}$, UR: $70 \pm 10\%$ e fotoperíodo: 12h.....28
- Figura 6** - Estimativa de probabilidade de sobrevivência de Kaplan-Meier. O eixo y representa a probabilidade de sobrevivência de fêmeas de *Palmistichus elaeisis* Delvare & LaSalle 1993 (Hymenoptera: Eulophidae) da geração F1 submetidas indiretamente às diferentes concentrações do óleo de neem. O eixo x representa o tempo (dias) de observação. Temp.: $25 \pm 2^\circ\text{C}$, UR: $70 \pm 10\%$ e fotoperíodo: 12h.....29
- Figura 7** - Estimativa de probabilidade de sobrevivência de Kaplan-Meier. O eixo y representa a probabilidade de sobrevivência de fêmeas de *Palmistichus elaeisis* Delvare & LaSalle 1993 (Hymenoptera: Eulophidae) da geração F2 submetidas indiretamente às diferentes concentrações do óleo de neem. O eixo x representa o tempo (dias) de observação. Temp.: $25 \pm 2^\circ\text{C}$, UR: $70 \pm 10\%$ e fotoperíodo: 12h.....29
- Figura 8** - Estimativa de probabilidade de sobrevivência de Kaplan-Meier. O eixo y representa a probabilidade de sobrevivência de fêmeas de *Palmistichus elaeisis* Delvare & LaSalle 1993 (Hymenoptera: Eulophidae) da geração F3 submetidas indiretamente às diferentes concentrações do óleo de neem. O eixo x representa o tempo (dias) de observação. Temp.: $25 \pm 2^\circ\text{C}$, UR: $70 \pm 10\%$ e fotoperíodo: 12h.....30
- Figura 9** - Média (\pm EP) da longevidade de fêmeas de *Palmistichus elaeisis* Delvare & LaSalle 1993 (Hymenoptera: Eulophidae) que tiveram contado com pupas de *Tenebrio molitor* Linnaeus (Coleoptera: Tenebrionidae) expostas às diferentes concentrações de óleo de neem e à dose máxima recomendada de deltametrina (Decis 25 CE[®]). Temp.: $25 \pm 2^\circ\text{C}$, UR: $70 \pm 10\%$ e fotoperíodo: 12h31

- Figura 10** - Média (\pm EP) da longevidade de fêmeas da geração F1 de *Palmistichus elaeisis* Delvare & LaSalle 1993 (Hymenoptera: Eulophidae) submetidas indiretamente às diferentes concentrações de óleo de neem. Temp.: $25 \pm 2^\circ\text{C}$, UR: $70 \pm 10\%$ e fotoperíodo: 12h 31
- Figura 11** - Média (\pm EP) da longevidade de fêmeas da geração F2 de *Palmistichus elaeisis* Delvare & LaSalle 1993 (Hymenoptera: Eulophidae) submetidas indiretamente às diferentes concentrações de óleo de neem. Temp.: $25 \pm 2^\circ\text{C}$, UR: $70 \pm 10\%$ e fotoperíodo: 12h 32
- Figura 12** - Média (\pm EP) da longevidade de fêmeas da geração F3 de *Palmistichus elaeisis* Delvare & LaSalle 1993 (Hymenoptera: Eulophidae) submetidas indiretamente às diferentes concentrações de óleo de neem. Temp.: $25 \pm 2^\circ\text{C}$, UR: $70 \pm 10\%$ e fotoperíodo: 12h 32
- Figura 13** - Média \pm (EP) do número de *Palmistichus elaeisis* (Hymenoptera: Eulophidae) da geração F1, emergidos por pupa de *Tenebrio molitor* (Coleoptera: Tenebrionidae) submetidos indiretamente às diferentes concentrações de óleo de neem. Temp.: $25 \pm 2^\circ\text{C}$, UR: $70 \pm 10\%$ e fotoperíodo: 12h 33
- Figura 14** - Média \pm (EP) do número de *Palmistichus elaeisis* (Hymenoptera: Eulophidae) da geração F2, emergidos por pupa de *Tenebrio molitor* (Coleoptera: Tenebrionidae) submetidos indiretamente às diferentes concentrações de óleo de neem. Temp.: $25 \pm 2^\circ\text{C}$, UR: $70 \pm 10\%$ e fotoperíodo: 12h 33
- Figura 15** - Média \pm (EP) do número de *Palmistichus elaeisis* (Hymenoptera: Eulophidae) da geração F3, emergidos por pupa de *Tenebrio molitor* (Coleoptera: Tenebrionidae) submetidos indiretamente às diferentes concentrações de óleo de neem. Temp.: $25 \pm 2^\circ\text{C}$, UR: $70 \pm 10\%$ e fotoperíodo: 12h 34

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Razão de risco pela regressão de Cox das concentrações do óleo de neem à sobrevivência de *Palmistichus elaeisis* Delvare & LaSalle 1993 (Hymenoptera: Eulophidae) nas gerações parental, F1, F2 e F3. Temp.: $25 \pm 2^\circ\text{C}$, UR: $70 \pm 10\%$ e fotoperíodo: 12h 30

Tabela 2 - Média \pm (EP) da razão sexual, tamanho da cápsula cefálica e tibia posterior (mm) e período ovo-adulto (dias) das gerações F1, F2 e F3 de *Palmistichus elaeisis* (Hymenoptera: Eulophidae), submetidos indiretamente às diferentes concentrações do óleo de neem. Temp.: $25 \pm 2^\circ\text{C}$, UR: $70 \pm 10\%$ e fotoperíodo: 12h 35

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	17
2.1 Eucaliptocultura no Brasil	17
2.2 Controle químico com inseticidas sintéticos	18
2.3 Controle biológico com parasitoides - <i>P. elaeisis</i>	19
2.4 Controle químico com inseticidas botânicos - óleo de neem	20
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	23
3.1 Material biológico e condições experimentais	23
3.2 Inseticidas	23
3.3 Toxicidade residual do óleo de neem às fêmeas adultas de <i>P. elaeisis</i>	23
3.4 Impactos na biologia de <i>P. elaeisis</i> nas gerações parental, F1, F2 e F3.....	23
3.5 Análises estatísticas	25
4 RESULTADOS	25
4.1 Dose-resposta.....	25
4.2 Parasitismo de fêmeas das gerações parentais, F1 e F2	25
4.3 Sobrevivência e longevidade de fêmeas das gerações parentais, F1, F2 e F3.....	27
4.4 Emergência dos parasitoides das gerações F1, F2 e F3.....	32
4.5 Razão Sexual, Morfometria e Período ovo-adulto dos parasitoides das gerações F1, F2 e F3	34
5 DISCUSSÃO	36
6 CONSIDERAÇÕES FINAIS	41
REFERÊNCIAS	42

1 INTRODUÇÃO

O ecossistema simplificado, provocado pelos monocultivos e florestas clonais, contribui para o aumento dos insetos praga no campo, aumentando a utilização indiscriminada de agrotóxicos. Em especial, são utilizados inseticidas de amplo espectro de ação, de fácil aquisição e eficientes no controle imediato dos insetos praga. Porém, o mau uso dos inseticidas sintéticos pode impactar negativamente inimigos naturais e polinizadores, provocar a contaminação ambiental, e favorecer o surgimento de pragas resistentes e secundárias, bem como sua ressurgência (PEREIRA; CALDEIRA; SOARES, 2016; TIAN *et al.*, 2018; LEACH; HOEPTING; NAULT, 2019).

Em programas de manejo integrado de pragas (MIP), quando ocorre a associação do controle biológico com o químico, é fundamental que os inseticidas sejam seletivos aos inimigos naturais (PEREIRA; CALDEIRA; SOARES, 2016). Deltametrina, uma das poucas moléculas autorizadas para uso na eucaliptocultura não foi seletiva ao endoparasitoide de pupas *Palmistichus elaeisis* Delvare e LaSalle 1993 (Hymenoptera: Eulophidae) (PEREIRA, 2016). Este parasitoide é promissor na eucaliptocultura, por se desenvolver no interior das pupas de lepidópteros desfolhadores (DELVARE; LASALLE, 1993; BITTENCOURT; BERTI FILHO, 1999; PEREIRA *et al.*, 2008), inviabilizando a emergência dos adultos desses insetos herbívoros (ALCÁNTARA-DE LA CRUZ *et al.*, 2017; BARBOSA *et al.*, 2016).

Inseticidas botânicos, como óleos e extratos de neem (*Azadirachta indica*), representam uma alternativa aos inseticidas sintéticos, uma vez que são considerados seguros para humanos e meio ambiente pela rápida degradação ambiental e baixa toxicidade a mamíferos (MONSREAL-CEBALLOS *et al.*, 2018; ALI *et al.*, 2018). No entanto, produtos de origem botânica podem não ser inócuos (MOSSA; MOHAFRASH; CHANDRASEKARAN, 2018). Sendo de extrema importância estudos sobre a seletividade aos parasitoides e predadores.

O objetivo desse estudo foi avaliar a seletividade do óleo de neem sobre *P. elaeisis* em três gerações consecutivas, por meio de avaliações de toxicidade aguda e crônica, em comparação à dose comercial do inseticida deltametrina.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Eucaliptocultura no Brasil

Os gêneros *Eucalyptus* pp. e *Corymbia* spp. (Myrtaceae) são originários da Austrália e ilhas vizinhas. Foram introduzidos no Brasil no ano 1824, onde apresentaram alta adaptabilidade devido às condições climáticas (PEREIRA; CALDEIRA; SOARES, 2016;

MONTOYA-ESTRADA *et al.*, 2019). As florestas plantadas ocupam 7,84 milhões de hectares no Brasil. São responsáveis por mais de 91% de toda madeira produzida para fins industriais no país, tendo representatividade na economia de 6,1% do PIB industrial (IBÁ, 2018).

O plantio florestal é feito com material genético uniforme, gerando um ecossistema simplificando (DITTRICH-SCHRÖDER *et al.*, 2018). Isso contribui para a redução de inimigos naturais na área, aumentando a susceptibilidade às pragas, uma vez que plantios homogêneos fornecem condições ambientais ideais e fonte constante de alimento e abrigo para herbívoros (PEREIRA; CALDEIRA; SOARES, 2016). Dentre os insetos nativos, os lepidópteros desfolhadores representam o segundo grupo principal de pragas do eucalipto, ficando atrás somente das formigas cortadeiras (ZACHÉ; ZACHÉ; WILCKEN, 2013).

Algumas espécies de lagartas que se alimentavam de mirtáceas nativas passaram a se alimentar do eucalipto após a sua introdução no território nacional (ZANUNCIO *et al.*, 1993; SANTOS; ZANUNCIO; ZANUNCIO, 2000). Um exemplo é *Thyriniteina arnobia* Stoll (Lepidoptera: Geometridae), a lagarta-parda-do-eucalipto, que ocorria naturalmente em goiabeiras e passou a se desenvolver em plantas de eucalipto (HOLTZ *et al.*, 2003a, 2003b), tornando-se um de seus principais desfolhadores (PASTORI *et al.*, 2012a, CAMILO *et al.*, 2015; HORTA *et al.*, 2018).

Várias outras espécies de lepidópteros são encontradas em plantações de eucalipto. Dentre elas *Eupseudosoma aberrans* Schaus e *Eupseudosoma involuta* Sepp (Lepidoptera: Arctiidae) (ZANUNCIO *et al.*, 2018), *Euselasia eucerus* Hewitson (Lepidoptera: Riodinidae) (ZANUNCIO *et al.*, 2009), *Hylesia nanus* Walker (Lepidoptera: Saturniidae) (MASSON *et al.*, 2017), *Podalia walkeri* Berg (Lepidoptera: Megalopygidae) (MENEZES *et al.*, 2013a), *Fulgurodes sartinaria* Guenée (Lepidoptera: Geometridae) (MENEZES *et al.*, 2013b), *Sarsina violascens* Herrich-Schaffer (Lepidoptera: Lymantriidae) (ZANUNCIO *et al.*, 2016a) e *Thyriniteina leucoceraea* Rindge (Lepidoptera: Geometridae) (GROSMAN *et al.*, 2017).

2.2 Controle químico com inseticidas sintéticos

O controle de lagartas desfolhadoras é feito, em sua maioria, com o método químico a base de inseticidas sintéticos, sendo o grupo dos piretroides amplamente utilizado na agricultura e silvicultura, devido a sua atividade inseticida superior (JI *et al.*, 2019). Os piretroides são estruturalmente divididos em dois grupos, com base na ausência (tipo I) ou presença (tipo II) de um grupo α -ciano na porção fenoxibenzil. Apesar de ambos serem neurotóxicos, diferem em seus efeitos primários agudos de alta dose. Os piretroides tipo I

agem principalmente nos nervos periféricos causando a Síndrome “T”, caracterizada por provocar tremores, convulsões e hipersensibilidade. Os do tipo II agem preferencialmente no sistema nervoso central, provocando coreoatetose e salivação, denominada Síndrome “CS” (SODERLUND, 2012; AWOYEMI *et al.*, 2019).

O Decis 25 CE (deltametrina 25 g/l CE [Concentrado emulsionável]), um piretroide tipo II, é um dos inseticidas mais utilizados para o controle de pragas na área agrícola e florestal, por ser de amplo espectro de ação e não apresentar persistência no solo (PEREIRA; CALDEIRA; SOARES, 2016). No entanto, devido ao amplo espectro, pode ser tóxico para predadores e parasitoides, como demonstrado em estudo com o parasitoide *P. elaeisis*, em que afetou parasitismo e emergência (PEREIRA, 2016).

A maior parte das moléculas sintéticas desenvolvidas para uso como inseticidas não apresentaram seletividade aos inimigos naturais, e associadas ao mau uso no campo podem favorecer a contaminação ambiental, a ressurgência de pragas, e o surgimento de pragas resistentes e secundárias (FORIM *et al.*, 2010; CHATTOPADHYAY; BANERJEE; MUKHERJEE, 2017; WEI *et al.*, 2019). Neste contexto, é crescente o interesse por métodos de controle alternativos ou complementares, como a utilização do controle biológico com parasitoides e controle químico a base de inseticidas botânicos (FORIM *et al.*, 2010; CAMILO *et al.*, 2015).

