

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CAMPUS DE JABOTICABAL**

**AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DE PRODUÇÃO E DE
BUSCA PELO HOSPEDEIRO DE *Cotesia flavipes*
(CAMERON) (HYMENOPTERA: BRACONIDAE) EM
LABORATÓRIO**

Silvio Rogério Viel
Biólogo

JABOTICABAL – SÃO PAULO – BRASIL
Janeiro de 2012

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CAMPUS DE JABOTICABAL**

**AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DE PRODUÇÃO E DE
BUSCA PELO HOSPEDEIRO DE *Cotesia flavipes*
(CAMERON) (HYMENOPTERA: BRACONIDAE) EM
LABORATÓRIO**

Silvio Rogério Viel

Orientador: Prof. Dr. Sergio Antonio De Bortoli

Co-orientador: Prof. Dr. Nelson Wanderley Perioto

Tese apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – UNESP, Campus de Jaboticabal, como parte das exigências para a obtenção do Título de Doutor em Agronomia (Entomologia Agrícola).

JABOTICABAL – SÃO PAULO – BRASIL

Janeiro de 2012



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

CAMPUS DE JABOTICABAL

FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS DE JABOTICABAL

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO: AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DE PRODUÇÃO E DE BUSCA PELO HOSPEDEIRO DE
Cotesia flavipes (CAMERON) (HYMENOPTERA: BRACONIDAE) EM LABORATÓRIO

AUTOR: SÍLVIO ROGÉRIO VIEL

ORIENTADOR: Prof. Dr. SERGIO ANTONIO DE BORTOLI

CO-ORIENTADOR: Prof. Dr. NELSON WANDERLEY PERIOTO

Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de DOUTOR EM AGRONOMIA
(ENTOMOLOGIA AGRÍCOLA), pela Comissão Examinadora:

Prof. Dr. SERGIO ANTONIO DE BORTOLI

Departamento de Fitossanidade / Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal

Prof. Dr. ENRICO DE BENI ARRIGONI

Centro de Tecnologia Canavieira / Piracicaba/SP

Profa. Dra. ROGÉRIA INÊS ROSA LARA

Departamento de Descentralização do Desenvolvimento / Agência Paulista de Tecnologia dos
Agronegócios / Ribeirão Preto/SP

Prof. Dr. LUIS GARRIGÓS LEITE

Laboratório de Controle Biológico / Instituto Biológico / Campinas/SP

Prof. Dr. RICARDO ANTONIO POLANCZYK

Departamento de Fitossanidade / Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal

Data da realização: 21 de dezembro de 2011.

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

SILVIO ROGÉRIO VIEL – nascido na cidade de Osasco, SP, em 11 de junho de 1976. Formado em Ciências Biológicas pelo Centro Universitário de Araraquara, UNIARA, localizada na cidade de Araraquara, SP, em dezembro de 1999. As atividades na área de Entomologia iniciaram-se com o estágio no laboratório de Coleta, montagem, identificação e preservação de insetos do Centro Universitário de Araraquara – UNIARA, em março de 1996, que se prolongou até dezembro de 1997, onde desenvolveu, como atividades principais, a coleta de insetos utilizando as armadilhas de Möericke, Malaise, rede de varredura, armadilhas noturnas e adesivas, além da identificação das ordens de insetos, com ênfase em himenópteros parasitoides, sua montagem e conservação. Neste período participou de cursos na área de atuação e apresentou resumos em congressos. Entre o início de 1998 e o final de 1999, trabalhou com a coordenação da Vigilância Sanitária do município de Santa Lúcia, SP, onde foi responsável pelo controle de pragas urbanas, além de coordenar o Programa de Erradicação do mosquito *Aedes aegypti* no município. Ingressou no curso de Mestrado em 2000 pela Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto – FFCLRP-USP, Ribeirão Preto, SP, na área de Entomologia. Durante o curso de Mestrado apresentou resumos de trabalhos sobre Taxonomia e Entomologia geral em Congressos regionais e nacionais. Foi bolsista da CAPES. Em março de 2002 se tornou coordenador do laboratório de criação massal de *Cotesia flavipes* e *Diatraea saccharalis* da usina Açucareira de Jaboticabal – Usina São Carlos, no município de Jaboticabal, SP, e do laboratório de microbiologia da mesma usina, onde produzia o fungo entomopatogênico *Metarhizium anisopliae* para o controle das cigarrinhas das raízes, *Mahanarva fimbriolata*. Em 2005 iniciou uma especialização em Manejo Integrado de Pragas e Receituário Agrônomo, na Universidade Federal de Lavras – UFLA, no município de Lavras, MG. Neste período participou de congressos regionais e nacionais nas áreas de Controle Biológico, Entomologia, Zoologia e Ecologia, apresentando vários resumos de trabalhos. Em 2008 ingressou no doutorado pela

Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – FCAV/Unesp, no município de Jaboticabal, SP. Apresentou resumos de trabalhos sobre Manejo Integrado de Pragas, Entomologia e Ecologia, em Congressos regionais, nacionais e internacionais. Durante o doutorado publicou capítulos de livros e trabalhos em revistas na área de Entomologia. Participou como co-orientador de trabalhos de graduação de alunos de Ciências Biológicas da FCAV/Unesp, e como orientador de trabalhos de graduação de alunos de Ciências Biológicas da UNIARA. Ministrou aulas em mini-cursos e proferiu palestras no Curso de Inverno em Entomologia Agrícola, realizado pelo Curso de Pós-graduação em Agronomia (Entomologia Agrícola) da FCAV/Unesp. Desde maio de 2010 atua como supervisor de Planejamento Agrícola na LDC Bioenergia SA – Usina São Carlos, tendo como principal atividade o controle das pragas e doenças da cultura da cana-de-açúcar.

“Aonde chegamos depende do quanto libertamos a arte de pensar. Não importa o tamanho dos nossos obstáculos, mas o tamanho da motivação que temos para superá-los”. (Augusto Cury).

Ao meu querido pai Izair Antonio Viel (*in memoriam*) que partiu precocemente deixando um imenso vazio de saudade, pois, sem suas insistentes frases de apoio, não teria chegado até aqui. Uma das pessoas mais lúcidas e coerentes que conheci.

Ofereço.

À minha família, que carrego comigo no coração por onde quer que eu vá, minha esposa Marcia Maria Noli Viel, aos meus filhos Rafaela Viel e Gabriel Henrique Viel. Também à minha mãe Palmira João Viel, meus irmãos e irmãs.

Dedico.

AGRADECIMENTOS

À Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Campus de Jaboticabal, pela oportunidade de realização do curso de doutorado;

Ao Prof. Dr. Sergio Antonio De Bortoli, pela amizade, orientação, pela liberdade no desenvolvimento das pesquisas, pelo incentivo e por todos os seus ensinamentos que enriqueceram não só meu trabalho, mas minha vida;

Ao Prof. Dr. Nelson Wanderley Perioto, pela amizade, co-orientação, sugestões e correções realizadas no trabalho, que só vieram a acrescentar;

À pós-doutoranda e amiga Alessandra Marieli Vacari, pelo auxílio nas correções, pelas opiniões na escrita do trabalho e orientação nas análises estatísticas;

Ao Prof. Dr. Antonio Sergio Ferraudo, do Departamento de Ciências Exatas da FCAV/Unesp, pela orientação nas análises estatísticas e pelos ensinamentos sobre as análises multivariadas;

À LDC Bioenergia SA – Usina São Carlos de Jaboticabal, representada pelos gerentes agrícola da unidade Leandro Eduardo Presotti e corporativo de Planejamento, Samuel Gazzola, pela liberação do expediente normal de trabalho para a participação das disciplinas do curso, nos Simpósios e Congressos, além de ceder a estrutura física do Laboratório de Entomologia da unidade, usado durante a realização deste;

Aos professores do Programa de Pós-Graduação em Agronomia, (Entomologia Agrícola) da FCAV/Unesp, Arlindo Leal Boiça Junior, Marcelo Ferreira da Costa, Nelson Wanderley Perioto, Sergio Antonio De Bortoli, Sergio de Freitas.

À toda família LBCI (equipe do Laboratório de Biologia e Criação de Insetos), aos doutorandos, aos mestrandos, aos alunos de iniciação científica, e a todos aqueles que passaram pelo laboratório, pela amizade e ajuda nos momentos difíceis;

Aos funcionários da biblioteca da FCAV/Unesp, pela revisão das referências, especialmente a Tieko Takamia Sugahara;

Aos grandes amigos da LDC Bioenergia SA, que me ajudaram quando eu mais precisei. Às vezes até com mais entusiasmo que eu mesmo, Diego da Silva Pimentel, Josiane Maria Fernandes Canhoto, Daniel de Souza da Silva e Reginaldo Veiga, e aos demais colaboradores da equipe de Qualidade e do Departamento Técnico Agrícola;

A todos que de alguma forma colaboraram com a realização deste trabalho;

Em especial a toda minha família, por sempre terem me apoiado, mesmo quando eu pensei em desistir, sempre encontraram um jeito de me erguer a cada queda que tive;

E principalmente a Deus, que me proporcionou essa oportunidade, trazendo em minha vida as pessoas certas para me auxiliar na conquistar desse objetivo, me dando a tão grande alegria de alcançar não só uma realização pessoal, mas acima de tudo, novas amizades, sem que para isso precisasse diminuir a minha fé.

SUMÁRIO

	Página
CAPÍTULO 1 - CONSIDERAÇÕES GERAIS.....	01
1. INTRODUÇÃO.....	01
2. REVISÃO DE LITERTURA.....	13
2.1 Aspectos gerais sobre criação de <i>Diatraea saccharalis</i> e <i>Cotesia flavipes</i>	13
2.2 Razão sexual de <i>Cotesia flavipes</i>	19
2.3 Quantidade de indivíduos por “massa” de pupas.....	22
2.4 Emergência de adultos de <i>Cotesia flavipes</i>	23
2.5 Peso dos casulos e das “massas” de pupas de <i>Cotesia flavipes</i>	24
2.6 Longevidade de adultos de <i>Cotesia flavipes</i>	25
2.7 Controle de qualidade de <i>Cotesia flavipes</i>	26
3. REFERÊNCIAS.....	31
 CAPÍTULO 2 – QUALIDADE DO PARASITOIDE <i>Cotesia flavipes</i> PRODUZIDO EM LABORATÓRIO COM DIFERENTES DIETAS ARTIFICIAIS.....	 45
1. INTRODUÇÃO.....	47
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	48
2.1. Pesagem das massas de pupas de <i>Cotesia flavipes</i>	52

2.2. Separação dos sexos e contagem dos adultos de <i>Cotesia flavipes</i>	52
2.3. Porcentagem de emergência de adultos de <i>Cotesia flavipes</i>	52
2.4. Longevidade de adultos de <i>Cotesia flavipes</i> alimentados com diferentes dietas.....	53
2.5. Longevidade de adultos de <i>Cotesia flavipes</i> (alimentação parental).....	54
2.6. Análise dos dados.....	55
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	56
3.1. Pesagem das massas de pupas de <i>Cotesia flavipes</i>	56
3.2. Separação dos sexos e contagem dos adultos de <i>Cotesia flavipes</i>	58
3.3. Porcentagem de emergência de adultos de <i>Cotesia flavipes</i>	59
3.4. Longevidade de adultos de <i>Cotesia flavipes</i> alimentados com diferentes dietas.....	61
3.5. Longevidade de adultos de <i>Cotesia flavipes</i> (alimentação parental).....	62
4. CONCLUSÕES.....	66
5. REFERÊNCIAS.....	66
 CAPÍTULO 3 - PROTOCOLO DE AVALIAÇÃO DE EFICIÊNCIA DO PARASITÓIDE <i>Cotesia flavipes</i> NA BUSCA PELO SEU HOSPEDEIRO <i>Diatraea saccharalis</i> EM LABORATÓRIO.....	 72
1. INTRODUÇÃO.....	76
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	81