2.3 Controle biológico com parasitoides - *P. elaeisis*

O controle biológico consiste na utilização de inimigos naturais, insetos predadores ou parasitoides e entomopatógenos, que se alimentam ou causam doenças a outros insetos de forma natural no ecossistema, contribuindo para o controle das populações das pragas. Os parasitoides são importantes agentes, pois são eficientes no controle de seus hospedeiros e apresentam uma grande diversidade de espécies, destacando-se aquelas pertencentes às ordens Hymenoptera e Diptera (PEREIRA *et al.*, 2008).

Palmistichus elaeisis é um endoparasitoide da ordem Hymenoptera, de hábito gregário que se desenvolve naturalmente em diversas espécies da ordem Lepidoptera, dentre elas *Agraulis vanillae vanillae* Linnaeus (Lepidoptera: Nymphalidae) (RODRÍGUEZ-DIMATÉ *et al.*, 2016), *Citioica anthonilis* Herrich-Schaeffer (Lepidoptera: Saturniidae) (TAVARES *et al.*, 2012), *Hypsipyla grandella* Zeller (Lepidoptera: Pyralidae) (ZACHÉ *et al.*, 2013), *Thyrintina arnobia* Stolle, *Thyrintina leucoceraea* Rindge (Lepidoptera: Geometridae) (PEREIRA *et al.*, 2008) e *Urbanus proteus* Linnaeus (Lepidoptera: Hesperidae) (CANDELÁRIA; WILCKEN, 2014). Este parasitoide pode ser criado em pupas de hospedeiros alternativos da ordem Coleoptera, tais como, pupas de *Tenebrio molitor*

Linnaeus (Coleoptera: Tenebrionidae), que possui baixo custo de criação (ZANUNCIO *et al.*, 2008).

A espécie *P. elaeisis* inviabiliza a emergência dos adultos de insetos pragas (ALCÁNTARA-DE LA CRUZ *et al.*, 2017; BARBOSA *et al.*, 2016), apresentando grande potencial para ser utilizado no controle biológico de pragas florestais e agrícolas (TAVARES *et al.*, 2012; ZANUNCIO *et al.*, 2015).

2.4 Controle químico com inseticidas botânicos - óleo de neem

Os inseticidas botânicos possuem vantagens em relação aos inseticidas sintéticos, pois geralmente apresentam baixa toxicidade humana, degradação rápida e baixo impacto ambiental (FORIM *et al.*, 2010; ALI *et al.*, 2018). Além disso, podem apresentar seletividade a organismos não alvos (FRANCESENA; SCHNEIDER, 2018) o que os tornam promissores na utilização com outros métodos de controle no MIP (ZANUNCIO *et al.*, 2016b).

Dentre as inúmeras plantas com poder inseticida, tem-se o neem, *Azadirachta indica* A. Juss, pertencente à família Meliaceae, de origem indiana. Esta espécie desenvolve-se em florestas de regiões tropicais e subtropicais, e em regiões de semiárido e solos degradados com baixa fertilidade (NEVES *et al.*, 2013; SIEGWART *et al.*, 2015). No Brasil, *A. indica* foi introduzida pelo Instituto Agrônomo do Paraná (IAPAR) em 1986. Foram utilizadas sementes originárias das Filipinas, para fins de pesquisas a respeito da ação inseticida da planta. Posteriormente, o mesmo instituto obteve sementes da Índia, Nicarágua e República Dominicana, nos anos de 1989 e 1990, para avaliar o desenvolvimento da espécie em diferentes localidades brasileiras (BITTENCOURT *et al.*, 2009).

Na casca, folhas, frutos, e sementes da árvore de neem são encontrados inúmeros compostos ativos, principalmente o limonoide azadiractina (C₃₅H₄₄O₁₆) que é encontrado em maior quantidade na árvore. A presença de azadiractina varia de uma árvore para outra, dependendo da região e condições climáticas na qual ela se encontra, e na mesma árvore conforme as estações do ano (SIEGWART *et al.*, 2015; ZANUNCIO *et al.*, 2016b; ZHENG *et al.*, 2018).

Os seus principais ingredientes ativos têm efeito tóxico sobre mais de 200 espécies de organismos, entre eles, insetos, ácaros, carrapatos, aranhas, fungos e bactérias. Em insetos, já foi relatado o controle de aproximadamente 500 espécies de pragas, principalmente aquelas pertencentes às ordens Orthoptera e Lepidoptera. Seus compostos apresentam baixa toxicidade aos vertebrados e baixa persistência no ambiente (FORIM *et al.*, 2010; KENI; LATIP, 2013; SIEGWART *et al.*, 2015).

Azadiractina pode repelir os insetos, diminuir, ou até mesmo paralisar a alimentação, e interferir na fisiologia dos mesmos, provocando efeitos diretos ou indiretos. Os efeitos diretos são exercidos em células e tecidos dos insetos, sendo observada a paralisia flácida dos músculos, necrose das células do intestino médio, a perda de células regenerativas do intestino, e a falta de produção de enzimas intestinais. Por outro lado, os efeitos indiretos afetam o sistema endócrino. A azadiractina atinge o sistema neurosecretor e isso provoca o bloqueio, por exemplo, do hormônio protoracicotrópico -PTTH, que controla a função das glândulas protorácicas e dos corpos alata, responsáveis pela formação de cutícula e ecdise, e da quantidade de hormônio juvenil. Desta forma, os produtos à base de neem, podem provocar nos insetos, efeitos semelhantes aos provocados por inseticidas reguladores de crescimento e inibidores de quitina, como impedir o desenvolvimento dos insetos. A azadiractina, ainda pode provocar consequências negativas no processo reprodutivo masculino e feminino, reduzindo a fecundidade e fertilidade, como por exemplo, inibir a ovogênese e a síntese de ecdisteroide ovariano, impedindo a oviposição das fêmeas, e interromper processos meióticos responsáveis pela produção de esperma maduro dos machos (MORDUE; NISBET, 2000; SIEGWART *et al.*, 2015).

O modo de ação da azadiractina torna os produtos à base de neem, inseticidas de amplo espectro de ação, que vão atingir uma vasta diversidade de insetos, pragas, inimigos naturais e polinizadores. Diante disso, são crescentes os estudos que buscam respostas quanto aos efeitos letais e subletais de inseticidas a base de neem, sobre organismos não alvos.

Em estudo com o zangão de *Bombus terrestris* Linnaeus (Hymenoptera: Apidae), a azadiractina provocou diversos efeitos subletais, quando os polinizadores foram expostos via oral a diferentes concentrações de azadiractina, acima e abaixo do recomendado (32 mg L⁻¹) (BARBOSA *et al.*, 2015). Em outro estudo, adultos e larvas de abelhas, foram alimentados com dietas contendo duas concentrações diferentes de neem, que causaram o aumento da mortalidade, sendo as larvas mais sensíveis, com redução na sobrevivência em todas as concentrações testadas (LOPES AMARAL *et al.*, 2015). Em rainhas de *Partamona helleri* Friese (Hymenoptera: Apidae: Meliponini), a azadiractina provocou redução na sobrevivência, alterou o tempo de desenvolvimento, causou deformações e redução no tamanho dos órgãos reprodutores (BERNARDES *et al.*, 2018).

O predador *Coccidophilus citricola* Brèthes (Coleoptera: Coccinellidae), teve um alto nível de mortalidade, provocado pela emulsão aquosa a 3% do produto NatuneemTM (FORTI BROGLIO *et al.*, 2014). O percevejo predador *Podisus nigrispinus* Dallas (Hemiptera: Pentatomidae), também foi afetado por concentrações de 1,0 a 50% do óleo de

neem. Sua sobrevivência e crescimento foram mais baixos, e ocorreram anomalias nas asas, escutelo e pernas (ZANUNCIO *et al.*, 2016b). Em outro estudo, o parasitoide de ovos *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae), parasitou menos de 70% dos ovos de seu hospedeiro, quando estes foram expostos ao óleo de neem comercial Organic Neem[®] (773 mg/L de azadiractina) a 0,2% (RAMPELOTTI-FERREIRA *et al.*, 2017).

Estudos de toxicidade e impactos do neem em organismos não alvos são importantes no contexto do MIP, onde se busca adotar métodos de controle que sejam compatíveis, com base no custo/benefício e que consideram os impactos sobre os produtores, sociedade e ambiente (KOGAN, 1998). No MIP é imprescindível que os produtos químicos utilizados, tanto sintéticos quanto os de origem botânica, sejam seletivos aos principais organismos benéficos presentes nos ecossistemas.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Material biológico e condições experimentais

Fêmeas de *P. elaeisis* e seu hospedeiro alternativo *T. molitor* foram obtidos das criações mantidas no Laboratório de Controle Biológico de Insetos– LCBI da Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri - UFVJM, em Diamantina, estado de Minas Gerais, Brasil.

Todos os experimentos foram conduzidos em sala climatizada com temperatura variando entre 23 e 27°C, umidade relativa de 60 a 80% e fotoperíodo de 12 h, no LCBI.

3.2 Inseticidas

Foi utilizado o óleo de neem, produto comercial Sempre Verde Killer Neem[®], 6000 ppm de azadiractina (0,30%), inseticida natural de amplo espectro de ação (Bonigo Indústria e Comércio LTDA), nas concentrações de 0; 0,187; 0,375; 0,750; 1,5; 3,0 e 6,0%. A concentração de 1,5% correspondeu à dose recomendada pelo fabricante, e 0%, água destilada, utilizada como solvente e testemunha. O inseticida Decis 25 CE[®] (deltametrina, 25 g/L CE), foi utilizado neste trabalho para comparar os impactos de um inseticida botânico e um sintético não seletivo para o parasitoide objeto do estudo (PEREIRA, 2016). Para isso, utilizou-se a concentração máxima de deltametrina recomendada para o controle de lagartas desfolhadoras no eucalipto, 33,3 mg/L (0,0264 mL em 20 mL de solvente).

3.3 Toxicidade residual do óleo de neem às fêmeas adultas de *P. elaeisis*

Fêmeas adultas de *P. elaeisis* com menos de 48h de idade, foram separadas e alimentadas com mel, 24h antes da exposição ao óleo de neem. Alíquotas de 100 µl de solução com as concentrações de 0 a 6,0% do óleo de neem foram pipetadas e espalhadas por todo interior de frascos de vidro tipo penicilina, com volume de 13 mL, 58 mm de altura e 27 mm de diâmetro. Após completa secagem do solvente, vinte fêmeas parasitoides foram introduzidas, e permaneceram expostas ao tratamento durante 48h. Após esse intervalo, realizou-se a contagem do número de indivíduos mortos e vivos, para determinação da relação dose-resposta e estimativa da CL₅₀ (VELOSO *et al.*, 2013).

O estudo foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado (DIC), contendo sete tratamentos com quatro repetições cada, sendo a repetição um frasco de vidro com a concentração do respectivo tratamento contendo vinte fêmeas adultas do parasitoide.

3.4 Impactos na biologia de *P. elaeisis* nas gerações parental, F1, F2 e F3

Fêmeas recém-emergidas de *P. elaeisis* foram sexadas com base nas características morfológicas da antena e do abdome (DELVARE; LASALLE, 1993). Foram colocadas seis fêmeas em cada tubo de ensaio de vidro (18 x 180 mm), vedado com um

chumaço de algodão, contendo uma gotícula de mel para alimentação e uma pupa de *T. molitor* do respectivo tratamento, representando uma unidade amostral. Oitenta pupas de *T. molitor* com menos de 24h de idade (coloração mais clara que as demais pupas encontradas na criação), foram imersas por cinco segundos (RAMPELOTTI-FERREIRA *et al.*, 2017) em 20 mL de solução (dez em cada tratamento), posteriormente colocadas em papel toalha para absorção do solvente. As pupas tratadas foram expostas ao parasitismo das fêmeas de *P. elaeisis* durante 72h (CANDELÁRIA; WILCKEN, 2014). Após este período foram transferidas para potes plásticos de 250 mL. Fêmeas recém-emergidas (geração F1) das pupas tratadas, foram sexadas e colocadas em número de seis em cada tubo de ensaio com uma gotícula de mel e uma pupa de *T. molitor* não tratada para parasitismo por 72h. Após este período as pupas foram transferidas para potes plásticos de 250 mL, até a emergência da geração F2, na qual foi feito o mesmo procedimento da geração F1, até o surgimento da geração F3. Em todas as gerações as fêmeas permaneceram nos tubos de ensaio para avaliações.

O estudo foi conduzido em DIC, com dez repetições em cada tratamento. Foram oito tratamentos nas avaliações com as fêmeas parentais e cinco nas demais gerações, devido às concentrações de 3,0 e 6,0% do óleo de neem e a dose de Decis impossibilitarem o parasitismo das fêmeas parentais de *P. elaeisis*.

Parasitismo (%), longevidade (dias), probabilidade de sobrevivência (%), risco de morte, emergência, razão sexual (RS = número de fêmeas emergidas/ total de parasitoides emergidos), morfometria (mm) e período ovo-adulto (dias) das gerações parental, F1, F2 e F3 foram avaliados. O parasitismo foi determinado a partir da mudança de coloração das pupas, sendo pupas com coloração amarronzada, consideradas parasitadas. O parasitismo da geração F3 não foi avaliado. A longevidade foi obtida por meio da avaliação diária da sobrevivência das fêmeas, até a morte completa dos indivíduos. A probabilidade e o risco de morte foram obtidos a partir dos dados de longevidade. Emergência e cálculo da razão sexual foram obtidos pela contagem do número de fêmeas e machos emergidos por pupa. A morfometria foi obtida pelo tamanho da cápsula cefálica, na altura mediana dos olhos e o tamanho da tíbia posterior de uma fêmea de cada repetição, escolhida ao acaso. As medições foram realizadas com o auxílio de uma câmera Optika OPTIKAM B5 acoplada a um microscópio estereoscópico, utilizando o software Optika Vision Lite 2.1. O período ovo-adulto foi obtido por meio da contagem em dias do intervalo entre a data de parasitismo e emergência da nova geração.

3.5 Análises estatísticas

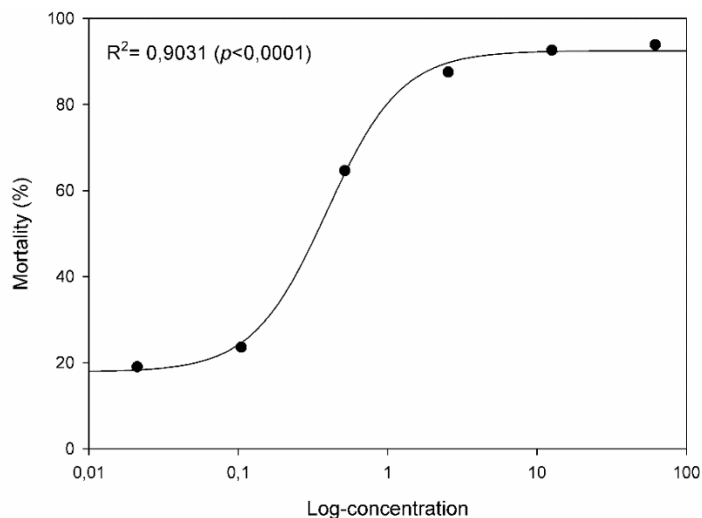
A relação dose-resposta foi obtida a partir do modelo logaritmo logístico, e assim calculada também a CL_{50} . O parasitismo foi avaliado pelo Teste de Kruskal-Wallis a 5% de significância. A probabilidade de sobrevivência das fêmeas de *P. elaeisis* foi analisada pelo modelo Kaplan-Meier, pelo teste de Log-Rank e pela regressão de Cox (modelo de risco proporcional). Longevidade, emergência, razão sexual, morfometria e período ovo-adulto foram submetidos à Análise de Variância (ANOVA) e as médias comparadas pelo Teste de Tukey a 5% de significância. Todos com o auxílio do software RStudio Desktop 1.1.463 (MENEZES *et al.*, 2014; NESI *et al.*, 2015; HELPS; PAVELEY; BOSCH, 2017).

4 RESULTADOS

4.1 Dose-resposta

A porcentagem de mortalidade de *P. elaeisis* aumentou com o incremento das concentrações do óleo de neem ($R^2 = 0,9031$, $P < 0,0001$; Figura 1). A CL_{50} foi estimada na concentração de 0,3916% ($P = 0,0081$).

Figura 1 - Curva dose-resposta para determinação da toxicidade do óleo de neem em fêmeas de *Palmistichus elaeisis* Delvare & LaSalle 1993 (Hymenoptera: Eulophidae). O eixo y representa a probabilidade de sobrevivência (%). O eixo x representa as concentrações do óleo de neem. Temp.: $25 \pm 2^\circ\text{C}$, UR: $70 \pm 10\%$ e fotoperíodo: 12h

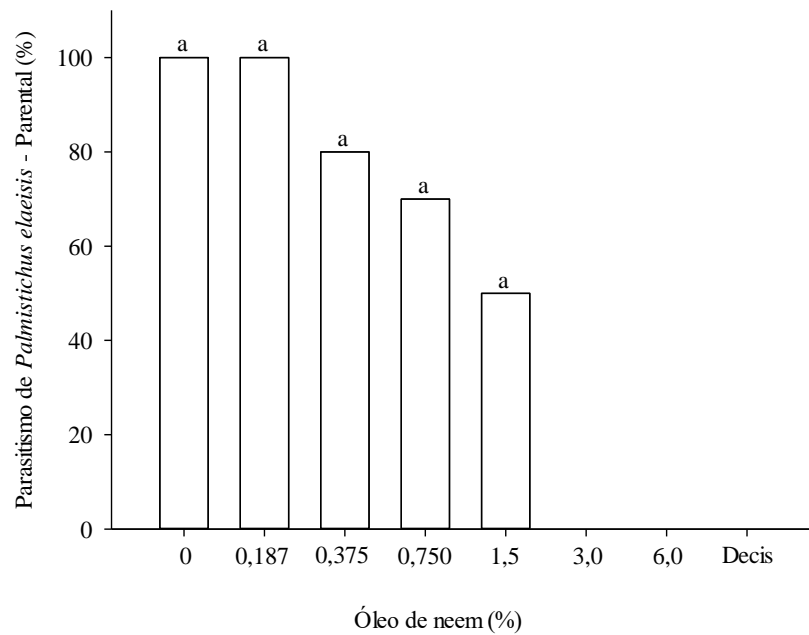


Fonte: Elaborada pelo autor.

4.2 Parasitismo de fêmeas das gerações parentais, F1 e F2

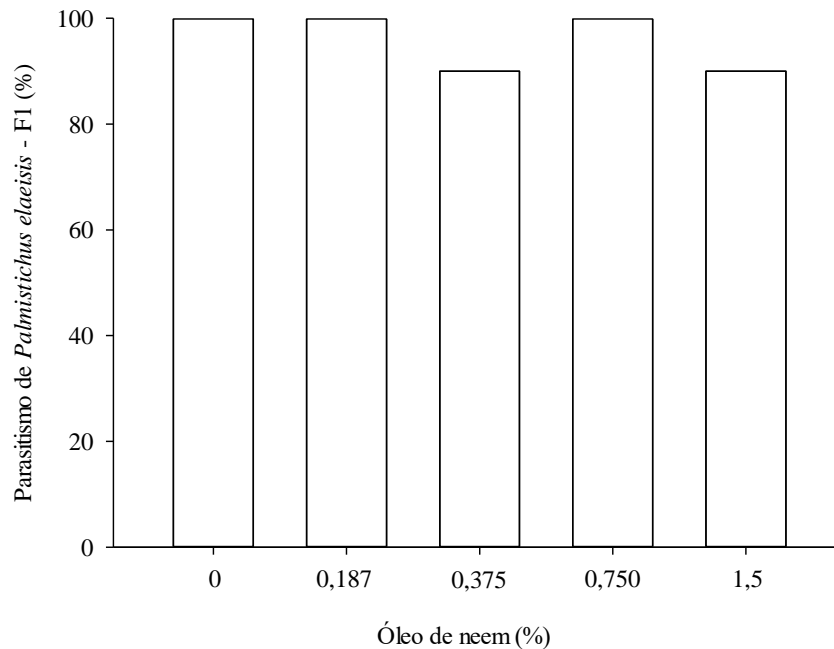
A porcentagem de parasitismo das fêmeas parentais de *P. elaeisis* foi reduzida a zero nas concentrações acima do recomendado para o óleo de neem, semelhante à dose máxima recomendada de deltametrina. Ambos foram diferentes dos demais tratamentos, que apresentaram um decréscimo no índice de parasitismo de 100 a 50%, inversamente proporcional às concentrações do óleo (Figura 2). O índice de parasitismo foi igual entre os tratamentos nas gerações F1 (Figura 3) e F2 (Figura 4).

Figura 2 - Porcentagem de pupas de *Tenebrio molitor* Linnaeus (Coleoptera: Tenebrionidae) parasitadas por *Palmistichus elaeisis* Delvare & LaSalle 1993 (Hymenoptera: Eulophidae), submetidas às diferentes concentrações de óleo de neem e à dose máxima recomendada de deltametrina (Decis 25 CE®). Temp.: $25 \pm 2^\circ\text{C}$, UR: $70 \pm 10\%$ e fotoperíodo: 12h



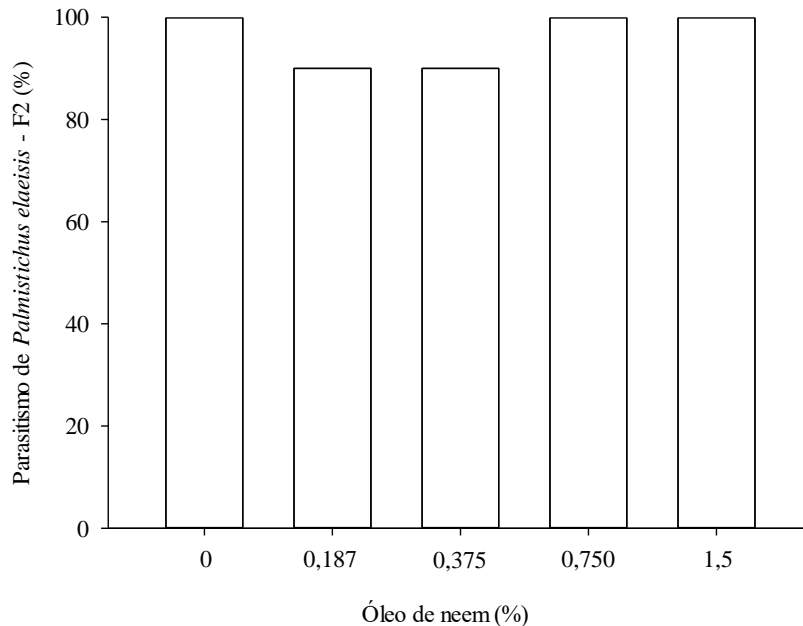
Fonte: Elaborada pelo autor.

Figura 3 - Porcentagem de pupas de *Tenebrio molitor* Linnaeus (Coleoptera: Tenebrionidae) parasitadas pela geração F1 de *Palmistichus elaeisis* Delvare & LaSalle 1993 (Hymenoptera: Eulophidae) submetidos indiretamente às diferentes concentrações de óleo de neem. Temp.: $25 \pm 2^\circ\text{C}$, UR: $70 \pm 10\%$ e fotoperíodo: 12h



Fonte: Elaborada pelo autor.

Figura 4 - Porcentagem de pupas de *Tenebrio molitor* Linnaeus (Coleoptera: Tenebrionidae) parasitadas pela geração F2 de *Palmistichus elaeisis* Delvare & LaSalle 1993 (Hymenoptera: Eulophidae) submetidos indiretamente às diferentes concentrações de óleo de neem. Temp.: $25 \pm 2^\circ\text{C}$, UR: $70 \pm 10\%$ e fotoperíodo: 12h



Fonte: Elaborada pelo autor.

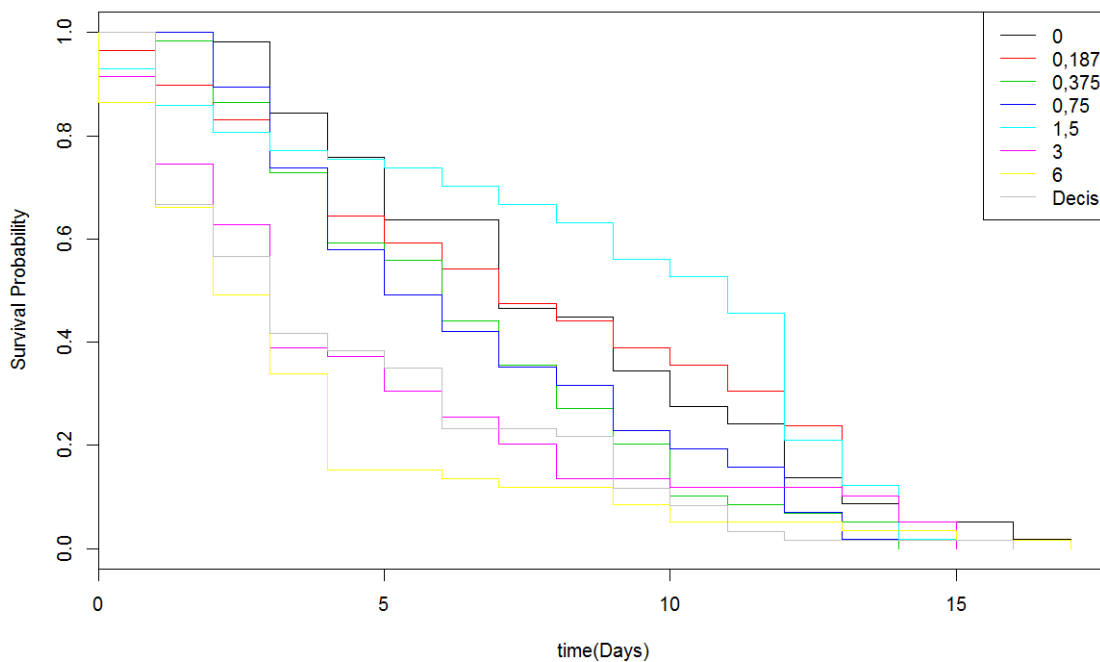
4.3 Sobrevivência e longevidade de fêmeas das gerações parentais, F1, F2 e F3

Quanto à sobrevivência pelo método de Kaplan-Meier, nas condições experimentais, no primeiro dia a população parental apresentou aproximadamente 2,5% de risco de morte nas concentrações 0,0; 0,187 e 0,375%, aproximadamente 10,5% nas concentrações 0,75; 1,5; 3,0 e 6,0%, e de aproximadamente 34% na dose de deltametrina. No décimo dia a testemunha apresentou quase 73% de risco de morte, a concentração recomendada de neem (1,5%) apresentou 48%, e a concentração 6% e deltametrina apresentaram quase 99% de risco (Figura 5). A sobrevivência foi diferente entre os tratamentos ($X^2 = 55,5$; $df = 6$; $p = 4e-10$). Na geração F1 a sobrevivência de fêmeas de *P. elaeisis* também foi afetada pelos tratamentos ($X^2 = 16,3$, $df = 4$, $p = 0,003$). No décimo sexto dia a população F1 apresentou 92% de risco de morte na concentração recomendada de neem (1,5%), enquanto na testemunha apresentavam ainda aproximadamente 72%. A probabilidade de morte chegou a 100% no décimo oitavo dia, quando exposta a concentração 1,5% (Figura 6). A probabilidade de sobrevivência da geração F2 apresentou diferença entre as concentrações ($X^2 = 39$, $df = 4$, $p = 7e-08$). No quinto dia a concentração 0,187% de neem apresentou quase 20% de risco de morte para fêmeas da população F2. No vigésimo dia a concentração 1,5% apresentou quase 100% de risco (Figura 7). Na geração F3 as concentrações de neem não afetaram a sobrevivência das fêmeas ($X^2 = 3$, $df = 4$, $p = 0,6$).

Todas as concentrações ofereceram risco de morte de quase 100% para a população F3, após o vigésimo quinto dia (Figura 8).