2.1. Local de estudo.....	81
2.2. Origem do material biológico.....	81
2.3. Teste de eficiência da busca de <i>Cotesia flavipes</i> pelo hospedeiro.....	82
2.3.1. Desenvolvimento de arenas para avaliação de busca de <i>Cotesia flavipes</i> pelo hospedeiro <i>Diatraea saccharalis</i>	82
2.4. Análise dos dados.....	90
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	91
3.1. Índice de performance da qualidade (IPQ).....	91
3.2. Interações entre os fatores.....	92
3.3. Análise de Agrupamentos.....	95
3.4. Análise de Componentes Principais.....	101
4. CONCLUSÕES.....	103
5. REFERÊNCIAS.....	103
CAPÍTULO 4 – IMPLICAÇÕES.....	108

LISTA DE FIGURAS – CAPÍTULO 1

	Página
Figura 1. “Posturas” de ovos de <i>Diatraea saccharalis</i> realizadas sobre folha de papel.....	03
Figura 2. Lagarta de <i>Diatraea saccharalis</i> sobre o colmo de cana-de-açúcar.....	04
Figura 3. Pupas de <i>Diatraea saccharalis</i> no interior de recipiente de desenvolvimento.....	05
Figura 4. Adulto de <i>Diatraea saccharalis</i> (fêmea).....	06
Figura 5. “Coração Morto” causado por ataque de <i>Diatraea saccharalis</i>	07
Figura 6. Detalhe de “Coração Morto” causado por ataque de <i>Diatraea saccharalis</i>	07
Figura 7. Orifício no colmo causado por ataque de <i>Diatraea saccharalis</i>	08
Figura 8. Brotação lateral causada por ataque de <i>Diatraea saccharalis</i>	08
Figura 9. “Podridão Vermelha” no colmo de cana-de-açúcar: Dano Indireto causado pelo ataque de <i>Diatraea saccharalis</i>	09
Figura 10. Fêmea de <i>Cotesia flavipes</i>	10
Figura 11. Macho de <i>Cotesia flavipes</i>	10

LISTA DE FIGURAS – CAPÍTULO 2

	Página
Figura 1. Recipiente plástico de desenvolvimento usado no experimento.....	49

Figura 2. Tampa do recipiente de desenvolvimento usado no experimento, com dieta artificial aplicada em forma de “X”.....	50
Figura 3. Recipientes de desenvolvimento contendo massas de casulos de <i>Cotesia flavipes</i> , formados a partir do parasitismo em lagartas de <i>Diatraea saccharalis</i>	51
Figura 4. Detalhe da cabeça de <i>Cotesia flavipes</i> , evidenciando o dimorfismo sexual por meio da diferença do comprimento das antenas.....	53
Figura 5. Tubo de Eppendorf de 2mL utilizado para alimentação e avaliação da longevidade de adultos de <i>Cotesia flavipes</i>	54
Figura 6. Pupas de <i>Cotesia flavipes</i> individualizadas em tubos de Eppendorf de 2mL.....	55
Figura 7. Dendrograma mostrando a estrutura de grupos formada pelas diferentes dietas fornecidas a adultos de <i>Cotesia flavipes</i>	65

LISTA DE FIGURAS – CAPÍTULO 3

	Página
Figura 1. Protótipo de arena de testes de avaliação da qualidade de parasitismo de <i>Cotesia flavipes</i> , confeccionada com vidro de 4mm de espessura, nas dimensões 100x50x50 cm.....	82
Figura 2. Bancada com as arenas de testes de qualidade do parasitismo de <i>Cotesia flavipes</i> , preparadas para dois tratamentos testados no experimento.....	84

Figura 3. Colmo de cana-de-açúcar sendo preparado para a utilização no experimento.....	86
Figura 4. Lagarta de <i>Diatraea saccharalis</i> sendo colocada no orifício aberto do colmo de cana-de-açúcar.....	87
Figura 5. Fêmea de <i>Cotesia flavipes</i> sendo colocada sobre o pedaço de colmo de cana-de-açúcar com auxílio de uma pinça.....	88
Figura 6. Colmo de cana-de-açúcar aberto longitudinalmente, para retirada de lagartas de <i>Diatraea saccharalis</i>	89
Figura 7. Recipientes de desenvolvimento contendo dietas e lagartas parasitadas de <i>Diatraea saccharalis</i> , para obtenção das massas de pupas de <i>Cotesia flavipes</i>	90
Figura 8. Dendrograma completo resultante da análise de agrupamento mostrando a formação de grupos das diferentes condições em que <i>Cotesia flavipes</i> foi submetida para o parasitismo de <i>Diatraea saccharalis</i>	97
Figura 9. Dendrograma resultante da análise de agrupamento mostrando a ampliação do grupo 2.....	98
Figura 10. Dendrograma evidenciando os 11 melhores tratamentos, resultantes da análise de agrupamento das diferentes condições em que <i>Cotesia flavipes</i> foi submetida para o parasitismo.....	99
Figura 11. Gráfico biplot das diferentes condições em que <i>Cotesia flavipes</i> foi submetida para o parasitismo.....	102

AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DE PRODUÇÃO E DE BUSCA PELO HOSPEDEIRO DE *Cotesia flavipes* (CAMERON) (HYMENOPTERA: BRACONIDAE) EM LABORATÓRIO.

RESUMO - Visando melhorias qualitativas na criação de *Cotesia flavipes* Cameron, 1891, realizaram-se testes com alimentação de adultos antes do parasitismo em *Diatraea saccharalis* Fabricius, 1794, com 14 dietas: (2,5%; 5% e 10% sacarose; 2,5%; 5% e 10% sacarose + 2,5% lêvedo de cerveja; 2,5%; 5% e 10% mel; 2,5%; 5% e 10% mel + 2,5% lêvedo de cerveja; 2,5% lêvedo de cerveja; água) e testemunha. Avaliaram-se: adultos emergidos, razão sexual, porcentagem de emergência, peso das massas de pupas e a longevidade nas gerações F1 e F2. O delineamento foi o inteiramente casualizado com 15 tratamentos e cinco repetições. As dietas a base de 5% de sacarose, 5 e 10% de mel aos adultos de *C. flavipes* podem proporcionar acréscimo considerável na longevidade dos parasitoides. O consumo de dietas artificiais por *C. flavipes* antes do parasitismo em *D. saccharalis* proporcionou melhorias qualitativas. O estudo visou ainda testar um protocolo de qualidade de *C. flavipes*, quanto à eficiência na busca pelo hospedeiro *D. saccharalis*. Foi usada uma arena de testes (copo plástico translúcido de 700 mL, com tampa). Lagartas de *D. saccharalis* foram colocadas em tolete de cana-de-açúcar de 13 cm, perfurado transversalmente e oferecidas ao parasitoide. Os tratamentos foram: (0, 6, 12, 18 e 24 horas de fotofase - L), (6, 12, 18 e 24 horas de disponibilidade do hospedeiro - H), (1, 2, 3, 4 e 5 lagartas por arena - T) e o orifício de entrada da lagarta na cana-de-açúcar (aberto - A ou fechado - F). Foram realizados os testes de Kolmogorov e a homogeneidade da variância foi analisada pelo teste de Bartlett, além das análises de agrupamento e de componentes principais. Foi criado um Índice de performance da qualidade (IPQ), que foi determinante na escolha do melhor tratamento. Foi proposto, o uso do tratamento: 6 horas de disponibilidade, 0 hora de luz, uma lagarta por arena, usando o tolete de cana-de-açúcar com o orifício fechado, como protocolo de qualidade de *C. flavipes*.

Palavras-chave: dieta artificial, controle de qualidade, parasitoides, protocolo amostral, índice de performance da qualidade.

EVALUATION OF PRODUCTION QUALITY AND SEARCH FOR A HOST OF *Cotesia flavipes* (CAMERON) (HYMENOPTERA: BRACONIDAE) IN THE LABORATORY.

ABSTRACT - Aiming at qualitative improvements in the rearing of *Cotesia flavipes*, tests were carried out with adults feed before parasitism in *Diatraea saccharalis*, with 14 diets (2.5%, 5% and 10% sucrose, 2.5%, 5% and 10% sucrose + 2.5% brewer's yeast, 2.5%, 5% and 10% honey, 2.5%, 5% and 10% honey + 2.5% yeast, 2.5% yeast, water) and control. Were evaluated: emerging adults, sex ratio, percentage of emergency, mass weight of pupae, and longevity in F1 and F2 generations. The design was completely randomized with 15 treatments and five repetitions. The diets based on 5% sucrose, 5 and 10% honey to adults of *C. flavipes*, may provide considerable increase in longevity. Consumption of artificial diets by *C. flavipes* before parasitism in *D. saccharalis* provides quality improvements. The study also aimed to test a protocol for quality of *C. flavipes*, for efficiency in the search for host *D. saccharalis*. We used a testing arena (700 mL plastic cup with lid). Larvae of *D. saccharalis* were placed in 13 cm cutting canes, drilled across, and offered to the parasitoid. The treatments were: (0, 6, 12, 18 and 24 hours of photophase - L) (6, 12, 18 and 24 hours of availability of the host - H) (1, 2, 3, 4 and 5 larvae per arena - T) and the entrance hole of the larvae in sugar cane (open - A or closed - F). We performed the Kolmogorov's test and the homogeneity of variance was analyzed by Bartlett's test. Were also carried out cluster analysis and principal components. It created an index of performance quality (IPQ). It is proposed the use of treatment 6 hours of availability, 0 hours of light, one larvae per arena, using the cutting cane with the hole closed, as quality protocol *C. flavipes*.

Keywords: artificial diet, quality control, parasitoids, sampling protocol, quality performance index.

CAPÍTULO 1 - CONSIDERAÇÕES GERAIS

1. INTRODUÇÃO

Himenópteros parasitoides são vespas cujas larvas se desenvolvem no corpo de outro artrópode, usualmente um inseto ou uma massa única ou gregária de hospedeiros, como ootecas ou massas de larvas formadoras de galhas, acarretando a morte do hospedeiro ao final do desenvolvimento do parasitoide (GODFRAY, 1994). São elementos importantes da fauna por terem como um de seus papéis ecológicos o controle da população de outros insetos, interferindo direta ou indiretamente, e de forma ainda não bem quantificada, nas cadeias tróficas de grande parte dos ecossistemas terrestres. LASALLE & GAULD (1991) afirmam que as espécies de himenópteros parasitoides são importantes componentes na manutenção do balanço ecológico e promotores da diversidade de outros organismos. Devido a sua capacidade de regular a população de outros insetos, muitas espécies de parasitoides tem sido utilizadas, com sucesso, no controle biológico e/ou integrado de pragas agrícolas.

GALLO et al. (2002) afirmaram que o parasitoide tem vida livre, mata o hospedeiro e exige somente um indivíduo para completar o desenvolvimento.

Dentre os parasitoides, destacam-se os Taquinídeos (Diptera: Tachinidae) e vários microhimenópteros (Braconidae, Trichogrammatidae, Aphelinidae, Cynipidae, Encyrtidae, Bethylidae, Ichneumonidae, Chalcididae, Scelionidae, Pteromalidae, Eulophidae) (GALLO et al., 2002). Esses autores conotam maior importância para os Hymenoptera, descrevendo-os como os parasitoides mais utilizados em controle biológico, com vários representantes de Braconidae e Ichneumonidae (Ichneumonoidea); Eulophidae, Pteromalidae, Encyrtidae e Aphelinidae (Chalcidoidea).

Dentre os diversos métodos de controle de pragas, o controle biológico com parasitoides é o mais eficiente dos meios de combate à broca-da-cana (MACEDO & BOTELHO, 1988; TERAN et al., 1986). Este método de controle pode ser realizado por

meio de introduções de parasitoides de outros países, liberações suplementares ou ainda realizando o manejo do meio, melhorando as condições favoráveis aos inimigos naturais, tornando-os mais eficientes (BENNETT, 1977).

Para a cultura da cana-de-açúcar, mais em específico para a broca-da-cana-de-açúcar, *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794) (Lepidoptera: Crambidae), em 1973, o Instituto do Açúcar e do Alcool iniciou o Programa Nacional de Melhoramento da Cana-de-açúcar no Brasil, com o objetivo, a priori, de conhecer seus hábitos, biologia, inimigos naturais e os principais prejuízos ocasionados à cana (BOTELHO, 1992).

D. saccharalis foi descrita primeiramente pelo naturalista holandês Johann Christian Fabricius em 1794 com o nome de *Phalaena saccharalis*. Posteriormente, Grulding em 1832, denominou-a *Diatraea sacchari*, mas a prioridade do nome específico corresponde ao de *saccharalis*, de Fabricius (PRUNA, 1969).

MENDONÇA (1996) afirmou que a broca-da-cana-de-açúcar é a espécie mais importante do gênero e de maior distribuição como praga daquela cultura em todo continente Americano, constituindo-se a de maior importância econômica no Brasil, onde causa prejuízos em lavouras de todo o território nacional.

Os ovos são colocados em grupos ou massas (Fig 1), chamados comumente de “posturas”. Na natureza elas são depositadas na folhagem da cana, tanto na bainha como nas duas faces da lâmina foliar e, ocasionalmente, nos colmos mais tenros (TERAN et al., 1983). Segundo MACEDO et al. (1983) e GALLO et al. (2002), o número de ovos em cada postura é variável de cinco a 50, apresentam forma imbricada, assemelhando-se a um segmento de couro de cobra ou escamas de peixe. Segundo BOTELHO & MACEDO (2002), um ovo cobre $\frac{2}{3}$ ou a metade do que vem logo a seguir.

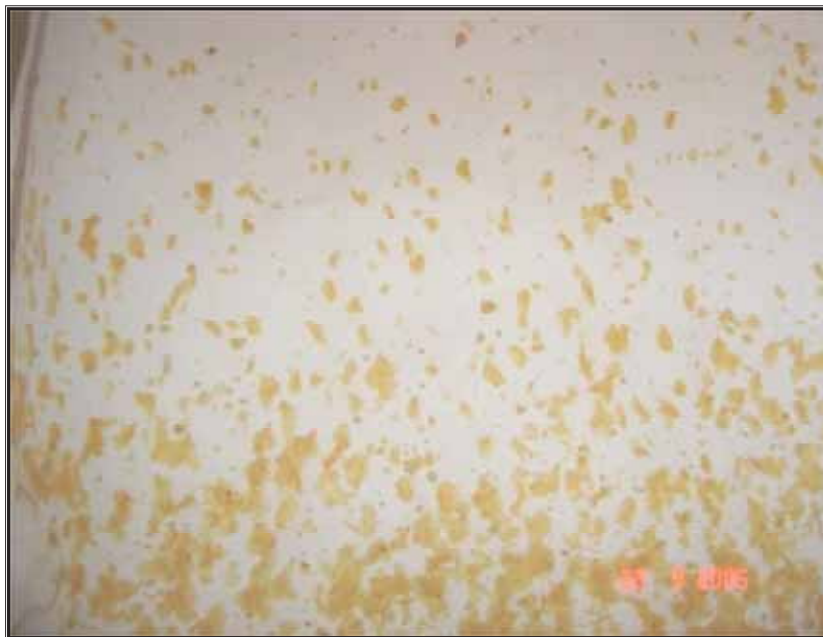


Figura 1. “Posturas” de ovos de *Diatraea saccharalis* realizadas sobre folha de papel.

GUAGLIUMI (1972), MENDONÇA (1996) e GALLO et al. (2002) descreveram a broca (Fig 2) que apresenta coloração amarelada ou amarelo-pálida; cápsula cefálica geralmente preta ou marrom-escura; duas séries dorso-longitudinais de manchas escuras que parecem formar duas linhas ao longo do dorso, e duas faixas acinzentadas dorso laterais. MENDONÇA (1996) relatou que as lagartas da broca podem passar por seis ecdises.

A broca (lagarta) é a segunda fase biológica de *D. saccharalis*, onde ocorre o seu crescimento e a sua alimentação diretamente da cana, causando danos (TERAN et al., 1983). ALMEIDA et al. (2008) afirmaram que quando eclodem as larvas, passam pelo primeiro instar raspando as folhas e depois de passarem pelo segundo instar, se dirigem ao cartucho, e penetram na base dos entrenós, construindo uma galeria, permanecendo dentro da cana durante todo o período larval, que tem a duração de aproximadamente 40 a 60 dias, até se transformarem em pupas.



Figura 2. Lagarta de *Diatraea saccharalis* sobre o colmo de cana-de-açúcar.

A pupa ou crisálida de *D. saccharalis* (Fig 3) possui coloração marrom e é encontrada no colmo, no interior das galerias abertas pelas lagartas. O sexo pode ser identificado na fase pupal pelo tamanho, com a fêmea geralmente maior que o macho, entretanto a localização e forma da abertura genital na pupa distinguem de forma indiscutível o sexo (MENDONÇA, 1996).

TERAN et al. (1983) afirmaram que ao final do crescimento da larva, ela se transforma em pupa dentro da mesma cana, formando o terceiro estado biológico, também conhecido como crisálida. A pupa é o estágio de maior transformação do inseto, uma vez que é nesta fase que ocorre a formação do adulto, com a ocorrência de fenômenos fisiológicos conhecidos como histólise e histogênese. O estágio de pupa demora entre 9 e 14 dias, quando emergem os adultos (GALLO et al., 2002; ALMEIDA et al., 2008).



Figura 3. Pupas de *Diatraea saccharalis* no interior de recipiente de desenvolvimento.

Segundo TERAN et al. (1983), o adulto (Fig 4) é o último estágio biológico do inseto e emerge da pupa, sua principal função é a reprodução, além da dispersão.

A longevidade dos adultos é de 5 a 7 dias (ALMEIDA et al., 2008), apresentam coloração amarelo palha, cerca de 25 mm de comprimento, asas anteriores com linhas diagonais em forma de duplo V invertido, mais nítido nos machos. As fêmeas são um pouco maiores (GUAGLIUMI, 1972; TERAN et al., 1983; MENDONÇA, 1996). Os machos apresentam concentração de cerdas no 3º par de pernas, característica ausente nas fêmeas (MACEDO et al., 1983; MENDONÇA, 1996).

GUEVARA (1976) estudou a biologia da broca-da-cana em condições naturais, constatou que o período de incubação foi de 9 dias, o larval 68,9 dias e o pupal 10,9 dias, o que determina um ciclo total (postura até emergência dos adultos) de 88,8 dias.



Figura 4. Adulto de *Diatraea saccharalis* (fêmea).

ARAÚJO et al. (1982) também estudaram o ciclo biológico da praga em condições de campo e relataram um período de incubação (oito dias) menor do que o observado por GUEVARA (1976) e para as fases de lagarta e pupa, o período de desenvolvimento foi superior em 1,6 dias e 1 dia, respectivamente. O ciclo total encontrado por estes autores foi de 109,2 dias.

KING et al. (1975), observaram a biologia de *D. saccharalis* em oito temperaturas, 16,6; 18,4; 22; 26; 28; 30; 32 e 34°C e verificaram que houve um decréscimo do período de incubação com a elevação da temperatura até 32°C; para o desenvolvimento larval ocorreu um alongamento a 22°C e foi mais curto a 30°C; a fase pupal foi menor a 33°C, mas com alta mortalidade; o peso de pupas foi maior a 22°C, tanto para machos como para fêmeas; os adultos apresentaram maior longevidade a 15,6°C e as fêmeas produziram maior número de ovos a 24°C.

MENDONÇA (1996) conclui que a média do ciclo total de *D. saccharalis* é de 50 a 62 dias (ovo: 4-8, lagarta: 40, pupa: 6-14); longevidade média do adulto: 7 dias. Podem ocorrer de três a quatro gerações por ano e nas regiões de clima frio e/ou seco, a lagarta pode entrar em diapausa por um período de 100 a 150 dias.

PINTO (2006) relatou que a duração média do ciclo de vida de *D. saccharalis* é de 32 a 114 dias (ovo: 4-12, lagarta: 20-79, pupa: 6-14) e podem alcançar longevidade de dois a nove dias na fase adulta.

ALMEIDA et al. (2008) concluíram que a duração média do ciclo de vida de *D. saccharalis* é de 58 a 90 dias (ovo: 4-9, lagarta: 40 a 60, pupa: 9-14), com longevidade dos adultos de cinco a sete dias e quatro a cinco gerações anuais.

Quando as lagartas atacam as canas novas de até quatro meses de idade, causam a morte da gema apical, provocam a morte da planta e apresentam o sintoma conhecido como “coração morto” (Figs 5 e 6). Em cana adulta, as perfurações (Fig 7) e galerias provocadas no colmo pelas lagartas causam brotações laterais (Fig 8), enraizamento aéreo, perda de peso, afinamento do colmo, atrofia de entrenós e morte da planta, sendo responsável pela queda do rendimento agrícola (MENDONÇA, 1996).



Figura 5. “Coração Morto” causado por ataque de *Diatraea saccharalis*.



Figura 6. Detalhe de “Coração Morto” causado por ataque de *Diatraea saccharalis*.



Figura 7. Orifício no colmo causado por ataque de *Diatraea saccharalis*.



Figura 8. Brotação lateral causada por ataque de *Diatraea saccharalis*.

Nas perfurações feitas pelas lagartas (Fig 7) e nas rachaduras do colmo penetram fungos (*Fusarium moniliforme* Sheldon e ou *Colletotrichum falcatum* Went) causadores da Podridão Vermelha (Fig 9), responsáveis pela queda no rendimento industrial, provocado pela inversão da sacarose, diminuição da pureza do caldo e contaminações no processo de fermentação alcoólica (PLANALSUCAR, 1982).

O IAA/PLANALSUCAR no Brasil considera que para cada 1% de Intensidade de Infestação (%I.I.) ocorre uma perda em açúcar recuperável correspondente a 0,48% em kg de açúcar/tonelada de cana, 1,4% em litros de álcool/t cana, e 0,14% em perda de peso (t) no campo, além de considerar 0,094t açúcar/t de cana, como fator oficial de conversão de t de cana em t de açúcar recuperável pela indústria, para a região centro-sul (GALLO et al., 2002; MACEDO & BOTELHO, 1988).

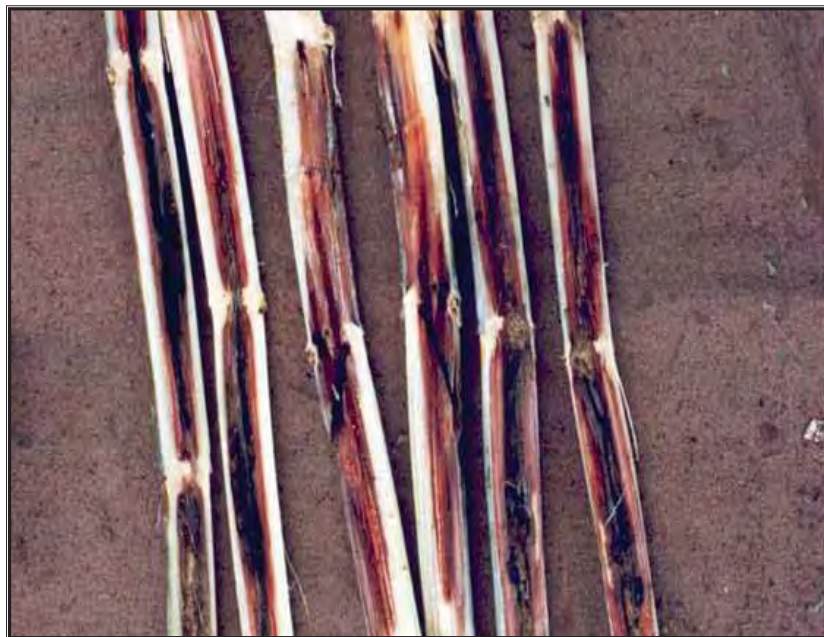


Figura 9. “Podridão Vermelha” no colmo de cana-de-açúcar:
Dano Indireto causado pelo ataque de *Diatraea saccharalis*.