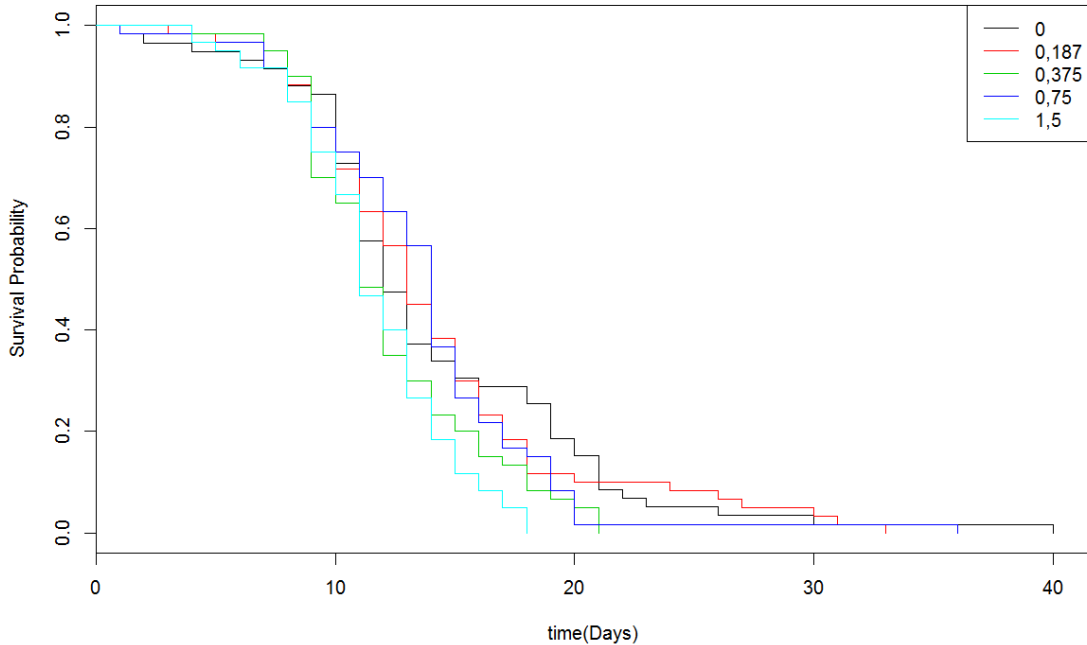
A razão de risco (regressão de Cox) para a sobrevivência da população parental foi maior na concentração de 6,0% de neem (2,5507) e menor na de 1,5% (0,8918) ($\text{cox} = 42,48$, $df = 6$, $p = 1\text{e-}07$). Na geração F1 a concentração de 1,5% apresentou maior índice (1,905). No entanto, todas as concentrações apresentaram risco maior que 1,0 ($\text{cox} = 16,38$, $df = 4$, $p = 0,003$). Também para a geração F2, a concentração 1,5% apresentou maior risco à sobrevivência da população (2,6819), e 0,75% foi a concentração que apresentou menor índice ($\text{cox} = 35,98$, $df = 4$, $p = 3\text{e-}07$). Todas as concentrações apresentaram índice menores que 1,0 para a sobrevivência da geração F3 ($\text{cox} = 2,71$, $df = 4$, $p = 0,6$) (Tabela 1).

Figura 5 - Estimativa de probabilidade de sobrevivência de Kaplan-Meier. O eixo y representa a probabilidade de sobrevivência de fêmeas de *Palmistichus elaeisis* Delvare & LaSalle 1993 (Hymenoptera: Eulophidae) da geração parental submetidas às diferentes concentrações do óleo de neem e à dose máxima recomendada do inseticida deltametrina (Decis 25 CE®). O eixo x representa o tempo (dias) de observação. Temp.: $25 \pm 2^\circ\text{C}$, UR: $70 \pm 10\%$ e fotoperíodo: 12h



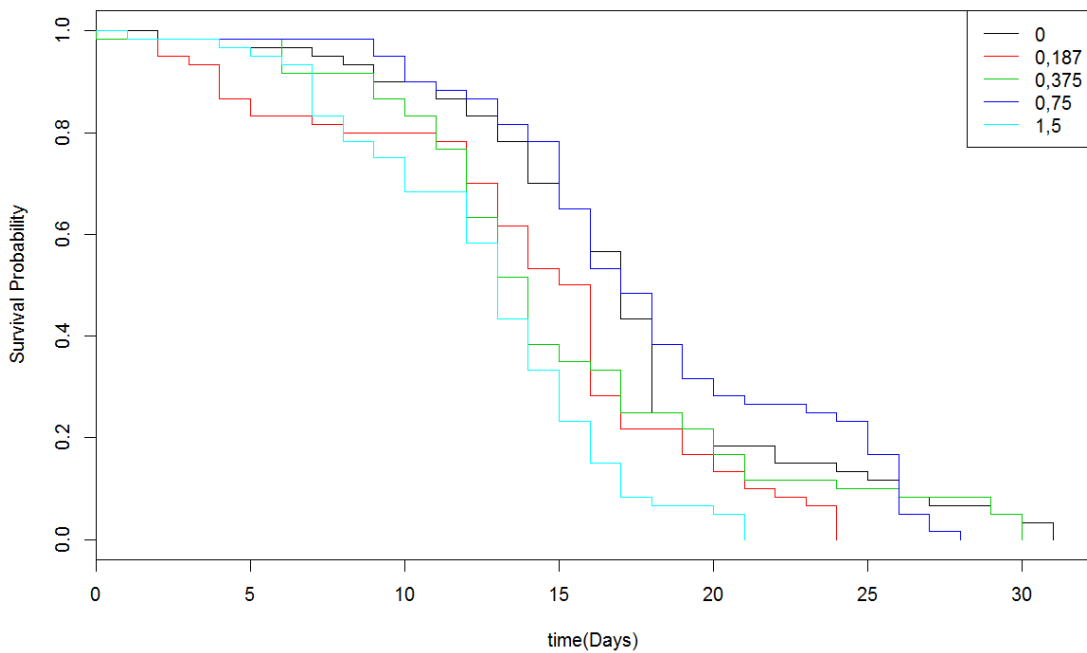
Fonte: Elaborada pelo autor.

Figura 6 - Estimativa de probabilidade de sobrevivência de Kaplan-Meier. O eixo y representa a probabilidade de sobrevivência de fêmeas de *Palmistichus elaeisis* Delvare & LaSalle 1993 (Hymenoptera: Eulophidae) da geração F1 submetidas indiretamente às diferentes concentrações do óleo de neem. O eixo x representa o tempo (dias) de observação. Temp.: $25 \pm 2^\circ\text{C}$, UR: $70 \pm 10\%$ e fotoperíodo: 12h



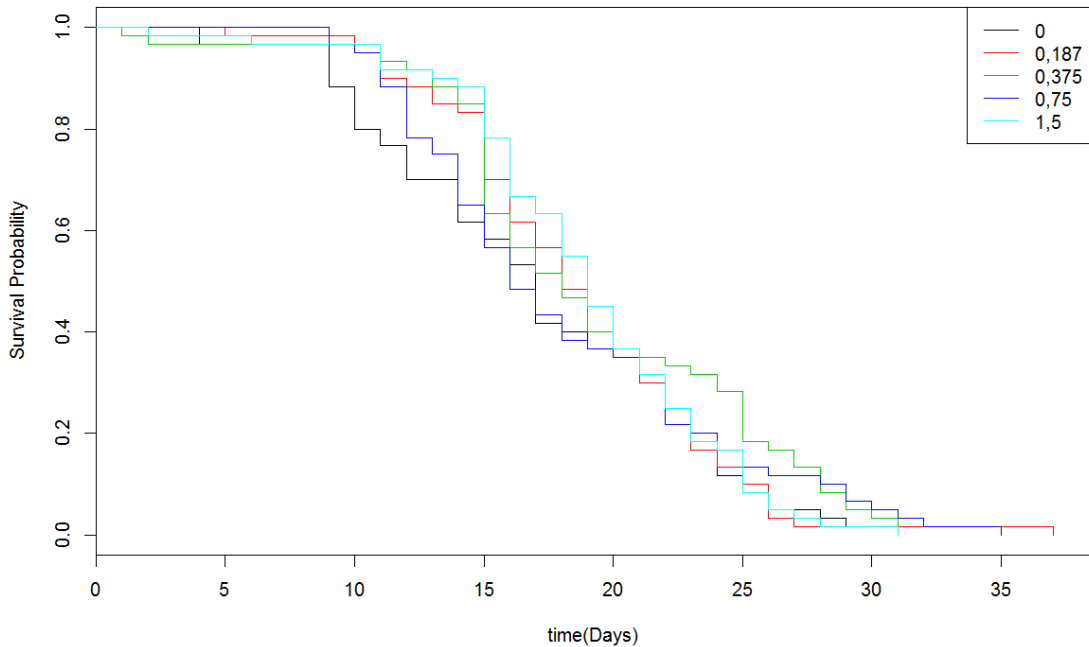
Fonte: Elaborada pelo autor.

Figura 7 - Estimativa de probabilidade de sobrevivência de Kaplan-Meier. O eixo y representa a probabilidade de sobrevivência de fêmeas de *Palmistichus elaeisis* Delvare & LaSalle 1993 (Hymenoptera: Eulophidae) da geração F2 submetidas indiretamente às diferentes concentrações do óleo de neem. O eixo x representa o tempo (dias) de observação. Temp.: $25 \pm 2^\circ\text{C}$, UR: $70 \pm 10\%$ e fotoperíodo: 12h



Fonte: Elaborada pelo autor.

Figura 8 - Estimativa de probabilidade de sobrevivência de Kaplan-Meier. O eixo y representa a probabilidade de sobrevivência de fêmeas de *Palmistichus elaeisis* Delvare & LaSalle 1993 (Hymenoptera: Eulophidae) da geração F3 submetidas indiretamente às diferentes concentrações do óleo de neem. O eixo x representa o tempo (dias) de observação. Temp.: $25 \pm 2^\circ\text{C}$, UR: $70 \pm 10\%$ e fotoperíodo: 12h



Fonte: Elaborada pelo autor.

A longevidade das fêmeas parentais de *P. elaeisis* que tiveram contato com pupas de *T. molitor* tratadas com a dose recomendada do óleo de neem, 1,5%, foi igual à testemunha, apresentando as maiores médias. Diferente da dose mais alta do neem, de 6,0%, e da dose recomendada de deltametrina, 33,3 mg/L (Figura 9). As médias da longevidade das fêmeas da geração F1(Figura10), F2 (Figura11) e F3(Figura12), foram semelhantes entre os tratamentos.

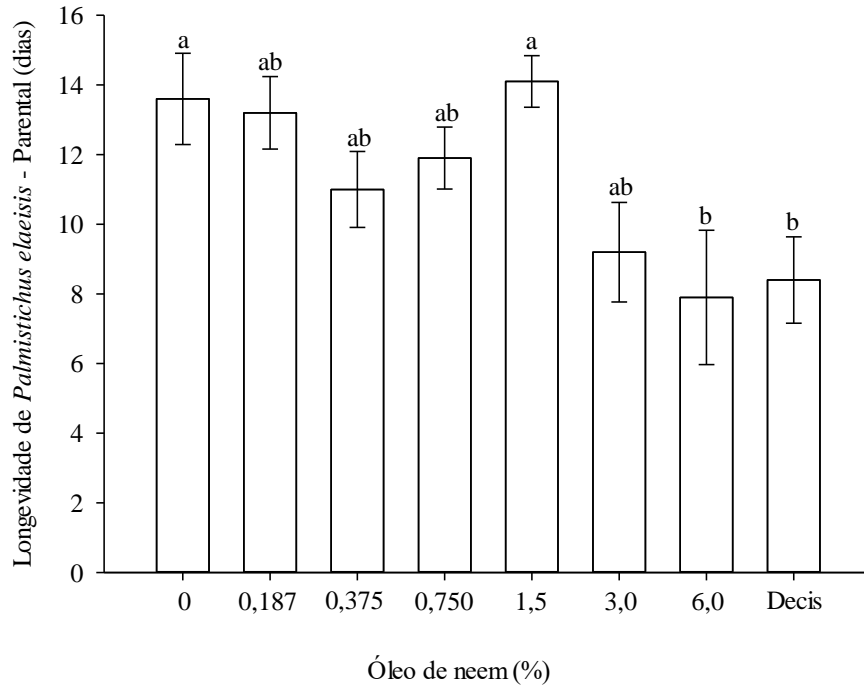
Tabela 1 - Razão de risco pela regressão de Cox das concentrações do óleo de neem à sobrevivência de *Palmistichus elaeisis* Delvare & LaSalle 1993 (Hymenoptera: Eulophidae) nas gerações parental, F1, F2 e F3. Temp.: $25 \pm 2^\circ\text{C}$, UR: $70 \pm 10\%$ e fotoperíodo: 12h

Óleo de Neem (%)	Razão de Risco			
	Parental	F1	F2	F3
0,187	1.0444	1.059	1.7072	0.8794
0,375	1.4679	1.573	1.3694	0.7404
0,750	1.4077	1.143	0.9739	0.8559
1,50	0.8918	1.905	2.6819	0.8528
3,00	1.7576	-	-	-
6,00	2.5507	-	-	-
<i>P</i> -valor	1e-07	0,003	7e-07	0,6

Fonte: Elaborada pelo autor

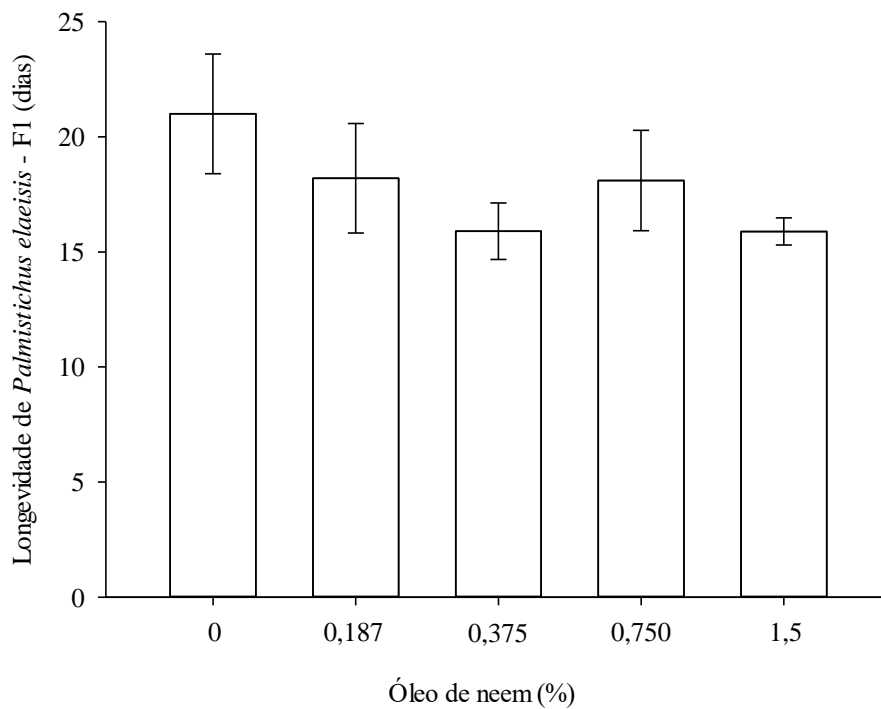
Quanto maior o valor da razão de risco, maior o efeito negativo para a sobrevivência.