ALMEIDA et al. (2008) afirmaram que experimentos conduzidos em telados e campo indicaram que para cada 1% de (I.I.) ocorreram perdas médias de 0,77% na produção de cana, acrescidas de 0,25% na produção de açúcar e 0,20% na de álcool; Observaram que as perdas de campo são representadas pelas canas quebradas e mortas que permanecem no canavial e as perdas em açúcar e álcool referem-se aos danos do complexo broca-podridão vermelha que ocorrem nas canas danificadas e que são levadas à Indústria.

O controle biológico da *D. saccharalis*, com a utilização dos seus inimigos naturais, tornou-se prática bastante difundida e utilizada nas usinas de cana-de-açúcar do Brasil (ARAÚJO, 1987) e apresenta características fortemente ecológicas, com o intuito de manter e aumentar os inimigos naturais no agroecossistema.

Dos parasitoides liberados para o controle da broca-da-cana-de-açúcar, *Cotesia flavipes* Cameron, 1891 (Hymenoptera: Braconidae) (Figs 10 e 11), tem se mostrado o mais eficiente (ALMEIDA et al., 1991; BOTELHO et al., 1983) e é o agente de controle produzido em maior número nos laboratórios do Estado de São Paulo. Estes

laboratórios realizam uma série de atividades, entre as quais a produção massal dos parasitoides, levantamentos populacionais da praga, liberações dirigidas, avaliação de parasitismo e o levantamento de intensidade de infestação (porcentagem de entrenós brocados) para avaliação dos danos causados pela broca (ALMEIDA et al., 1988; COPERSUCAR, 1984).



Figura 10. Fêmea de *Cotesia flavipes*.



Figura 11. Macho de *Cotesia flavipes*.

Sem dúvida esse caso é o de maior impacto no controle biológico brasileiro. A introdução e liberação de *C. flavipes* diminuiu a intensidade de infestação da broca-da-cana, que era de 8 a 10% e passou para 2% no estado de São Paulo, o que resultou numa economia de 80 milhões de dólares/ano (GALLO et al., 2002).

Acredita-se que *C. flavipes* seja originário do Japão e foi introduzido na Índia, Paquistão, Ceilão, Filipinas, Ilhas Mauritius e Reunião para ser utilizado no controle das brocas do arroz e cana-de-açúcar, entre as quais *Chilo* sp. (Lepidoptera: Crambidae) e *Sesamia* sp. (Lepidoptera: Noctuidae) (MENDONÇA, 1996).

Em 1966 foram introduzidos aproximadamente 2.000 casulos de *C. flavipes* da Índia para Barbados, aí se estabelecendo a partir de 1967 onde se constituiu no mais eficiente parasitoide de *D. saccharalis*, com taxa de parasitismo superior a 30% durante o período de 1968-69 (ALAM et al., 1971).

Em 1970 foi levado de Trinidad para Colômbia onde foram testados em laboratórios. Posteriormente, em meados de 1975, novas introduções foram feitas de

Trinidad, cujas liberações demonstraram sua adaptação e capacidade de controle de *D. saccharalis* tanto em cana-de-açúcar como em milho e sorgo (MENDONÇA, 1996).

Em dezembro de 1975 ocorreu a primeira introdução de *C. flavipes* na Venezuela, um total de 500 casulos provenientes de Trinidad (MENDONÇA, 1996).

No Brasil, as primeiras tentativas de introdução de *C. flavipes* foram feitas pelo Departamento de Entomologia da ESALQ-USP em Piracicaba e COPERSUCAR em São Paulo, com a primeira remessa em 14/12/1971 (TERAN, 1975), limitando-se apenas a observações de laboratório e a algumas liberações isoladas, em canaviais próximos à ESALQ-USP, não sendo constatada, naquelas ocasiões, nenhuma recuperação do parasitoide nos canaviais (TERAN, 1975).

No Estado de São Paulo, com condições climáticas um tanto desfavoráveis, apesar de sua adaptação surpreendente, o parasitismo se mantinha em níveis reduzidos, diante das adversidades climáticas (MACEDO et al., 1977; PEREIRA et al., 1977; PLANALSUCAR em *Notícias*, 1975a,b,c; RISCADO et al., 1970; MENDONÇA et al., 1978).

Em 1978, procurando superar essas limitações, os técnicos Macedo & Mendes do PLANALSUCAR/COSUL, com a colaboração do Dr. F. Bennett do Commonwealth Institute of Biological Control (CIBC), introduziram em São Paulo novas raças de *C. flavipes* originárias da Índia e Paquistão, com maiores potencialidades de adaptação em regiões mais frias e úmidas. A partir daí, os resultados de parasitismo se mostraram surpreendentes, com eficiência, muitas vezes, superior a somatória dos parasitoides nativos tradicionais, *Metagonistylum minense* (= *Lydella minensis*) Townsend, 1927 (Diptera: Tachinidae) e *Paratheresia claripalpis* Van der Wulp, 1896 (Diptera: Tachinidae) (MACEDO et al., 1984).

Segundo MENDONÇA (1996), a introdução do microhimenóptero endoparasitoide larval *C. flavipes* originário da Índia, pelo CIBC em Trinidad, foi realizada por A.F. Mendonça, em abril de 1974, para o IAA/PLANALSUCAR – Alagoas. A partir de então, controle biológico da broca-da-cana-de-açúcar no Brasil se tornou mais dinâmico. MENDONÇA (1996) relatou ainda que a rápida adaptação deste parasitoide nas diferentes regiões canavieiras do país, bem como o desenvolvimento

pelo IAA/PLANALSUCAR de tecnologia para sua produção em larga escala possibilitaram a montagem de laboratórios em unidades industriais e associações de plantadores de cana em vários estados produtores de cana-de-açúcar.

MOUTIA & COUTOIS (1952) afirmaram que *C. flavipes* foi descrito por Cameron, no ano de 1891, em Poona (Índia) e redescrito por WILKINSON (1928). MASON (1982) fez a revisão taxonômica e reuniu dados da distribuição dos mais antigos exemplares do gênero, demonstrando que 30 a 40% das espécies estão nas regiões temperadas. UEHARA (2000) afirmou que em trabalhos anteriores a 1981, o parasitoide *C. flavipes* foi citado como *Apanteles flavipes* (Cameron, 1891), (Hymenoptera: Braconidae).

Ocasionalmente *C. flavipes* se reproduz por partenogênese arrenótoca, apresentando durações médias do período ovo-larva e da fase de pupa de, respectivamente, 13 e 5 dias a 23,4°C e de 17 e 12 dias a 17,5°C, parasitando *Proceras sacchariphagus* Bojer, 1856 (Lepidoptera: Pyralidae) (MOUTIA & COURTOIS, 1952).

Os machos de *C. flavipes* tem hábitos poligâmicos e as fêmeas monogâmicos, pois elas voam após o acasalamento, e os machos permanecem sobre a cana-de-açúcar procurando outras fêmeas, até que elas se tornem escassas (ARAKAKI & GANAHA, 1986; CAMPOS-FARINHA, 1996).

BOTELHO (1992) relatou as principais atividades desenvolvidas pelo IAA/PLANALSUCAR sobre controle biológico da broca-da-cana-de-açúcar ao longo de 15 anos de pesquisa, que abrange os estados de Paraná, São Paulo, Minas Gerais, Mato Grosso do Sul e Mato Grosso, correspondendo a uma área de 2,3 milhões de hectares. O autor descreveu os resultados obtidos com os principais parasitoides larvais dessa praga, dentre eles a vespa *C. flavipes*; relatou que as criações e liberações de *C. flavipes* foram constantes e crescentes a partir de 1976, passando por certa estabilização após 1985, com aumento do número de parasitoides liberados em função, principalmente, do tamanho da área de plantio da cana.

A criação de *D. saccharalis* e de seu parasitoide *C. flavipes* em laboratório, durante aproximadamente 35 anos no Brasil, pode ser responsável por mudanças na biologia e no comportamento destes insetos e por consequência a formação de

diferentes populações nos diversos laboratórios de criação massal atualmente distribuídos no país, o que pode ter causado queda de qualidade do material biológico.

A troca de informações entre os laboratórios que produzem esses insetos, a competitividade estimulada entre eles, e as frequentes pesquisas locais fizeram com que ocorresse diferença significativa entre as metodologias utilizadas nos laboratórios, que buscam sempre um aumento na produtividade, mas com a mesma base de produção (VIEL, 2009).

Além dos laboratórios de usinas e do Centro de Tecnologia Canavieira (CTC), são vários os laboratórios particulares que comercializam pupas de *C. flavipes*, principalmente na região sudeste do país. O aumento na produção proporcionou diminuição significativa no custo para a aquisição deste parasitoide e, por consequência, o custo de controle da praga. O acesso ao material ficou extremamente facilitado, em qualquer região do país, devido à técnica de produção e a facilidade do transporte, mantendo baixo o custo para aquisição desse agente de controle (VIEL, 2009).

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Aspectos gerais sobre criação de *Diatraea saccharalis* e *Cotesia flavipes*

PAN & LONG (1961) realizaram criação massal de *D. saccharalis* em dieta artificial e em “ponta de cana”, quando avaliaram o consumo de alimento pelo inseto, não verificaram diferença significativa entre os dois meios de criação e observaram que as fêmeas pareciam ser mais sensíveis às deficiências nutricionais do que os machos, em ambos os substratos.

WONGSIRI & RANDOLPH (1962) compararam a biologia da broca-da-cana-de-açúcar em dieta artificial a base de germe de trigo e colmos de sorgo, em temperatura

de 25°C; observaram que o período larval teve 5 ínstaes em ambos os substratos, com a menor duração em meio natural, o período pupal foi maior em dieta artificial e o ciclo total de 42,8 e 40 dias, respectivamente.

A criação massal de *D. saccharalis* conduzida por SANTA CRUZ et al. (1964), visou a obtenção de insetos para estudos de resistência de variedades de milho. Compararam quatro dietas, procurando a mais adequada, e observaram que por três gerações sucessivas as dietas a base de soja e milho da variedade opaco, foram superiores às preparadas com feijão cozido ou cru, em relação à viabilidade pupal, ao peso médio de pupas, à longevidade de adultos e ao número de ovos por fêmea.

MISKIMEN (1965) estudaram o efeito da temperatura e umidade relativa do ar no desenvolvimento da broca e verificaram que a melhor temperatura para criação do inseto foi de 26°C. Nesta temperatura foram registradas as maiores viabilidades nas diferentes fases e menores porcentagens de anormalidades de adultos. O primeiro e o segundo ínstaes exigem umidade abaixo de 85%, uma vez que acima desse valor pode ocorrer a morte das lagartas; a partir do 3º ínstar umidade até 90% não afeta o desenvolvimento normal do inseto.