Figura 9 - Média (\pm EP) da longevidade de fêmeas de *Palmistichus elaeisis* Delvare & LaSalle 1993 (Hymenoptera: Eulophidae) que tiveram contato com pupas de *Tenebrio molitor* Linnaeus (Coleoptera: Tenebrionidae) expostas às diferentes concentrações de óleo de neem e à dose máxima recomendada de deltametrina (Decis 25 CE®). Temp.: $25 \pm 2^\circ\text{C}$, UR: $70 \pm 10\%$ e fotoperíodo: 12h



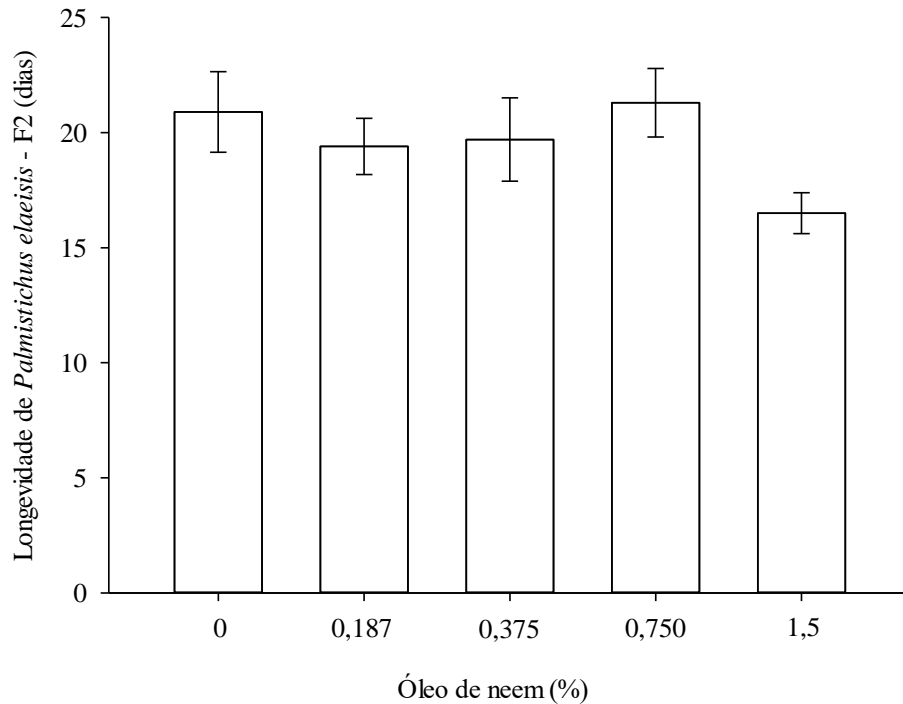
Fonte: Elaborada pelo autor.

Figura 10 - Média (\pm EP) da longevidade de fêmeas da geração F1 de *Palmistichus elaeisis* Delvare & LaSalle 1993 (Hymenoptera: Eulophidae) submetidas indiretamente às diferentes concentrações de óleo de neem. Temp.: $25 \pm 2^\circ\text{C}$, UR: $70 \pm 10\%$ e fotoperíodo: 12h



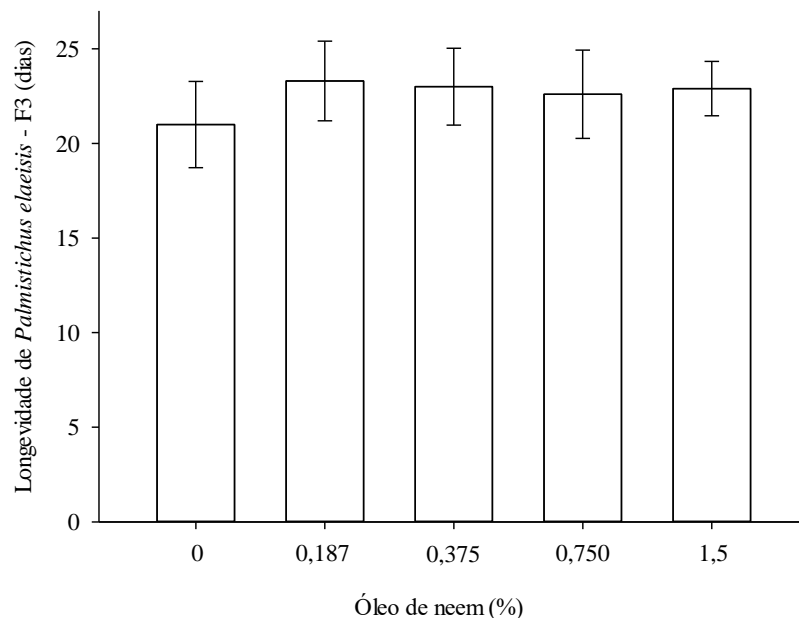
Fonte: Elaborada pelo autor.

Figura 11 - Média (\pm EP) da longevidade de fêmeas da geração F2 de *Palmistichus elaeisis* Delvare & LaSalle 1993 (Hymenoptera: Eulophidae) submetidas indiretamente às diferentes concentrações de óleo de neem. Temp.: $25 \pm 2^\circ\text{C}$, UR: $70 \pm 10\%$ e fotoperíodo: 12h



Fonte: Elaborada pelo autor.

Figura 12 - Média (\pm EP) da longevidade de fêmeas da geração F3 de *Palmistichus elaeisis* Delvare & LaSalle 1993 (Hymenoptera: Eulophidae) submetidas indiretamente às diferentes concentrações de óleo de neem. Temp.: $25 \pm 2^\circ\text{C}$, UR: $70 \pm 10\%$ e fotoperíodo: 12h



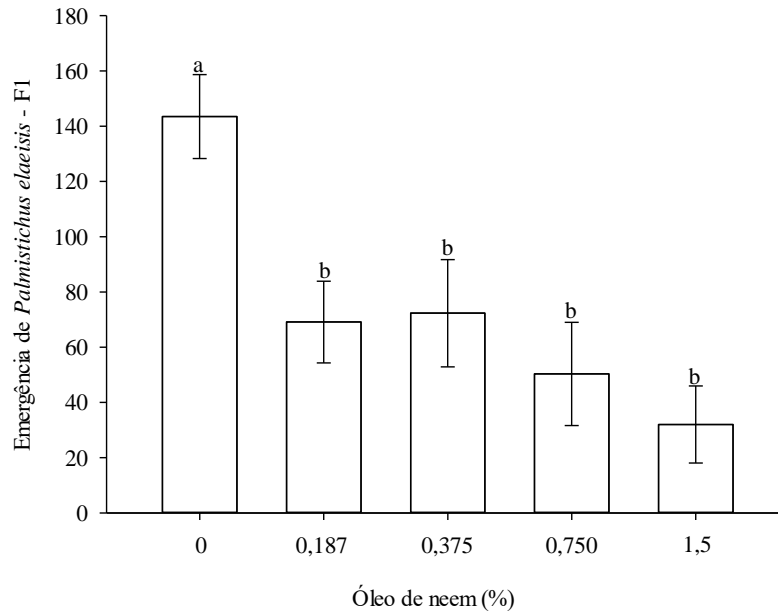
Fonte: Elaborada pelo autor.

4.4 Emergência dos parasitoides das gerações F1, F2 e F3

O número de indivíduos emergidos por pupa na geração F1 foi reduzido pelas concentrações do óleo de neem, diferente da testemunha, que apresentou maior média

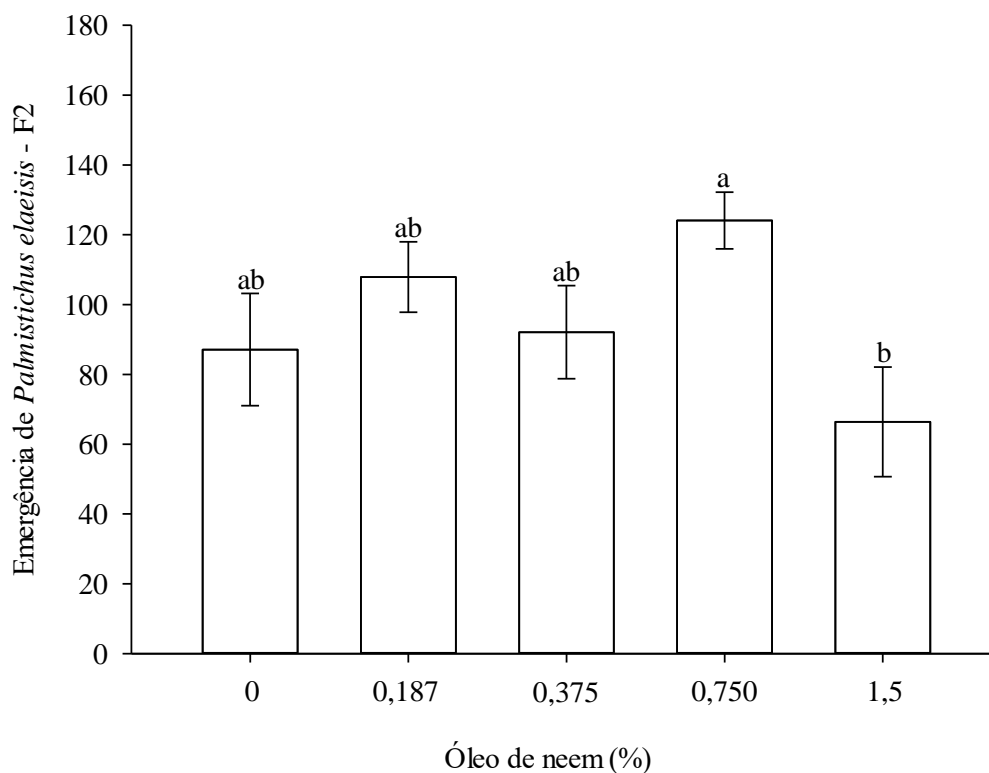
(Figura13). Na geração F2, a menor média foi na dose comercial do óleo de neem, 1,5%, diferente da concentração de 0,750% (Figura 14). A emergência de *P. elaeisis* na geração F3 foi semelhante entre os tratamentos (Figura 15).

Figura 13 - Média \pm (EP) do número de *Palmistichus elaeisis* (Hymenoptera: Eulophidae) da geração F1, emergidos por pupa de *Tenebrio molitor* (Coleoptera: Tenebrionidae) submetidos indiretamente às diferentes concentrações de óleo de neem. Temp.: $25 \pm 2^\circ\text{C}$, UR: $70 \pm 10\%$ e fotoperíodo: 12h



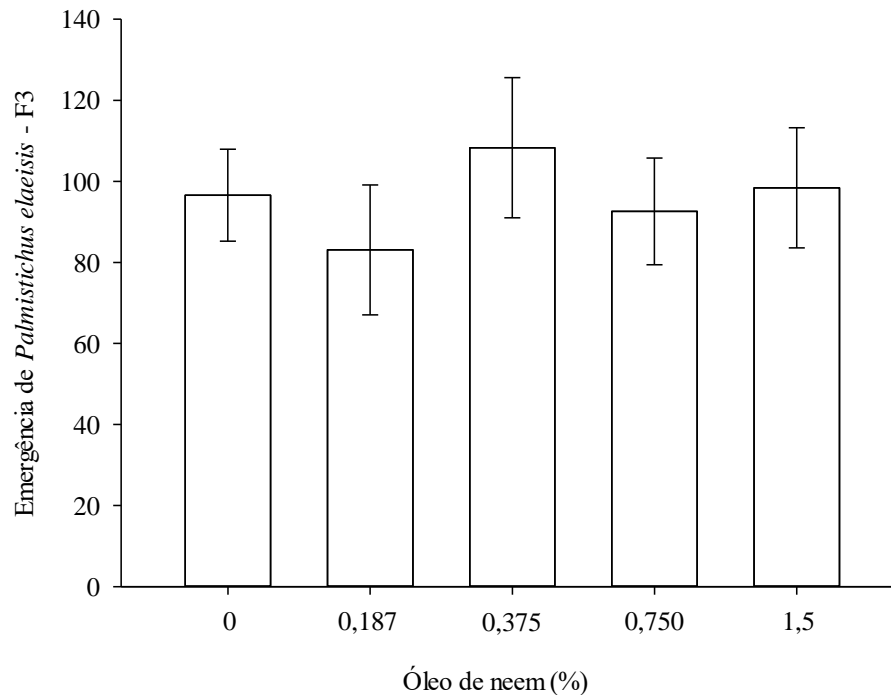
Fonte: Elaborada pelo autor.

Figura 14 - Média \pm (EP) do número de *Palmistichus elaeisis* (Hymenoptera: Eulophidae) da geração F2, emergidos por pupa de *Tenebrio molitor* (Coleoptera: Tenebrionidae) submetidos indiretamente às diferentes concentrações de óleo de neem. Temp.: $25 \pm 2^\circ\text{C}$, UR: $70 \pm 10\%$ e fotoperíodo: 12h



Fonte: Elaborada pelo autor.