WALKER et al. (1966) observaram que lagartas de *D. saccharalis*, alimentadas com colmos de milho em laboratório, apresentaram período larval de 50 dias com cinco ínstaes e peso de pupas de 52 e 122 mg, respectivamente, para machos e fêmeas. Com relação à fase adulta, constataram que os machos viveram quatro dias e as fêmeas cinco dias, período no qual cada fêmea colocou em média 550 ovos. VAN DINTHER & GOOSSENS (1970), utilizaram o mesmo substrato e observaram fase larval com duração de 28 dias e viabilidade de 70%, e pupas de machos e fêmeas com peso de 46 mg e 103 mg, respectivamente. Em colmos de arroz, a viabilidade foi reduzida a 30% e a duração da fase larval de 30 dias; houve aumento no peso médio de pupas que deram origem a machos e diminuição naquelas que originaram fêmeas.

BOWLING (1967) relatou que com dieta à base de feijão, em temperatura de $26,6 \pm 1,6^\circ\text{C}$ e fotofase de 14 horas, o período de incubação de *D. saccharalis* foi 6,5 dias, e a duração dos períodos larval e pupal de 6,5 e 7,9 dias, respectivamente.

Estudos da biologia de *D. saccharalis* foram conduzidos por WALKER (1968), para aplicação da técnica do inseto estéril, com o objetivo de verificar o melhor estágio para esterilizar o inseto com raios – γ ^{60}Co ; observou que a broca apresentou melhor desenvolvimento em dieta a base de milho, cenoura em pó e caseína, do que no substrato natural (colmos de milho).

HENSLEY & HAMMOND JR. (1968) utilizaram dietas artificiais para a criação de lagartas da broca-da-cana em laboratório, e relataram que a adição do germe de trigo à dieta deu origem a um meio de alto valor nutricional que propiciou desenvolvimento de insetos comparáveis àqueles criados em cana ou milho.

No Brasil, os trabalhos com dietas artificiais foram iniciados por GALLO et al. (1971), no Departamento de Entomologia da ESALQ, em Piracicaba, SP. Aqueles autores utilizaram a dieta proposta por HENSLEY & HAMMOND JR. (1968) com algumas modificações para criação massal de *D. saccharalis* em um programa que visava seu controle biológico com a utilização de dípteros da família Tachinidae. A partir daí, outros trabalhos foram desenvolvidos para a criação da broca-da-cana no país.

SGRILLO (1973) estudou a criação do inseto, em laboratório, com o objetivo de automatizar a distribuição da dieta e dos ovos, escolher técnicas de manuseio para os insetos e analisar custos da criação. MENDONÇA FILHO (1973) descreveu a metodologia de criação de *D. saccharalis* em dieta artificial para produção de parasitoides utilizada pelo PLANALSUCAR em Maceió, AL. RISCO et al. (1973), criaram a praga em dieta artificial a base de fibra de cana e pó de cenoura e obtiveram 54,1% de lagartas do 4º instar aptas a serem “inoculadas” com parasitoides.

VILLACORTA & MAGRO (1975) descreveram uma metodologia de criação de *D. saccharalis* em laboratório, com dieta artificial à base de feijão, enquanto NOVARETTI & TERAN (1976) testaram variedades de feijão como fonte de proteína e verificaram que com feijão branco ocorreu maior peso de pupas e maior porcentagem de brocas aptas para inoculação.

BREWER (1976) comparou dietas para *D. saccharalis* com diferentes fontes protéicas (feijão, caseína, germe de trigo, soja), discutiu os custos e a qualidade destas dietas. A possibilidade da produção massal de *D. saccharalis* sobre arroz em casca, a

baixo custo e com bastante facilidade foi demonstrada por MACEDO et al. (1976) que ressaltou a necessidade de se investigar recipientes para a manutenção das lagartas mais adequados, quantidades ideais de arroz, número de lagartas por frasco e o teor de umidade mais conveniente para criação do inseto.

BREWER (1977), quando comparou duas dietas, uma a base de soja e óleo de milho e outra contendo soja e germe de trigo, observou que as vitaminas pantotenato de cálcio, niacina e riboflavina foram essenciais ao crescimento e reprodução da broca. As lagartas foram criadas a 29,5°C, 75% de umidade relativa e fotofase de 14 horas e os adultos a 24°C, 80% de umidade relativa do ar e a mesma fotofase. Os períodos larval e pupal foram menores nos insetos criados nas dietas a base de soja e óleo de milho, apresentaram em média, durante cinco gerações, 30 e 8,4 dias, respectivamente; as pupas foram mais pesadas nessa dieta (BREWER, 1981).

CASTILHO, (1982) encontrou quase 50% a menos de adultos de *C. flavipes* por massa analisada provenientes do campo quando comparadas às geradas em laboratório, explicando essa diferença pelo fato do nível nutricional do hospedeiro criado em laboratório ser melhor que o do hospedeiro criado em cana-de-açúcar, inferindo que essa pode ser a causa da diminuição constante da população do parasitoide introduzido no campo.

ROE et al. (1982), criou *D. saccharalis* em dieta à base de germe de trigo, caseína e farinha de milho, a 30°C; observaram que o estágio larval apresentou até sete ínstaes, das quais 28,3% das lagartas apresentaram (cinco instares), 68,9% (seis ínstaes) e 2,8% (sete instares).

OSORES et al. (1982) descreveram um método de criação da broca da cana-de-açúcar em meio artificial para a produção de parasitoides. Os insetos foram mantidos a 26±2°C e apresentaram ciclo total médio de 45 dias, nessas condições as lagartas com 18 dias estavam aptas para inoculação.

As diferentes fases do ciclo biológico de *D. saccharalis* em plantas de milho foram estudadas por MANPRIM & DE BORTOLI (1983); o período de incubação e as fases de lagarta e pupa duraram respectivamente 7,1; 43,9 e 6,4 dias, com ciclo total de 60,6 dias.

MÉLO (1984) estudou a biologia de *D. saccharalis* em diferentes temperaturas com o objetivo de determinar as exigências térmicas, fez uma revisão sobre uso de dietas naturais e artificiais para produção desta espécie, esclarecendo diversos pontos quanto às necessidades térmicas da broca da cana-de-açúcar para produção em laboratório.

ARAÚJO (1987) afirmou que as dietas não passam de uma ração balanceada, onde os componentes foram dosados de tal forma que permitem o fornecimento de nutrientes essenciais ao desenvolvimento da fase larval da *Diatraea*, eles são homogeneizados e estabilizados em mistura de consistência apropriada, o que favorece o desenvolvimento dos insetos. Aquele autor desenvolveu um guia prático para criação da broca da cana-de-açúcar e de seus parasitoides, incluiu informações sobre a dieta sugerida, as principais funções de cada ingrediente utilizado e uma metodologia de produção detalhada.

Para a alimentação de adultos de *D. saccharalis*, diferentes fontes de carboidratos (sacarose, glucose e frutose), mel de abelhas em duas concentrações (5 e 10%), e o efeito da água oferecida como fonte de alimento ou fornecida por meio do umedecimento do papel de postura foram analisadas pelos efeitos na fecundidade destes insetos. O adulto da broca não necessitou de carboidratos na alimentação, pois os insetos alimentados apenas com água colocaram número de ovos igual ou superior aos insetos mantidos nos demais regimes alimentares, com longevidade superior e viabilidade de ovos equivalente (PARRA et al., 1999).

SOUZA et al. (2001) utilizaram medidas de consumo e utilização de alimento para determinar, entre 25 e 30°C, qual a temperatura mais adequada para criação de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae), *D. saccharalis* e *Heliothis virescens* (Fabricius, 1777) (Lepidoptera: Noctuidae) em dieta artificial. Baseado na matéria seca determinaram o peso da lagarta no máximo desenvolvimento, do alimento consumido, das fezes eliminadas e os índices nutricionais: taxa de consumo relativo (RCR), taxa de crescimento relativo (RGR), taxa metabólica relativa (RMR), digestibilidade aparente (AD), eficiência de conversão do alimento ingerido (ECI) e eficiência de conversão do alimento digerido (ECD). Os resultados mostraram

que para *D. saccharalis* não houve diferença nos índices nutricionais avaliados nas duas condições térmicas.

Segundo SLANSKY JR. & SCRIBER, (1985) e THOMPSON, (1986), larvas de primeiro ínstar dos parasitoides se nutrem da hemolinfa do hospedeiro e causam um mínimo de interrupção no seu desenvolvimento e comportamento do mesmo. Os tecidos do hospedeiro são consumidos apenas no final do desenvolvimento larval, devido ao mesêntero das larvas do parasitoide ser “cego” e pelo fato dos tubos de Malpighi poderem ser ausentes ou não funcionais. Assim, ocorre acúmulo de excretas até que aconteça a emergência do parasitoide.

SLANSKY JR. (1986) afirmou que os parasitoides gregários frequentemente provocam aumento da alimentação de suas larvas hospedeiras, ao passo que os solitários muitas vezes reduzem esta alimentação e crescimento do hospedeiro. THOMPSON (1986) inferiu que diversas espécies de himenópteros absorvem nutrientes diretamente da cutícula, mencionou que aminoácidos podem ser considerados importantes na nutrição e adaptação de parasitoides, pois estudos “in vitro” demonstraram que apenas aminoácidos podem suprir as exigências de energia para completar o desenvolvimento larval de parasitoides.

PÁDUA (1986) utilizou brocas de *D. saccharalis* alimentadas com diferentes dietas antes da inoculação com *C. flavipes*: a primeira, segundo BOWLING (1967), modificada com o acréscimo de 12,5 ml de ácido acético; a segunda, conforme POITOUT & BUES (1970); a terceira, de acordo com HENSLEY & HAMMOND JR. (1968); e a quarta, de HENSLEY & HAMMOND JR. (1968) modificada com o acréscimo de 2,0 ml de ácido acético. O número de casulos por massa não foi afetado pelas dietas de criação de *D. saccharalis* na primeira geração, diferindo estatisticamente na segunda geração, com a dieta de HENSLEY & HAMMOND JR (1968) modificada, onde obteve o menor número de casulos por massa. A quantidade de casulos ficou entre 40,2 e 26,4; o número de adultos por massa não diferiu entre os tratamentos nas duas gerações e a razão sexual foi semelhante com todas as dietas, nas duas gerações.

PEREIRA-BARROS et al. (2005) estudaram aspectos biológicos de *Trichogramma galloi* Zucchi, 1988 (Hymenoptera: Trichogrammatidae) criado com e

sem alimento (mel), em ovos de *D. saccharalis*. Diariamente foram feitas duas observações, com intervalo de 12 horas, desde a emergência do primeiro até a morte do último parasitoide, e observaram que a longevidade foi, em média, $3,3 \pm 0,1$ dias e $6,4 \pm 0,2$ dias, sem e com alimentação, respectivamente.

VIEL (2007) realizou testes para aumentar a produtividade na criação de *C. flavipes*. Avaliou a média de indivíduos por oviposição, eficiência de parasitismo induzido e razão sexual de adultos obtidos a partir de oviposições utilizando fêmeas alimentadas anteriormente ao parasitismo. Apesar das diferenças encontradas, a média geral de indivíduos obtidos por massa, alimentados ou não antes da inoculação, razão sexual média e eficiência de inoculação não foram afetadas pelo uso de diferentes dietas.

2.2 Razão sexual de *Cotesia flavipes*

Os parasitoides podem determinar a razão sexual de suas progênes ao avaliar seus hospedeiros, a fim de maximizar o tamanho ideal da prole. O tamanho do hospedeiro seria o fator mais importante na determinação da razão sexual da progênie depositada em um hospedeiro, alguns himenópteros podem adaptar a distribuição da prole no hospedeiro de acordo com o tamanho do mesmo e ajustar a razão sexual para maximizar a aptidão de seus descendentes (CHARNOV, 1979).

CUEVA et al. (1980) estudaram a biologia de *C. flavipes* em diferentes condições de temperatura e umidade, e concluíram que, com uma única cópula a razão sexual foi 0,6 ou seja, 1 macho para 1,6 fêmeas; tais números podem ser alterados pelo número de cópulas e de oviposições.

PÁDUA (1983) avaliou a razão sexual de *C. flavipes* criada com *D. saccharalis* em diferentes temperaturas e fotofase de 14 horas, e observou razões de 0,67 para 20 e 25°C, 0,44 para 22°C e 0,75 para 30°C. Justificou o valor elevado de partenogênese arrenótoca facultativa afirmando que a não fertilização das fêmeas a 22°C pode ter

ocorrido devido ao pequeno tamanho dos recipientes de criação onde os insetos permaneceram durante o período de pré-inoculação, ou devido à densidade populacional inadequada ao parasitoide. PETERS & BARBOSA (1977) afirmaram que ocorrem mudanças no tamanho, peso, fecundidade, taxa de desenvolvimento e comportamento de *C. flavipes* em função da densidade populacional e do tamanho do recipiente de criação. PÁDUA (1983) sugeriu a realização de estudos para se determinar um tipo de gaiola adequado, a densidade populacional, e o tempo necessário para o acasalamento deste parasitoide, uma vez que a partenogênese, com a consequente produção de machos, é prejudicial em programa de criação massal de parasitoides.

PÁDUA (1986) avaliou a influência da nutrição, temperatura e umidade relativa do ar na relação entre *C. flavipes* e *D. saccharalis*, e observou que a umidade relativa do ar não afetou a razão sexual de *C. flavipes*, obteve razões sexuais muito próximas, entre 0,69 e 0,88 nos seis tratamentos (40; 50; 60; 72; 82 e 100% de UR) e as diferentes temperaturas afetaram igualmente machos e fêmeas do parasitoide com razão sexual entre 0,56 e 0,69 nas temperaturas de 20, 22, 25, 30 e 32°C.

Ao analisar a razão sexual de *C. flavipes* exposta a diferentes temperaturas e número de lagartas de *D. saccharalis*, PÁDUA (1986) encontrou alteração na razão sexual, com grande número de machos. Quando foi oferecida uma lagarta por parasitoide as médias ficaram entre 0,26 a 32°C e 0,63 a 25°C; com duas lagartas por parasitoide, ficou entre 0,45 a 25°C e 0,85 a 32°C; e entre 0,10 a 32°C e 0,71 a 20°C para três lagartas oferecidas a uma mesma vespa; concluiu que a distribuição das razões sexuais nos tratamentos ocorreu, provavelmente, ao acaso.

A quantificação de *C. flavipes* em cana-de-açúcar para o controle de *D. saccharalis* em talhões comerciais de cana planta em duas usinas do Estado do Rio de Janeiro, infestados artificialmente com lagartas de *D. saccharalis* e posterior liberação de *C. flavipes* foi estudada por LIMA FILHO (1989). Observou que em área com baixas infestações de *D. saccharalis* e que nunca havia sido liberado o parasitoide, as relações entre machos e fêmeas foram de 1:1,6; 1:1,1; 1:0,6; 1:0,7 e 1:1,7, com média de 1:1,1 e as razões sexuais de 0,62; 0,51; 0,39; 0,41 e 0,62 com média de 0,51. Em uma área

com altos índices de infestação da broca e com frequentes liberações do parasitoide, observou uma relação entre machos e fêmeas de 1:2,2; 1:4,0; 1:2,4; 1:2,1 e 1:2,0 com média de 1:2,5 e com razões sexuais de 0,68; 0,80; 0,70; 0,67 e 0,61 com média de 0,69.

WIEDENMANN & SMITH JR. (1995) compararam a proporção sexual de *C. flavipes* em três linhagens (Tailândia, Valley e New Valley) criadas no hospedeiro *D. saccharalis* e verificaram diferentes proporções sexuais. Na linhagem da Tailândia, a proporção foi de 1,51 fêmeas: 1 macho, na do Valley (Texas) 2,26 fêmeas: 1 macho e na de New Valley (Texas) 2,54 fêmeas: 1 macho. É possível que essas diferenças ocorram por fatores como o uso de diferentes linhagens de *C. flavipes* ou pelo tipo de dieta alimentar do hospedeiro.

CAMPOS-FARINHA & CHAUD-NETTO (2000) trabalharam com lagartas de *D. saccharalis* confinadas, individualmente, com fêmeas de *C. flavipes*. O número de posturas feitas pelas fêmeas do parasitoide não variou com a idade do hospedeiro, porém o número de descendentes foi maior nas lagartas mais pesadas. Nos três instares estudados (3º ao 5º), a razão sexual tendeu para fêmeas, principalmente quando receberam uma, duas e quatro posturas.

UEHARA (2000) avaliou a aptidão das populações de *C. flavipes* de laboratório e de campo, com o objetivo de comparar as proles das duas primeiras posturas em lagartas de 5º instar de *D. saccharalis*, determinando e comparando a razão sexual de seus descendentes. Para a razão sexual das proles obtidas do campo, incluindo a primeira e a segunda oviposição, ocorreu média de 0,61 e do laboratório de 0,77. A razão sexual média da primeira postura dos parasitoides do campo foi de $0,63 \pm 0,20$ e do laboratório de $0,77 \pm 0,10$, enquanto que a da segunda postura dos parasitoides do campo foi de $0,60 \pm 0,25$ e do laboratório $0,77 \pm 0,06$. Apesar das diferenças numéricas, a razão sexual da primeira e da segunda postura, tanto do campo como do laboratório, não mostraram diferenças estatísticas.

Para UEHARA (2005), as vespas parasitoides tem, frequentemente, a razão sexual desviada para fêmeas. Este evento é observado geralmente em parasitoides

gregários, entre os quais existe grande probabilidade da cópula ocorrer entre irmãos, inclusive de modo competitivo.

2.3 Quantidade de indivíduos por “massa” de pupas

MOUTIA & COURTOIS (1952) relataram média de 42,6 adultos de *C. flavipes* por massa analisada. Contudo, GALICHET (1971) constatou que a 25°C a duração do ciclo de *C. flavipes* sobre *D. saccharalis* é de 20 a 25 dias e uma produção média de 25 a 30 casulos por massa do parasitoide.

CASTILHO (1982) obteve 50,7 casulos de *C. flavipes* por massa e porcentagem de emergência de 83,2% de adultos criados em laboratório. Deduziu que a média esperada de adultos por massa deve ser de 42,2 indivíduos; analisando massas provenientes do campo, observou média de 26,6 indivíduos por massa e porcentagem de emergência de adultos de 76,3%. Trabalhando os resultados chegou à média de 20,3 indivíduos por massa do campo, 48% menos que em laboratório.

PÁDUA (1983) analisou o peso das massas de pupas e dos casulos individuais e o número de casulos por massa de *C. flavipes* parasitando *D. saccharalis* em diferentes condições de temperatura e fotofase de 14 horas. Não encontrou diferença estatística entre os tratamentos. Verificou que o número de casulos por massa variou de 39,4 a 45,2. Quanto ao número de adultos por massa em temperatura de 20 a 30°C, as massas obtidas a 25°C geraram 37,5 adultos, enquanto a 20 e 30°C apenas 32,0 e 31,8, respectivamente.

PÁDUA (1986) avaliou diferentes temperaturas para obtenção de adultos de *C. flavipes*, e concluiu que o número de adultos produzidos por massa do parasitoide não foi influenciado pela temperatura no intervalo entre 20 e 30°C; obteve entre 33,1 e 38,1 adultos por massa, para essas temperaturas.

LIMA FILHO (1989), em duas áreas com infestações artificiais de *D. saccharalis* e posterior recuperação das lagartas parasitadas por *C. flavipes*, encontrou diferentes

médias de adultos por massa recuperada. No primeiro experimento 56,0; 52,0; 39,7; 41,1 e 32,7, com média de 44,3 adultos por massa, e no segundo, 61,4; 43,4; 74,9; 48,2 e 57,1, com média de 57,0 adultos por massa de casulos.

POTTING et al. (1997a) afirmaram que para *C. flavipes* o tamanho da prole diminui com o número de oviposições, e que após a terceira oviposição a fêmea já depositou 80% dos seus ovos. Pelo fato de *C. flavipes* ser proovigênica, tem possibilidade de colocar 150 ovos que, em termos quantitativos essa quantidade varia entre 20 e 25% para cada hospedeiro parasitado em condições de laboratório. Desta forma, segundo os autores, a fêmea poderia parasitar cinco ou seis indivíduos diferentes.

UEHARA (2000) avaliou a aptidão das populações de *C. flavipes* de laboratório e de campo, com o objetivo de comparar as proles das duas primeiras posturas em lagartas de 5º instar de *D. saccharalis*. Os números de descendentes foram 50,8 e 41,6 indivíduos, respectivamente para as duas primeiras posturas. A média dos descendentes em laboratório foi maior quando comparada com os parasitoides coletados no campo, e a média de indivíduos na primeira oviposição do campo foi menor do que a da primeira do laboratório. Não houve diferença significativa entre as duas origens para os indivíduos da segunda oviposição.

VIEL (2007) avaliou a produtividade na criação de *C. flavipes* utilizando oito dietas na alimentação de adultos. Apesar das diferenças numéricas encontradas, a média de indivíduos obtidos por massa, razão sexual e eficiência de inoculação não foram afetadas pelas diferentes dietas.

2.4 Emergência de adultos de *Cotesia flavipes*

CASTILHO (1982) observou 10 gerações de *C. flavipes* provenientes da criação artificial de laboratório e encontrou média de 50,7 casulos de *C. flavipes* por massa com porcentagem de emergência de 83,2% de adultos; estimou média de 42,2 adultos por

massa. Essa porcentagem de emergência é semelhante a citada por GIFFORD & MANN (1967) que obteve 84% de emergência de adultos.

Já LIMA FILHO (1989), utilizou duas áreas com infestações artificiais de *D. saccharalis* e posterior recuperação das lagartas parasitadas por *C. flavipes* e encontrou diferentes médias de porcentagens de emergência. No primeiro experimento, verificou 92,1; 88,7; 81,5; 84,9; e 86,7%, com média de 86,8% de emergência de adultos, enquanto no segundo observou 91,2; 87,6; 89,1; 87,8 e 92,69%, com média de 89,7% de emergência de adultos. Esses valores são bastante próximos dos números observados por CASTILHO (1982) e por GIFFORD & MANN (1967).

CASTILHO (1982) em coletas realizadas em campo obteve porcentagem de emergência de adultos de 76,3%.

2.5 Peso dos casulos e das “massas” de pupas de *Cotesia flavipes*

PÁDUA (1983) analisou o peso médio das massas de casulos de *C. flavipes* obtidos do parasitismo em lagartas de *D. saccharalis* que se desenvolveram em cinco diferentes temperaturas e obteve um peso médio para os casulos de 1,1 mg. Segundo as diferentes temperaturas, o autor obteve 1,05 mg a 20°C; 1,14 mg a 22°C; 1,03 mg a 25°C; 1,21 mg a 30°C e 1,15 mg a 32°C, ou para as massas 47,29 mg a 20°C; 47,27 mg a 22°C e 47,03 mg a 25°C; 44,79 mg a 30°C; e 20,05 mg a 32°C. LIMA FILHO (1989) avaliou o número de exemplares de *Cotesia* para controle de *D. saccharalis*, utilizando em seu estudo a média do peso dos casulos de 1,1 mg, conforme sugerido por PÁDUA (1983), para obter em mg a quantidade de casulos a serem liberados para cada tratamento; para confirmação deste valor reservou amostras das massas pesadas para avaliação do peso médio de um casulo; contou os casulos emergidos e aqueles sem emergência, e verificou peso médio de 0,67 mg por casulo de *C. flavipes*, e promoveu correção em seu trabalho, nos valores citados por PÁDUA (1983).