Figura 15 - Média \pm (EP) do número de *Palmistichus elaeisis* (Hymenoptera: Eulophidae) da geração F3, emergidos por pupa de *Tenebrio molitor* (Coleoptera: Tenebrionidae) submetidos indiretamente às diferentes concentrações de óleo de neem. Temp.: $25 \pm 2^\circ\text{C}$, UR: $70 \pm 10\%$ e fotoperíodo: 12h



Fonte: Elaborada pelo autor.

4.5 Razão Sexual, Morfometria e Período ovo-adulto dos parasitoides das gerações F1, F2 e F3

A razão sexual de *P. elaeisis*, foi acima de 80% em todas as gerações. Nas gerações F1 e F3 as médias foram semelhantes entre os tratamentos. Na geração F2, a média da testemunha foi diferente da concentração de 0,187% (Tabela 2).

O tamanho da cápsula cefálica e tibia posterior de *P. elaeisis* na geração F1 foi menor na testemunha, diferente das doses de 0,187; 0,750 e 1,5%. A morfometria na dose de 0,375% foi semelhante a todos os tratamentos. Nas gerações F2 e F3, a morfometria foi igual entre os tratamentos (Tabela 2).

O período ovo-adulto de *P. elaeisis* na geração F1, foi maior nas concentrações do óleo de neem, diferente da testemunha, com menor média. As gerações F2 e F3 tiveram o período ovo-adulto semelhantes entre os tratamentos (Tabela 2).

Tabela 2 - Média \pm (EP) da razão sexual, tamanho da cápsula cefálica e tibia posterior (mm) e período ovo-adulto (dias) das gerações F1, F2 e F3 de *Palmistichus elaeisis* (Hymenoptera: Eulophidae), submetidos indiretamente às diferentes concentrações do óleo de neem. Temp.: $25 \pm 2^\circ\text{C}$, UR: $70 \pm 10\%$ e fotoperíodo: 12h

Parâmetros	Óleo de Neem (%)				
	0	0,187	0,375	0,750	1,50
Geração F1					
Razão Sexual ¹	0,85 \pm 0,02	0,87 \pm 0,03	0,90 \pm 0,02	0,88 \pm 0,03	0,90 \pm 0,02
Cápsula Cefálica ²	0,47 \pm 0,01 b	0,54 \pm 0,01 a	0,51 \pm 0,02 ab	0,56 \pm 0,01 a	0,54 \pm 0,02 a
Tibia Posterior ²	0,54 \pm 0,01 b	0,60 \pm 0,01 a	0,57 \pm 0,01 ab	0,61 \pm 0,01 a	0,61 \pm 0,01 a
Período ovo-adulto ²	20,1 \pm 0,18 b	23,1 \pm 0,66 a	22,7 \pm 0,80 a	24,2 \pm 0,93 a	25,1 \pm 0,64 a
Geração F2					
Razão Sexual ²	0,94 \pm 0,01 a	0,84 \pm 0,02 b	0,92 \pm 0,02 ab	0,88 \pm 0,02 ab	0,88 \pm 0,02 ab
Cápsula Cefálica ¹	0,52 \pm 0,02	0,52 \pm 0,01	0,52 \pm 0,02	0,52 \pm 0,02	0,53 \pm 0,02
Tibia Posterior ¹	0,61 \pm 0,02	0,58 \pm 0,02	0,62 \pm 0,01	0,59 \pm 0,01	0,62 \pm 0,01
Período ovo-adulto ¹	22,2 \pm 0,49	20,8 \pm 0,29	21,6 \pm 0,79	20,9 \pm 0,35	22,7 \pm 0,62
Geração F3					
Razão Sexual ¹	0,90 \pm 0,02	0,90 \pm 0,03	0,86 \pm 0,02	0,90 \pm 0,02	0,89 \pm 0,02
Cápsula Cefálica ¹	0,48 \pm 0,01	0,51 \pm 0,01	0,49 \pm 0,01	0,52 \pm 0,01	0,50 \pm 0,02
Tibia Posterior ¹	0,58 \pm 0,02	0,59 \pm 0,01	0,58 \pm 0,01	0,60 \pm 0,02	0,58 \pm 0,02
Período ovo-adulto ¹	22,7 \pm 0,60	22,8 \pm 0,65	21,5 \pm 0,87	22,8 \pm 0,33	23,3 \pm 0,83

Fonte: Elaborada pelo autor

¹ Médias não significativas pelo Teste de Tukey ($p < 0,05$)

² Médias seguidas da mesma letra, na linha, não diferem pelo Teste de Tukey ($p < 0,05$).

5 DISCUSSÃO

Inseticidas botânicos em sua maioria são considerados produtos que apresentam baixa toxicidade humana, degradação rápida e baixo impacto ambiental (ZANUNCIO *et al.*, 2016b; WEI *et al.*, 2019). No entanto, vários desses produtos não tem se mostrado seguros para organismos não alvos (MOSSA; MOHAFRASH; CHANDRASEKARAN, 2018). Dentre os inseticidas botânicos utilizados na agricultura têm-se os extratos e óleos de neem, que apresentam diversos relatos de toxicidade a inimigos naturais (FORTI BROGLIO *et al.*, 2014; ZANUNCIO *et al.*, 2016b; RAMPELOTTI-FERREIRA *et al.*, 2017). O presente estudo fornece impactos toxicológicos do óleo de neem sobre o parasitoide *P. elaeisis*. As concentrações do inseticida influenciaram na mortalidade de fêmeas adultas dos parasitoides em exposição residual. Provocaram ainda impactos subletais na biologia da geração parental, e das subseqüentes F1 e F2.

O aumento da mortalidade de fêmeas de *P. elaeisis* proporcional ao aumento das concentrações de neem, demonstrou a suscetibilidade da população a esse produto, inclusive à dose recomendada pelo fabricante de 1,5%. Em uma situação de campo, com o produto aplicado sobre populações desse parasitoide, provavelmente, ocorreriam efeitos letais aos organismos, uma vez que a concentração capaz de matar 50% da população (CL₅₀), foi estimada em 0,3916% de neem, quase quatro vezes mais baixa daquela recomendada pelo fabricante para esse produto em estudo. Assim, a concentração 1,5% seria tóxica às populações de *P. elaeisis* com contato residual ao neem. Os modos de ação da azadiractina estão relacionados à repelência, inibição da alimentação e crescimento, afetando principalmente os estádios imaturos dos insetos (LUNA-CRUZ *et al.*, 2015). Quando os adultos entram em contato residual com esse tipo de produto se espera que ele precise de mais tempo para tornar os seus efeitos evidentes, de forma subletal, o que não aconteceu no estudo em questão, tornando necessários estudos mais aprofundados a respeito do modo de ação por contato da azadiractina. O mesmo foi encontrado para adultos do parasitoide *Tamarixia triozae* Burks (Hymenoptera: Eulophidae) em exposição residual ao produto PHC Neem SA, 31,2 g i.a.L⁻¹ na concentração de 1056 mg i.a.L⁻¹, que mesmo apresentando o menor índice de mortalidade em relação aos demais inseticidas utilizados, foi classificado como prejudicial ao inimigo natural (LUNA-CRUZ *et al.*, 2015). E para adultos de *Tamarixia radiata* Waterston (Hymenoptera: Eulophidae) em exposição residual ao produto Azamax™ CE, 11,4 g i.a.L⁻¹, na concentração de 2,9 mg i.a.L⁻¹, classificado como altamente nocivo ao parasitoide (SANTOS *et al.*, 2015). Ambos da mesma família de *P. elaeisis*, o que demonstra que mesmo em concentrações e produtos comerciais diferentes, a azadiractina quando exposta de forma

residual à Eulophidae pode não ser seletiva. E ainda, que esse princípio ativo pode apresentar efeitos aos insetos, ainda não conhecidos.

A ausência de parasitismo das fêmeas parentais, nos tratamentos submetidos às doses de 3,0 e 6,0% do óleo de neem, demonstra que mesmo sendo um inseticida botânico, o produto utilizado neste estudo, em doses elevadas, pode ser altamente tóxico para *P. elaeisis*. Semelhante à dose máxima recomendada do inseticida sintético deltametrina, que também reduziu o parasitismo a zero. A redução no parasitismo provocado pelas concentrações de neem pode estar relacionada ao efeito de repelência da azadiractina (FRANÇA *et al.*, 2010; FRANCESENA; SCHNEIDER, 2018). O parasitismo de *T. pretiosum* reduziu mais de 85%, quando ovos de *Anagasta kuehniella* Zeller (Lepidoptera: Pyralidae) foram tratados com o óleo de neem concentrado (Dalneem[®]) a 2,5% e ao tratamento com deltametrina (0,0075%). O parasitismo de *Trichogramma annulata* De Santis (Hymenoptera: Trichogrammatidae), reduziu cerca de 95%, quando ovos de *A. kuehniella* foram tratados com as concentrações de 2,5 e 0,5% de Dalneem[®] ou deltametrina (0,0075%) (HOHMANN; SILVA; DE NOVAES, 2010). Ainda, *T. pretiosum* teve 70% de seu parasitismo reduzido, em relação ao controle, quando ovos de *A. kuehniella* foram pulverizados pelo produto Organic Neem[®], na concentração de 0,2% (RAMPELOTTI-FERREIRA *et al.*, 2017). Em outro estudo utilizando a CL₂₅ (0,17 µl mL⁻¹) de um óleo de neem com 1,8-2,2% de azadiractina (Bioneem Tecnologia Consultoria Indústria e Comércio Ltda, Brasil), o parasitismo de *T. pretiosum* em ovos de *A. kuehniella* apresentou uma redução de 30% em relação ao controle (PARREIRA *et al.*, 2019).

O parasitismo de 90 a 100% apresentados pela prole de *P. elaeisis* foi semelhante ao estudo desenvolvido com o parasitoide *Eretmocerus mundus* Mercet (Hymenoptera: Aphelinidae), em que o parasitismo da prole não foi afetado pela concentração 20 mg i.a.L⁻¹ do produto comercial Neem-Azal[®] aplicado em sua fase de pupa, quando ainda no interior de seu hospedeiro *Bemisia tabaci* Gennadius (Hemiptera: Aleyrodidae) (FRANCESENA; SCHNEIDER, 2018). Por outro lado, o parasitismo da prole de *T. pretiosum*, teve uma redução de 21,8%, quando este foi exposto indiretamente à CL₂₅ (0,17 µl mL⁻¹) de um óleo de neem com 1,8-2,2% de azadiractina (Bioneem Tecnologia Consultoria Indústria e Comércio Ltda, Brasil) (PARREIRA *et al.*, 2019). A ação inseticida de produtos à base de neem depende de sua origem, formulação, concentração de azadiractina e outros tetranortripenoides, dose utilizada e espécie de inseto (HOHMANN; SILVA; DE NOVAES, 2010; LUCKMANN, 2014; RAMPELOTTI-FERREIRA *et al.*, 2017; PARREIRA *et al.*, 2019). Porém, esses

estudos demonstram efeitos negativos do óleo de neem sobre o parasitismo de diferentes espécies de parasitoides.

A probabilidade de sobrevivência reduzida da geração parental causada, principalmente, pelas concentrações acima da recomendada de neem e dose de deltametrina, e também razão de risco acima de 1,0 encontrada em praticamente todas as doses de neem, e principalmente na concentração de 6,0%, mais uma vez comprovam efeitos de toxicidade desse inseticida natural a esse organismo. Razão de risco corresponde à chance de o evento em questão ocorrer no tratamento em relação à testemunha (SWITZER; COMBES, 2016). Neste caso, o coeficiente acima de 1,0 significa que a concentração do inseticida provoca maior efeito negativo à sobrevivência de *P. elaeisis*. Na prole, até a geração F2, a redução e a alta razão de risco a sobrevivência das fêmeas foram causadas principalmente, pela concentração 1,5% de neem, correspondente ao efeito subletal provocado na população de *P. elaeisis*. Esse efeito corresponde a alterações nas características biológicas, fisiológicas e comportamentais, que, conseqüentemente, afetam o desenvolvimento e fecundidade do inseto (PEREIRA; CALDEIRA; SOARES, 2016). Populações de *E. mundus*, também apresentaram a sobrevivência da prole afetada negativamente quando em fase de pupa no interior do hospedeiro, ao serem expostas a azadiractina a 40 mg i.a.L⁻¹ (FRANCESENA; SCHNEIDER, 2018). O resultado encontrado para a concentração de 1,5% requer atenção, uma vez que essa é a dose recomendada pelo fabricante do produto utilizado. No campo, esse inseticida botânico pode diminuir as populações do parasitoide, se utilizado várias vezes em um curto período. A manutenção de alterações na biologia de *P. elaeisis* provocadas pelo produto em gerações subsequentes pode ser explicada por fatores epigenéticos. Tais fatores são mudanças hereditárias na expressão gênica, sem alterar a sequência do DNA subjacente, reduzindo a sensibilidade da prole ao inseticida (MÜLLER; PROSCHE; MÜLLER, 2017; BREVIK *et al.*, 2018).

A menor longevidade das fêmeas parentais de *P. elaeisis* que tiveram contato com pupas de *T. molitor* tratadas com a concentração de 6,0% do óleo de neem, assim como os demais efeitos, demonstra que o neem em concentrações mais elevadas, como 04 vezes maior que o recomendado, pode ser prejudicial ao parasitoide tanto quanto o inseticida sintético deltametrina. Em uma situação de campo, possivelmente, essas fêmeas com longevidade reduzida não teriam tempo para procurar hospedeiros sadios para depositarem seus ovos. A longevidade é um dos indicadores de qualidade e eficiência dos parasitoides (PEREIRA *et al.*, 2010). Quanto maior a longevidade das fêmeas, maior o tempo disponível para avaliação da qualidade do hospedeiro, assegurando uma melhor qualidade da prole (CAMILO *et al.*, 2015).

A redução do número de indivíduos da geração F1 emergidos por pupas tratadas com as diferentes concentrações de neem, inclusive a dose recomendada, pode estar diretamente relacionada ao efeito de repelência deste produto às fêmeas de *P. elaeisis* (SIEGWART *et al.*, 2015). Como nesse estudo os parasitoides não tiveram chance de escolha, as fêmeas ovipositaram mesmo estando as pupas contaminadas por neem, porém com reduzida quantidade de ovos colocados no hospedeiro. Isso possibilitou a emergência da geração F1, mesmo que em menor número. Resultado semelhante foi encontrado para populações holandesas e sérvias de *Encarsia formosa* Gahan (Hymenoptera: Aphelinidae), que tiveram a emergência da geração F1 reduzida, quando o hospedeiro *B. tabaci* foi exposto às doses de 50, 25, 12,5, 6,25 e 3,12 mg/L do produto comercial NeemAzal® (DROBNJAKOVIĆ *et al.*, 2018). E diferem do encontrado para a espécie *Trichogramma cacoeciae* Marchal (Hymenoptera: Trichogrammatidae), que não teve a emergência da geração F1 prejudicada pela exposição ao produto Nimbicidine na dose de 250 cm³/L (ASMA *et al.*, 2018). Essa diferença pode ser devido às espécies de parasitoides utilizadas no estudo, formulações comerciais de neem, e às condições ambientais em que foram conduzidos os ensaios.

A redução no número de *P. elaeisis* adultos emergidos da geração F2, no tratamento 1,5% do óleo pode estar relacionada à redução na fecundidade e fertilidade da geração F1, que é mais um dos efeitos da azadiractina nos insetos (LUNTZ; NISBET, 2000). A emergência da geração F2 de *T. pretiosum* não foi afetada pela CL₂₅ (0,17 µl mL⁻¹) de um óleo de neem com 1,8-2,2% de azadiractina (Bioneem Tecnologia Consultoria Indústria e Comércio Ltda, Brasil) (PARREIRA *et al.*, 2019). No entanto, quando ovos de *A. kuehniella* foram tratados com a CL₅₀ (0,17 µl mL⁻¹) de um óleo de neem com 1,8-2,2% de azadiractina (Bioneem Tecnologia Consultoria Indústria e Comércio Ltda, Brasil) após o parasitismo das parentais, no estágio de ovo-larva do parasitoide, a emergência de *T. pretiosum* na geração F2 foi reduzida 30% em relação ao controle (PARREIRA *et al.*, 2018). Porém, neste trabalho a aplicação do neem foi pós-parasitismo, diferentemente do presente estudo em que se avaliou o pré-parasitismo. Possivelmente, o número de indivíduos emergidos por pupa na geração F3, não foi prejudicado pela aplicação da concentração de neem, devido a não exposição direta da geração F2 aos tratamentos com neem, impedindo um possível efeito da azadiractina na fecundidade e fertilidade dessa geração.

A razão sexual acima de 80% (0,8) em todas as gerações mostra que o óleo de neem manteve a característica da família Eulophidae em ter mais fêmeas do que machos na população (CAMILO *et al.*, 2016). Apenas na geração F2 o tratamento com a dose de 0,187%

de neem, diferiu da testemunha, 0%. No entanto, sua média foi acima de 0,8, mantendo a maior proporção de fêmeas em relação aos machos. Uma vez que são as fêmeas responsáveis pelo parasitismo e produção da progênie (PASTORI *et al.*, 2012b; PEREIRA *et al.*, 2009), é importante que haja uma maior razão sexual para a manutenção de criações laboratoriais, experimentos e seleção de indivíduos para liberação no campo (CAMILO *et al.*, 2016; PEREIRA *et al.*, 2013). A razão sexual está relacionada à qualidade nutricional e fisiológica do hospedeiro (CARNEVALE; BUENO; SAMPAIO, 2003; SILVA; BUENO; SAMPAIO, 2008; PARREIRA *et al.*, 2019). *Trichogramma pretiosum* também não teve a razão sexual afetada quando a geração parental teve contato com ovos de *A. kuehniella* tratados com a CL₂₅ (0,17 µl mL⁻¹) de um óleo de neem com 1,8-2,2% de azadiractina (Bioneem Tecnologia Consultoria Indústria e Comércio Ltda, Brasil) (PARREIRA *et al.*, 2019). Por outro lado, *Trichogramma brassicae* Bezdenko (Hymenoptera: Trichogrammatidae) teve redução na razão sexual da prole quando as fêmeas parentais entraram em contato com ovos de *Pieris brassicae* Linnaeus (Lepidoptera: Pieridae) tratados com azadiractina 0,15 CE (0,2%) (THUBRU; FIRAKE; BEHERE, 2018). Mais uma vez, a diferença entre os estudos pode estar relacionada à formulação de neem e ao parasitoide utilizado.

O menor tamanho da cápsula cefálica e datíbia posterior na geração F1, observado na testemunha, se deu provavelmente ao maior número de indivíduos desenvolvidos nas pupas, uma vez que esse tratamento foi o que obteve o maior número de adultos de *P. elaeisis* emergidos por pupa de *T. molitor*. O hospedeiro é a única fonte de alimento para o estágio imaturo dos parasitoides (CARNEVALE; BUENO; SAMPAIO, 2003; SILVA; BUENO; SAMPAIO, 2008; COLINET; BOIVIN, 2011). Portanto, os recursos nutricionais disponíveis no hospedeiro são limitados a medida que se aumenta o número de indivíduos no interior da pupa, fazendo com que haja maior competição por alimento (BARBOSA *et al.*, 2016).

O período ovo-adulto mais longo da geração F1 nos tratamentos submetidos às doses de neem pode ser prejudicial às populações de *P. elaeisis*. Pois, isso corresponde a um atraso na emergência dos adultos, o que retarda o parasitismo dessa nova geração ou até mesmo leva a uma diminuição da progênie ao longo do tempo (FIORENTINI SMANIOTTO *et al.*, 2013). O curto período ovo-adulto de *P. elaeisis* na geração F1 em pupas da testemunha, pode ser em função da competição por alimento entre as larvas, como ocorreu em pupas de *Bombyx mori* Linnaeus (Lepidoptera: Bombycidae) e *T. arnobia* (PEREIRA *et al.*, 2010; BARBOSA *et al.*, 2016). Em programas de controle biológico é interessante que o período ovo-adulto do parasitoide seja curto, pois isso permite que ocorram várias gerações em um tempo reduzido, potencializando o controle no campo (BUENO *et al.*, 2009).

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O óleo de neem utilizado não é seletivo para o endoparasitoide de pupas *P. elaeisis* devido ao aumento da mortalidade de fêmeas adultas expostas aos resíduos das diferentes concentrações do neem, e, aos efeitos subletais, como redução no parasitismo, sobrevivência, longevidade e emergência e longo período ovo-adulto nas gerações parental, F1 e F2, causados pela concentração recomendada pelo fabricante e abaixo dela. Além disso, concentrações 02 e 04 vezes acima do recomendado para o óleo de neem são tão prejudiciais a *P. elaeisis* quanto à dose máxima recomendada do inseticida deltametrina.

REFERÊNCIAS

- ALCÁNTARA-DE LA CRUZ, R. *et al.* Side-effects of pesticides on the generalist endoparasitoid *Palmistichus elaeisis* (Hymenoptera: Eulophidae). **Scientific Reports**, v. 7, n. 1, p. 10064, 2017.
- ALI, S. *et al.* Compatibility of entomopathogenic fungi and botanical extracts against the wheat aphid, *Sitobion avenae* (Fab.) (Hemiptera: Aphididae). **Egyptian Journal of Biological Pest Control**, v. 28, n. 1, p. 97, 2018.
- ASMA, C. *et al.* Life-stage-dependent side effects of selected insecticides on *Trichogramma cacoeciae* (Marchal) (Hymenoptera: Trichogrammatidae) under laboratory conditions. **Phytoparasitica**, v. 46, n. 1, p. 105-113, 2018.
- AWOYEMI, O. M. *et al.* Behavioral, molecular and physiological responses of embryo-larval zebrafish exposed to types I and II pyrethroids. **Chemosphere**, v. 219, p. 526-537, 2019.
- BARBOSA, R. H. *et al.* Foraging activity of *Palmistichus elaeisis* (Hymenoptera: Eulophidae) at various densities on pupae of the eucalyptus defoliator *Thyrinteina arnobia* (Lepidoptera: Geometridae). **Florida Entomologist**, v. 99, n. 4, p. 686-690, 2016.
- BARBOSA, W. F. *et al.* Lethal and sublethal effects of azadirachtin on the bumblebee *Bombus terrestris* (Hymenoptera: Apidae). **Ecotoxicology**, v.24, n.1, p.130-142, 2015.
- BERNARDES, R. C. *et al.* The reduced-risk insecticide azadirachtin poses a toxicological hazard to stingless bee *Partamona helleri* (Friese, 1900) queens. **Chemosphere**, v. 201, p. 550-556, 2018.
- BITTENCOURT, A. M. *et al.* O cultivo do nim indiano (*Azadirachta indica* A. Juss.): uma visão econômica. **Floresta**, v. 39, n. 3, 2009.
- BITTENCOURT, M. A. L.; BERTI FILHO, E. Preference of *Palmistichus elaeisis* for pupae of some lepidopterous pests. **Scientia Agricola**, v. 56, n. 4, p. 1281-1283, 1999.
- BREVIK, K. *et al.* Transgenerational effects of insecticides implications for rapid pest evolution in agroecosystems. **Current Opinion in Insect Science**, v. 26, p. 34-40, 2018.
- BUENO, R. C. O. F *et al.* Desempenho de tricogramatídeos como potenciais agentes de controle de *Pseudoplusia includens* Walker (Lepidoptera: Noctuidae). **Neotropical Entomology**, v. 38, n. 3, p. 389-394, 2009.
- CAMILO, S. *et al.* Do floral resources in *Eucalyptus* plantations affect fitness parameters of the parasitoid *Palmistichus elaeisis* (Hymenoptera: Eulophidae)? **Phytoparasitica**, v. 44, n. 5, p. 651-659, 2016.
- CAMILO, S. *et al.* Plantas hospedeiras de *Thyrinteina arnobia* (Lepidoptera: Geometridae) afetam o desenvolvimento do parasitoide *Palmistichus elaeisis* (Hymenoptera: Eulophidae). **Revista Árvore**, v. 39, n. 1, 2015.

- CANDELÁRIA, M. C.; WILCKEN, C. F. *Palmistichus elaeisis* (Delvare & LaSalle, 1993) (Hymenoptera: Eulophidae), possible agent for the biological control of *Urbanus proteus* (Linnaeus, 1758) (Lepidoptera: Hesperidae). **Shilap-revista De Lepidopterologia**, v. 42, n. 167, p. 379-383, 2014.
- CARNEVALE, A. B.; BUENO, V. H. P.; SAMPAIO, M. V. Parasitism and development of *Lysiphlebus testaceipes* (Cresson) (Hymenoptera: Aphidiidae) on *Aphis gossypii* Glover and *Myzus persicae* (Sulzer) (Hemiptera: Aphididae). **Neotropical Entomology**, v. 32, n. 2, p. 293-297, 2003.
- CHATTOPADHYAY, P.; BANERJEE, G.; MUKHERJEE, S. Recent trends of modern bacterial insecticides for pest control practice in integrated crop management system. **3 Biotech**, v. 7, n.1, p. 60, 2017.
- COLINET, H.; BOIVIN, G. Insect parasitoids cold storage: a comprehensive review of factors of variability and consequences. **Biological Control**, v. 58, n. 2, p. 83-95, 2011.
- DELVARE, G.; LASALLE, J. A new genus of Tetrastichinae (Hymenoptera: Eulophidae) from the Neotropical region, with the description of a new species parasitic on key pests of oil palm. **Journal of Natural History**, v. 27, n. 2, p. 435-444, 1993.
- DITTRICH-SCHRÖDER, G. *et al.* Population genetic analyses of complex global insect invasions in managed landscapes: a *Leptocybe invasa* (Hymenoptera) case study. **Biological Invasions**, p. 1-26, 2018.
- DONG, K. *et al.* Molecular biology of insect sodium channels and pyrethroid resistance. **Insect Biochemistry and Molecular Biology**, v. 50, p. 1-17, 2014.
- DROBNJAKOVIĆ, T. *et al.* Sublethal effects of NeemAzal-T/S botanical insecticide on Dutch and Serbian populations of *Encarsia formosa* (Hymenoptera: Aphelinidae). **Biocontrol Science and Technology**, v. 28, n. 1, p. 1-19, 2018.
- FIorentini SMANIOTTO, L. *et al.* Seletividade de produtos alternativos a *Telenomus podisi* Ashmead (Hymenoptera: Scelionidae). **Semina: Ciências Agrárias**, v. 1, n. 34, 2013.
- FORIM, M. R. *et al.* Uso de CLAE no controle de qualidade em produtos comerciais de nim: reprodutibilidade da ação inseticida. **Química Nova**, v. 33, n. 5, p. 1082-1087, 2010.
- FORTI BROGLIO, S. M. *et al.* Toxicity of phytosanitary products to *Coccidophilus citricola* (Coleoptera: Coccinellidae). **Revista Colombiana de Entomología**, v. 40, n. 2, p. 181-184, 2014.
- FRANÇA, W. M. *et al.* Efeito do nim (*Azadirachta indica*) na mosca-das-frutas *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae) e seu parasitoide *Diachasmimorpha longicaudata* (Hymenoptera: Braconidae). **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 77, n. 1, p. 57-64, 2010.
- FRANCESENA, N; SCHNEIDER, M. I. Selectivity assessment of two biorational insecticides, azadirachtin and pyriproxyfen, in comparison to a neonicotinoid, acetamiprid, on

pupae and adults of a Neotropical strain *Eretmocerus mundus* Mercet. **Chemosphere**, v. 206, p. 349-358, 2018.

GROSMAN, A. H. *et al.* Parasitoids follow herbivorous insects to a novel host plant, generalist predators less so. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v. 162, n. 3, p. 261-271, 2017.

HELPS, J. C.; PAVELEY, N. D.; BOSCH, F. V. D. Identifying circumstances under which high insecticide dose increases or decreases resistance selection. **Journal of Theoretical Biology**, v. 428, p. 153-167, 2017.

HOHMANN, C. L.; SILVA, F. A. C.; DE NOVAES, T. G. Selectivity of neem to *Trichogramma pretiosum* riley and *Trichogramma annulata* de Santis (Hymenoptera: Trichogrammatidae). **Neotropical Entomology**, v. 39, n. 6, p. 985-990, 2010.