PÁDUA (1986) observou variações no peso médio das massas de *C. flavipes* em duas gerações de lagartas criadas em diferentes dietas. Na primeira obteve 28,5; 28,3; 19,5; e 30,5 mg e, na segunda, 32,2; 36,4; 32,8; e 27,1 mg, o que mostrou a influência da alimentação do hospedeiro nos parâmetros qualitativos do parasitoide.

2.6 Longevidade de adultos de *Cotesia flavipes*

CUEVA et al. (1980) estudaram a biologia de *C. flavipes* em temperatura média de 28,1°C e umidade relativa de 67,9% e observaram longevidade média dos adultos de 2,3 dias; à 25,3°C e UR de 66,26% o parâmetro passou para 3,2 dias. MENDES et al. (1983) analisaram aspectos biológicos de *C. flavipes* em diferentes temperaturas por três gerações, e verificaram que a 20°C a longevidade de adultos alimentados decresceu de 7 para 5 e 4 dias, respectivamente na primeira, segunda e terceira gerações; à 25°C a longevidade foi de 5, 5 e 4 dias e, à 30°C, de 4, 4 e 2 dias, respectivamente. PÁDUA (1983) afirmou que a longevidade dos adultos, a 20°C foi de 3,2 dias; de 2,9 dias a 22°C; de 2,8 dias a 25°C e de 2,0 dias a 30°C, contrapondo os resultados das duas pesquisas anteriores.

Ao estudar o efeito da umidade relativa na longevidade dos adultos, PÁDUA (1986) obteve 3,5 dias a 100% de U.R., 1,4 dias a 82%, 1,1 dias a 72%, e 0,92 dia a 60%; observou ainda variações na longevidade dos adultos gerados a partir de lagartas de *D. saccharalis* alimentadas com diferentes dietas artificiais antes do parasitismo. Na primeira geração obteve 1,4; 1,5; 1,7; e 1,4 dias de longevidade com as diferentes dietas e, na segunda geração, encontrou 1,5; 1,3; 1,4; e 1,3 dias.

WAAGE (1986) afirmou que as fêmeas dos parasitoides podem submeter seu potencial reprodutivo em hospedeiros com baixa qualidade devido as longevidades dos parasitoides serem curtas. Isso se deve ao fato de que em algumas ocasiões os parasitoides podem ter a necessidade de ovipositar rapidamente, principalmente em baixas populações do hospedeiro, sem oportunidade de escolher hospedeiro com alta

qualidade. Neste sentido, ao avaliar a aptidão das populações de *C. flavipes* em laboratório, UEHARA (2000) verificou essa limitação de escolha do hospedeiro em seu experimento, quando foram oferecidos hospedeiros isolados, um de cada vez. Neste experimento, a autora mencionou que a longevidade média para adultos de *C. flavipes* foi curta, entre 2 e 3 dias (48 e 72 horas).

2.7 Controle de qualidade de *Cotesia flavipes*

Os machos em laboratório estão aptos para o acasalamento, em média, 13,5 minutos após a emergência e as fêmeas após 27,5 minutos. A duração média da cópula é de 8,2 segundos, e o número médio de cópulas para machos e fêmeas é, respectivamente, 17 e 5 vezes (CUEVA et al., 1980).

A duração média da cópula de *C. flavipes* é curta ($14,63 \pm 1,81$ segundos) e o macho copula mais vezes que as fêmeas. Em seu estudo GIFFORD & MANN, 1967 verificaram que em um tubo fechado de 2,54 cm de diâmetro ocorreu em média 8 cópulas, justificando a grande quantidade observada pelo fato das vespas estarem em ambiente fechado, impossibilitando a fêmea de sair a busca de seu hospedeiro após a primeira cópula.

No campo, as fêmeas que já copularam, voam quando o macho se aproxima para tentar nova cópula, devido ao hábito monogâmico das fêmeas e poligâmico dos machos. A emergência no campo concentra-se entre as 6:00 e 7:00hs, sendo que os adultos permanecem andando sobre a superfície inferior das folhas a uma distância aproximada de 50 cm da massa de pupas. A primeira cópula ocorre 10 minutos após o início da emergência, e todas as fêmeas copulam 40 minutos após a emergência (ARAKAKI & GANAHA, 1986).

A qualidade do material destinado à liberação, indicada por meio de caracteres biológicos do parasitoide, seria o mais importante subsídio para programar o controle da praga em função dos demais parâmetros de campo, sendo que a quantidade de

casulos de *C. flavipes* liberada para controle de uma determinada população de *D. saccharalis* deve ser equivalente ao dobro dessa população (LIMA FILHO, 1989).

GODFRAY (1994) observou que os parasitoides utilizam várias “pistas” para encontrar seus hospedeiros, sendo elas de origens químicas, tácteis e visuais, além de outros atrativos e estímulos produzidos quando o hospedeiro se alimenta ou defeca. Sinais químicos e físicos de atração para acasalamento ou para agregação podem ser liberados pelo hospedeiro, e facilmente utilizados pelos parasitoides como pistas a serem seguidas.

Uma substância hidrossolúvel presente nas fezes secas ou reidratadas de lagartas de *D. saccharalis* é a responsável pela localização do hospedeiro pelo parasitoide. O contato do parasitoide com as fezes induz o comportamento de procura, caracterizado por redução no ritmo de locomoção e tateamento das fezes com as antenas (LEERDAM et al., 1986).

Após a fêmea de *C. flavipes* encontrar uma planta atacada por *D. saccharalis*, ela ainda necessita localizar seu hospedeiro, que frequentemente está no interior do colmo (POTTING et al., 1997a). POTTING et al. (1997b) afirmaram que as fezes da lagarta, o material regurgitado e o sistema de galerias construído pela broca no colmo da cana podem ser usados pela fêmea de *C. flavipes* na localização de seu hospedeiro no interior dos colmos.

YAMAUCHI et al. (1997) avaliaram a relação entre o número de oviposições de *C. flavipes* e o de descendentes que emergem de seu hospedeiro *D. saccharalis*, com uma e duas posturas em uma mesma lagarta. O período de emergência das larvas e dos adultos, a razão sexual, o número de larvas e pupas inviáveis e a longevidade dos adultos do parasitoide registrados nas duas condições revelaram que duas oviposições sucessivas no hospedeiro não alteram a razão sexual na descendência, mas aumentam o número de parasitoides e também o número de larvas e pupas inviáveis.

O peso das lagartas parasitadas e o número de posturas realizadas foram analisados em função do número de parasitoides emergidos e da razão sexual, observando-se que o número de posturas do parasitoide não variou com a idade do hospedeiro, porém o número de descendentes foi maior nas lagartas mais pesadas. Do

3º ao 5º ínstaes, a razão sexual tendeu para fêmeas, principalmente quando receberam uma, duas e quatro posturas. Embora lagartas superparasitadas geralmente possam dar origem proporcionalmente a mais machos, mais fêmeas foram produzidas quando ocorreu o superparasitismo, o que sugere que as fêmeas não sejam capazes de distinguir as lagartas anteriormente parasitadas por elas mesmas (CAMPOS-FARINHA & CHAUD-NETO, 2000).

Foram avaliadas estratégias de parasitismo de *C. flavipes* comparando três idades do parasitoide (0, 24 e 48h), utilizando lagartas de 5º ínstar de *D. saccharalis* e com a densidade de três hospedeiros. O parasitoide nas 3 idades foi capaz de utilizar os 3 hospedeiros oferecidos e gerar prole, sendo eficiente em parasitar os 3 hospedeiros em quinze minutos; o intervalo de tempo de parasitismo de um hospedeiro e outro foi igual nas 3 idades. *C. flavipes* de 24 e 48h de idade tiveram a capacidade de gerar prole nos três hospedeiros oferecidos, não havendo diferença entre as razões sexuais das proles de *C. flavipes* das três idades (UEHARA, 2005).

UEHARA (2005) ainda avaliou o parasitismo e o superparasitismo de *C. flavipes* dentro de um simulador de planta – tubo em y, que simulou a galeria de *D. saccharalis*, com um tubo de vidro transparente, em forma de Y, verificando ainda a preferência de *C. flavipes* pelo parasitismo ou pelo superparasitismo. Não houve um padrão de comportamento no processo de busca do parasitoide, sendo a busca realizada com e sem interrupção. O parasitoide fez contato apenas com um hospedeiro antes de realizar a postura, parasitando e superparasitando na mesma proporção, hospedeiros do 4º e 5º ínstaes.

Estratégia de *C. flavipes* no parasitismo de *D. saccharalis* em uma arena constituída de poliestireno, contendo tubos de vidro transparente em diversas densidades mostrou que em lagartas de 2º, 3º, 4º e 5º ínstaes o parasitismo se dá preferencialmente nas de 3º. O segundo parasitismo em lagartas de 5º ínstar não apresenta o mesmo comportamento uma vez que a segunda vespa oviposita em hospedeiros que estão em outra posição. Também em lagartas de 5º ínstar com e sem mudança de posição do hospedeiro parasitado, o parasitismo e o superparasitismo ocorrem na mesma proporção (UEHARA, 2005).

Quando a população de um parasitoide é introduzida no laboratório, pode ocorrer queda da variabilidade genética em virtude da deriva genética, da seleção e do cruzamento entre irmãos (*inbreeding*) nas primeiras gerações (BOLLER & CHAMBERS, 1977; BARLETT, 1984; LEPPLA & ASHLEY, 1989; LEPPLA & FISHER, 1989; LEPPLA & WILLIAMS, 1992; BIGLER, 1994; VOLPE, 2009), fato ocasionado por falta de técnicas em criações massais que evitem uma pressão de seleção levando a perda de sua eficiência, pelo fato de não existir competição interespecífica nas populações de laboratório.

Ainda são raros os estudos que visam o controle de qualidade em criação de inimigos naturais, devido a pouca tradição no uso do controle biológico aplicado no país (PREZOTTI & PARRA, 2002).

Enquanto os inimigos naturais foram devidamente avaliados antes do uso comercial cerca de 20 anos atrás, hoje algumas espécies são vendidas sem a realização de testes que demonstrem sua real eficiência no campo (LENTEREN, 2009a).

Procedimentos para o controle de qualidade de inimigos naturais foram delineados para várias espécies (LENTEREN et. al., 2003), e estão sendo desenvolvidos para outras espécies de inimigos naturais, tais como: *Anthocoris nemoralis* (Fabricius, 1794) (Hemiptera: Anthocoridae); *Aphelinus abdominalis* (Dalman, 1820) (Hymenoptera: Aphelinidae); *Aphidius colemani* Viereck, 1912 (Hymenoptera: Braconidae); *Aphidius ervi* Haliday, 1834 (Hymenoptera: Braconidae); *Aphytis* spp. (*A. lingnanensis* Compere, 1955; *A. melinus* De Bach, 1959) (Hymenoptera: Aphelinidae); *Chrysoperla carnea* (Stephens, 1836) (Neuroptera: Chrysopidae); *Cryptolaemus montrouzieri* Mulsant, 1853 (Coleoptera: Coccinellidae); *Dacnusa sibirica* Telenga, 1935 (Hymenoptera: Braconidae); *Diglyphus isaea* (Walker, 1838) (Hymenoptera: Eulophidae); *Eretmocerus eremicus* Rose & Zolnerowich, 1997 (Hymenoptera: Aphelinidae); *Eretmocerus mundus* Mercet, 1931 (Hymenoptera: Aphelinidae); *Hypoaspis miles* Berlese, 1892 (Acari: Laelapidae); *Leptomastix dactylopii* Howard, 1885 (Hymenoptera: Encyrtidae); *Macrolophus caliginosus* Wagner, 1951 (Heteroptera: Miridae); *Neoseiulus californicus* (McGregor, 1954) (Acari: Phytoseiidae); *Amblyseius*

cucumeris (= *Neoseiulus cucumeris*) (Oudemans, 1930) (Acari: Phytoseiidae); *Iphiseius degenerans* (= *Neoseiulus degenerans*) (Berlese, 1889) (Acari: Phytoseiidae); *Orius* spp. (Say) (Heteroptera: Anthocoridae); *Phytoseiulus persimilis* (Athias-Henriot, 1957) (Acari: Phytoseiidae); *Podisus maculiventris* (Say, 1832) (Heteroptera: Pentatomidae); *Trichogramma brassicae* (Bezdenko, 1968) (= *Trichogramma maidis*) (Hymenoptera: Trichogrammatidae), (LENTEREN, 2009a).