HOLTZ, A. M. *et al.* Desempenho de *Thyrinteina arnobia* Stoll (Lepidoptera: Geometridae) em eucalipto e goiaba: o hospedeiro nativo não é um bom hospedeiro?. **Neotropical Entomology**, v. 32, n. 3, p. 427-431, 2003b.

HOLTZ, A. M. *et al.* Adaptação de *Thyrinteina arnobia* em novo hospedeiro e defesa induzida por herbívoros em eucalipto. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 38, n. 4, p. 453-458, 2003a.

HORTA, A. B. *et al.* Genomic analysis of a cypovirus isolated from the eucalyptus brown looper, *Thyrinteina arnobia* (Stoll, 1782) (Lepidoptera: Geometridae). **Virus Research**, v. 253, p. 62-67, 2018.

IBÁ - Indústria Brasileira de Árvores. Dados do Relatório Ibá 2018 – Ano-base 2017. Disponível em: <<https://www.iba.org/datafiles/publicacoes/relatorios/digital-sumarioexecutivo-2018.pdf>>. Acesso em: 29 jan. 2019.

Ji, Chenyang *et al.* Enantioselectivity in endocrine disrupting effects of four cypermethrin enantiomers based on in vitro models. **Chemosphere**, v. 220, p. 766-773, 2019.

KENI, M. F.; LATIP, S. N. H. Md. *Azadirachta indica* seed as potential biopesticides for controlling golden apple snail, *Pomacea canaliculata* in rice cultivation. In: **Business Engineering and Industrial Applications Colloquium (BEIAC)**, p. 251-256, 2013.

KOGAN, M. Integrated pest management: historical perspectives and contemporary developments. **Annual Review of Entomology**, v.43, n.1, p.243-270, 1998.

LEACH, A. B.; HOEPTING, C. A.; NAULT, B. A. Grower adoption of insecticide resistance management practices increase with extension-based program. **Pest Management Science**, v. 75, n. 2, p. 515-526, 2019.

LOPES AMARAL, R. *et al.* Does ingestion of neem-contaminated diet cause mortality of honey bee larvae and foragers? **Journal of Apicultural Research**, v. 54, n. 4, p. 405-410, 2015.

- LUCKMANN, D. *et al.* Selectivity of commercial natural products to *Trichogramma pretiosum* (Riley, 1879) (Hymenoptera: Trichogrammatidae). **Revista Ceres**, Viçosa, v. 61, n. 6, p. 924-931, 2014.
- LUNA-CRUZ, A. *et al.* Toxicity and residual activity of insecticides against *Tamarixia triozae* (Hymenoptera: Eulophidae), a parasitoid of *Bactericera cockerelli* (Hemiptera: Triozidae). **Journal of Economic Entomology**, v. 108, n. 5, p. 2289-2295, 2015.
- LUNTZ, A. J. M.; NISBET, A. J. Azadirachtin from the neem tree *Azadirachta indica*: its action against insects. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v. 29, n. 4, p. 615-632, 2000.
- MASSON, M. V. *et al.* Management of *Hylesia nanus* (Lepidoptera: Saturniidae) on *Eucalyptus* (Myrtaceae) plantations. **Florida Entomologist**, v. 100, n. 2, p. 380-384, 2017.
- MENEZES, C. W. G de *et al.* *Palmistichus elaeisis* (Hymenoptera: Eulophidae) as an indicator of toxicity of herbicides registered for corn in Brazil. **Chilean Journal of Agricultural Research**, v. 74, n. 3, p. 361-365, 2014.
- MENEZES, C. W. G. *et al.* *Brontocoris tabidus* (Heteroptera: Pentatomidae) preying on *Podalia walker* (Lepidoptera: Megalopygidae) on eucalyptplants in Brazil. **Florida Entomologist**, v. 96, p. 261-263, 2013a.
- MENEZES, C.W.G. *et al.* Primeiro registro de *Fulgurodes sartinaria* (Lepidoptera: Geometridae) em plantas de *Eucalyptus cloeziana* (Myrtaceae). **Revista do Instituto Florestal**, v. 25, p. 231-235, 2013b.
- MONSREAL-CEBALLOS, R. J. *et al.* Effects of Botanical Insecticides on Hymenopteran Parasitoids: a Meta-analysis Approach. **Neotropical Entomology**, p. 1-8, 2018.
- MONTOYA-ESTRADA, C. N. *et al.* Genetic diversity and aggressiveness of *Erwinia psidii* on *Eucalyptus* spp. in Brazil. **Plant Pathology**, v. 68, n. 1, p. 31-41, 2019.
- MORDUE, A. J.; NISBET, A. J. Azadirachtin from the neem tree *Azadirachta indica*: its action against insects. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v. 29, n. 4, p. 615-632, 2000.
- MOSSA, A. T. H.; MOHAFRASH, S. M. M; CHANDRASEKARAN, N. Safety of natural insecticides: toxic effects on experimental animals. **BioMed Research International**, v. 2018, 2018.
- MÜLLER, T.; PROSCHE, A.; MÜLLER, C. Sublethal insecticide exposure affects reproduction, chemical phenotype as well as offspring development and antennae symmetry of a leaf beetle. **Environmental Pollution**, v. 230, p. 709-717, 2017.
- NESI, C. N. *et al.* Survival analysis: a tool in the study of post-harvest diseases in peaches. **Revista Ceres**, v. 62, n. 1, p. 52-61, 2015.
- NEVES, E. J. M *et al.* Caracterização nutricional do nim em plantios no Brasil. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.17, n.1, p.26-32, 2013.

- PARREIRA, D. S. *et al.* Bioactivity of ten essential oils on the biological parameters of *Trichogramma pretiosum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) adults. **Industrial Crops and Products**, v. 127, p. 11-15, 2019.
- PARREIRA, D. S. *et al.* Quantifying the harmful potential of ten essential oils on immature *Trichogramma pretiosum* stages. **Chemosphere**, v. 199, p. 670-675, 2018.
- PASTORI, P. L. *et al.* Densidade de fêmeas de *Palmistichus elaeisis* Delvare & Lasalle, 1993 (Hymenoptera: Eulophidae) para sua reprodução em pupas de *Anticarsia gemmatalis* Hübner, 1818 (Lepidoptera: Noctuidae). **Arquivos do Instituto Biológico** v. 79, n. 4, p. 525-532, 2012b.
- PASTORI, P. L. *et al.* Reproduction of *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae) in pupae of two lepidopterans defoliators of eucalypt. **Revista Colombiana de Entomología**, v. 38, n. 1, p. 91-93, 2012a.
- PEREIRA, E. S. **Seletividade do inseticida Deltametrina ao parasitoide *Palmistichus elaeisis* (Hymenoptera: Eulophidae)**. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) – Faculdade de Ciências Agrárias, Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, Diamantina, 2016.
- PEREIRA, E. S.; CALDEIRA, Z. V.; SOARES, M. A. Manejo integrado de pragas na eucaliptocultura: inseticidas e parasitoides são compatíveis? **Agri-Environmental Sciences**, v. 2, n. 2, p. 1-13, 2016.
- PEREIRA, F. F. *et al.* Biological characteristics of *Palmistichus elaeisis* Delvare & LaSalle (Hymenoptera: Eulophidae) on refrigerated pupae of *Anticarsia gemmatalis* Hubner (Lepidoptera: Noctuidae). **Chilean Journal of Agricultural Research**, v. 73, n. 2, p. 117-121, 2013.
- PEREIRA, F. F. *et al.* Progeny of *Palmistichus elaeisis* Delvare & LaSalle (Hymenoptera: Eulophidae) parasitising pupae of *Bombyx mori* L. (Lepidoptera: Bombycidae) of different ages. **Neotropical Entomology**, v. 38, n. 5, p. 660-664, 2009.
- PEREIRA, F. F. *et al.* Species of Lepidoptera defoliators of *Eucalyptus* as new host for the parasitoid *Palmistichus elaeisis* (Hymenoptera: Eulophidae). **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 51, n. 2, p. 259-262, 2008.
- PEREIRA, F. F. *et al.* 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, n. 2, p. 323-331, 2010.
- RAMPELOTTI-FERREIRA, F. T. *et al.* Selectivity of plant extracts for *Trichogramma pretiosum* Riley (Hym.: Trichogrammatidae). **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 138, p. 78-82, 2017.

RODRÍGUEZ-DIMATÉ, F. A. *et al.* *Palmistichus elaeisis* (Hymenoptera: Eulophidae) parasitizing pupae of the passion fruit pest *Agraulis vanillae vanillae* (Lepidoptera: Nymphalidae). **Florida Entomologist**, v. 99, n. 1, p. 130-132, 2016.

SANTOS, G. P.; ZANUNCIO, T. V.; ZANUNCIO, J. C. Development of *Thyrintina arnobia* Stoll (Lepidoptera: Geometridae) on leaves of *Eucalyptus urophylla* and *Psidium guajava*. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v. 29, n. 1, p. 13-22, 2000.

SANTOS, M. S. *et al.* Toxicity of an azadirachtin-based biopesticide on *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Liviidae) and its ectoparasitoid *Tamarixia radiata* (Waterston) (Hymenoptera: Eulophidae). **Crop Protection**, v. 74, p. 116-123, 2015.

SIEGWART, M. *et al.* Resistance to bio-insecticides or how to enhance their sustainability: a review. **Frontiers in Plant Science**, v. 6, p. 381, 2015.

SILVA, R. J.; BUENO, V. H. P; SAMPAIO, M. V. Qualidade de diferentes espécies de pulgões como hospedeiros do parasitoide *Lysiphlebus testaceipes* (Cresson) (Hymenoptera: Braconidae, Aphidiinae). **Neotropical Entomology**, v. 37, n. 2, p. 173-179, 2008.

SODERLUND, D. M. Molecular mechanisms of pyrethroid insecticide neurotoxicity: recent advances. **Archives of toxicology**, v. 86, n. 2, p. 165-181, 2012.

SWITZER, C. M.; COMBES, S. A. The neonicotinoid pesticide, imidacloprid, affects *Bombus impatiens* (bumblebee) sonication behavior when consumed at doses below the LD50. **Ecotoxicology**, v. 25, n. 6, p. 1150-1159, 2016.

TAVARES, W. de S. *et al.* *Palmistichus elaeisis* (Hymenoptera: Eulophidae) parasitizing pupae of *Citioica anthonilis* (Lepidoptera: Saturniidae) collected on *Piptadenia gonoacantha* (Fabaceae). **The Journal of the Lepidopterists' Society**, v. 66, n. 4, p. 216-220, 2012.

THUBRU, D. P.; FIRAKE, D. M.; BEHERE, G. T. Assessing risks of pesticides targeting lepidopteran pests in cruciferous ecosystems to eggs parasitoid, *Trichogramma brassicae* (Bezdenko). **Saudi Journal of Biological Sciences**, v. 25, n. 4, p. 680-688, 2018.

TIAN, P. *et al.* Design, synthesis, and insecticidal activity evaluation of novel 4-(N, N-diarylmethylamines) furan-2 (5H)-one derivatives as potential acetylcholine receptor insecticides. **Pest Management Science**, 2018.

VELOSO, R.V.S. *et al.* Does cypermethrin affect enzyme activity, respiration rate and walking behavior of the maize weevil (*Sitophilus zeamais*)? **Insect Science**, v.20, n.3, p.358-366, 2013.

WEI, D. A. I. *et al.* Selectivity and sublethal effects of some frequently-used biopesticides on the predator *Cyrtorhinus lividipennis* Reuter (Hemiptera: Miridae). **Journal of Integrative Agriculture**, v. 18, n. 1, p. 124-133, 2019.

ZACHÉ, B. *et al.* *Palmistichus elaeisis* (Hymenoptera: Eulophidae) parasitizing pupae of *Hypsipyla grandella* (Lepidoptera: Pyralidae). **Florida Entomologist**, v. 96, n. 3, p. 1207-1208, 2013.

- ZACHÉ, B.; ZACHÉ, R. R. C.; WILCKEN, C. F. Reproduction of *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae) parasitizing pupae of *Eupseudosoma involuta* (Lepidoptera: Arctiidae) a lepidopteran defoliator in Brazil **Revista Chilena de Historia Natural**, v. 86, n. 2, p. 221-224, 2013.
- ZANUNCIO, J. C. *et al.* Environmental determinants affecting the occurrence of defoliator caterpillars on *Eucalyptus* (Myrtaceae) plantations in the Brazilian Amazonian region. **Florida Entomologist**, v. 101, n. 3, p. 480-486, 2018.
- ZANUNCIO, J. C. *et al.* Levantamento e flutuação populacional de lepidópteros associados à eucaliptocultura: VI. Região de Belo Oriente, Minas Gerais. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 28, n. 10, p. 1121-1127, 1993.
- ZANUNCIO, J. C. *et al.* Mortality of the defoliator *Euselasia eucerus* (Lepidoptera: Riodinidae) by biotic factors in an *Eucalyptus urophylla* plantation in Minas Gerais State, Brazil. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 81, n. 1, p. 61-66, 2009.
- ZANUNCIO, J. C. *et al.* *Psorocampa denticulata* (Lepidoptera: Notodontidae) pupae as an alternative host for *Palmistichus elaeisis* (Hymenoptera: Eulophidae). **Florida Entomologist**, v. 98, n. 3, p. 1003-1005, 2015.
- ZANUNCIO, J. C. *et al.* *Sarsina violascens* spatial and temporal distributions affected by native vegetation strips in eucalyptus plantations. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 51, n. 6, p. 703-709, 2016a.
- ZANUNCIO, J. C. *et al.* *Tenebrio molitor* Linnaeus (Coleoptera: Tenebrionidae), a new alternative host to rear the pupae parasitoid *Palmistichus elaeisis* Delvare & LaSalle (Hymenoptera: Eulophidae). **The Coleopterists Bulletin**, v. 62, n. 1, p. 64-66, 2008.
- ZANUNCIO, J. C. *et al.* Toxic effects of the neem oil (*Azadirachta indica*) formulation on the stink bug predator, *Podisus nigrispinus* (Heteroptera: Pentatomidae). **Scientific Reports**, v. 6, p. 30261, 2016b.
- ZHENG, Y. *et al.* Seed yield and azadirachtin content of *Azadirachta indica* in four ecosystems of southwest China. **Industrial Crops and Products**, v. 122, p. 23-27, 2018.