LENTEREN (2009a) citou os critérios gerais de qualidade que em sua opinião, todo controle de qualidade deve ter. Ressalta para o controle de qualidade de parasitoides: Quantidade; Razão sexual; Fecundidade; Longevidade; Tamanho do adulto; voo; e desempenho a campo.

Para garantir a qualidade do material produzido, HIVIZI et. al. (2009) propuseram testes de controle de qualidade de *C. flavipes* em laboratório, que abrange desde a preparação do material, a avaliação do parasitismo e da fecundidade, a emergência, a razão sexual, a longevidade e a atividade de voo.

Para a realização dos testes de controle de qualidade, é importante que as condições do ambiente sejam controladas, como: temperatura ($28^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$), fotoperíodo (14h fotofase) e umidade relativa ($60 \pm 20\%$) (HIVIZI et. al., 2009).

HIVIZI et. al. (2009) afirmam que deverão ser amostradas, aleatoriamente, no lote do dia, lagartas de *D. saccharalis* parasitadas por *C. flavipes*, em número representativo do lote. O lote amostrado deverá ser separado em quatro partes, sendo uma para cada teste. A primeira parte deverá ser deixada em condições controladas por onze ou mais dias, até que os casulos do parasitoide se tornem visíveis. A partir daí, determina-se o número médio de lagartas que apresentaram casulos do parasitoide (Taxa de parasitismo), e levanta-se o número médio de casulos formados em cada lagarta parasitada (Fecundidade). A segunda parte do lote separado para amostragem deverá ser realizado separando-se, aleatoriamente, 60 massas em dois copos de 300ml contendo 30 massas cada. Após a emergência dos adultos, esses deverão ser mortos com gás tóxico e deve ser contado o número total de adultos (Porcentagem de emergência), o número de machos e de fêmeas (Razão sexual) e o número de indivíduos com deformação de asas. Da terceira parte do lote reservado deverá ser

separado massas aleatoriamente, e individualizá-las em um copo plástico de 300ml transparente. Após a emergência dos adultos, observar o tempo de vida dos mesmos (Longevidade). Para a quarta parte dos testes (Atividade de voo), os autores sugerem a utilização de uma unidade-teste baseada no modelo original de DUTTON & BIGLER (1995), modificada por PREZOTTI et.al. (2001) e adaptada por HIVIZI et. al. (2007). Para tal finalidade (HIVIZI et. al., 2009) sugerem a utilização de grupos de casulos, 24 horas antes da emergência. Estes deverão ser depositados em tubos de ensaio no fundo da unidade-teste, onde ocorre a emergência dos adultos, que percorrem todo o recipiente. O teste termina quando todos os parasitoides morrerem, momento em que as avaliações são realizadas, conforme descrito por HIVIZI et. al. (2007).

Segundo LENTEREN (2009b), programas de controle de qualidade simples e confiáveis para inimigos naturais estão emergindo como um resultado da intensiva colaboração entre os pesquisadores e os praticantes do controle biológico, e espera-se que esses desenvolvimentos resultem em um rápido melhoramento da indústria do controle biológico.

3. REFERÊNCIAS

ALAM, M.M.; BENNETT, F.D.; & CARL, K.P. Biological control of *Diatraea saccharalis* (F.) in Barbados by *Apanteles flavipes* and *Lixophag diatraeae* T. **Entomophaga**, Paris, v.16, n.2, p.151-158, 1971.

ALMEIDA, L.C.; ARRIGONI, E.B.; PRECETTI, A.A.C.M. Dez anos de controle biológico da broca da cana-de-açúcar, *Diatraea saccharalis*. In: VII SEMINÁRIO DE TECNOLOGIA AGRONÔMICA. **Anais...** Copersucar. Piracicaba, p.95-104. 1991.

ALMEIDA, L.C.; CARPANEZZI, A.; RODRIGUES, J.C.S. Método alternativo de levantamento de intensidade de infestação final pela broca. In: IV SEMINÁRIO DE TECNOLOGIA AGRONÔMICA. **Anais...** Copersucar. Piracicaba, p.641-646, 1988.

ALMEIDA, L.C.; STINGEL, E.; ARRIGONI, E.B. **Monitoramento e Controle de Pragas da cana-de-açúcar**. Piracicaba: Centro de Tecnologia Canavieira - CTC, 2008. 35p. Apostila.

ARAKAKI, N.; & GANAHA, Y. Emergence pattern and mating behavior of *Apanteles flavipes* (Cameron) (Hymenoptera: Braconidae). **Applied Entomology and Zoology**, Tokio, v.21, n.3, p.382-8, 1986.

ARAÚJO, J.R. **Guia prático para criação da broca da cana-de-açúcar e de seus parasitoides em laboratório**. Piracicaba: IAA/PLANALSUCAR, 1987. 36p.

ARAÚJO, J.R.; ARAÚJO, S.M.S.; BOTELHO, P.S.M; DEGASPARI, N. Biologia da *Diatraea saccharalis* em condições de campo. **Brasil Açucareiro**, Rio de Janeiro, v.99, n.2, p.31-34, 1982.

BARLETT, A.C. Genetic changes during insect domestication. In: KING, E.G.; LEPLA, N.C. (Eds.) **Advances and challenges in insect rearing**. Washington, USDA, ARS, 1984. p.2-8.

BENNETT, F.D. A comparison of the reproductive strategies and certain other biological characteristics of *Apanteles* spp. and tachinid parasites of *Diatraea saccharalis* (Fabr.). **Proceedings of the XVI Congress of the ISSCT**. São Paulo, Brazil, p.523-527. 1977.

BIGLER, F. Quality control in *Trichogramma* production. In: WAJNBERG, E.; HASSAN, S.A. (Eds.). **Biological control with egg parasitoids**. Wallingford: CAB International, 1994. p.93-112.

BOLLER E.F.; CHAMBERS, D.L. Quality aspects of mass-reared insects. In: RIDGWAY, R.L.; VINSON, S.B. (Eds.). **Biological control by augmentation of natural enemies**. New York: Plenum Press, 1977. p.219-235.

BOTELHO, P.S.M. Quinze anos de controle biológico da *Diatraea saccharalis* utilizando parasitoides. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.27, p.255-262, 1992.

BOTELHO, P.S.M.; DEGASPARI, N.; MACEDO, N.; ALMEIDA, L.C.; ARAÚJO, J.R.; ARAÚJO, S.M.S.S. Control of *Diatraea saccharalis* (Fabr., 1794) with *Apanteles flavipes* (Cam., 1891). **Proceedings of the XVIII Congress of the ISSCT**. Havana, Cuba, 1983. p.731-746.

BOTELHO, P.S.M.; MACEDO, N. *Cotesia flavipes* para o controle de *Diatraea saccharalis*, In: PARRA, J.R.P.; BOTELHO, B.S.M.; FERREIRA, B.S.C.; BENTO, J.M.S. (Eds.). **Controle Biológico no Brasil: parasitoides e predadores**. São Paulo: Manole, 2002. p.477-494.

BOWLING, C.C. Rearing of two lepidopterous pests of rice on a common artificial diet. **Annals of the Entomological Society of America**, Columbus, v.60, n.6, p.1215-1216, 1967.

BREWER, F.D. Development of the sugarcane borer on various artificial diets. **Agricultural Research Service**, Washington, v.116, p.1-6. 1976.

BREWER, F.D. Alternate protein sources and supplemental B-vitamin requirements in rearing the sugarcane borer on a wheat germ diet. **Journal of the Georgia Entomological Society**, Athens, v.12, n.4, p.283-291. 1977.

BREWER, F.D. Development of *Heliothis virescens* and *Diatraea saccharalis* on a soyflour-corn oil diet. **Annals of the Entomological Society of America**, Columbus, v.74, n.3, p.320-323. 1981.

CAMPOS-FARINHA, A.E.C. **Biologia reprodutiva de *Cotesia flavipes* (Hymenoptera: Braconidae)**. 1996. 97f. Tese de doutorado - Instituto de Biociências/UNESP, Rio Claro.1996.

CAMPOS-FARINHA, A.E.DE C.; CHAUD-NETTO, J. Biologia reprodutiva de *Cotesia flavipes* (Cameron) (Hymenoptera: Braconidae) avaliação do número de posturas, prole e razão sexual do parasitoide em relação ao tamanho do hospedeiro *Diatraea saccharalis* Fabricius (Lepidoptera: Pyralidae). **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v.67, n.2, p.249-252, 2000.

CASTILHO, H.J. **Introdução de *Apanteles flavipes* (Cam., 1891) (Hymenoptera, Braconidae) para o controle biológico da broca da cana-de-açúcar *Diatraea saccharalis* (Fabr., 1794) (Lepidoptera, Pyralidae), na região de Santa Bárbara d'Oeste, SP.** 1982. 79f. Dissertação (Mestrado em Entomologia) - ESALQ/USP, Piracicaba. 1982.

CHARNOV, E.L. The genetical evolution of patterns of sexuality Darwinian fitness. **American Society of Naturalists**. v.113, p.465-480, 1979.

Copersucar. Manejo integrado da broca da cana-de-açúcar nas unidades cooperadas. **Caderno Copersucar**, Piracicaba v.6, p.1-7, 1984.

CUEVA, M.C.; AYQUIPA, G.A.; MESCUA, V.B. Estúdios sobre *Apanteles flavipes* (Cameron), introducido para controlar *Diatraea saccharalis* (F.) en el Peru. **Revista Peruana de Entomologia**, Lima, v.23, n.1, p.73-76, 1980.

DUTTON, A.; BIGLER, F. Flight activity assessment of the egg parasitoid *Trichogramma brassicae* (Hym.: Trichogrammatidae) in laboratory and field conditions. **Entomophaga**, Paris, v.40, p.223-233, 1995.

GALICHET, P.F. Introduction y cria de *Apanteles flavipes* Cameron en las Antilhas Francesas. **Revista Peruana de Entomologia**. Lima, v.14, n.2, p.373-375, 1971.

GALLO, D.; WILLIAMS, R.N.; PEDROSO, A.S.; BERTI FILHO, E. Curso sobre criação e alimentação artificial da broca da cana-de-açúcar (*Diatraea saccharalis*) para utilização na obtenção de inimigos naturais. Piracicaba, ESALQ/USP, 4p. (Mimeografado). 1971.

GALLO, D.; NAKANO, O.; SILVEIRA NETO, S.; CARVALHO, R.P.L.; BATISTA, G.C. DE; BERTI FILHO, E.; PARRA, J.R.P.; ZUCCHI, R.A.; ALVES, S.B.; VENDRAMIM, J.D.; MARCHINI, L.C.; LOPES, J.R.S.; OMOTO, C. **Entomologia Agrícola**. Piracicaba: FEALQ, 2002. 920p.

GIFFORD, J.R.; MANN, G.A. Biology, rearing and a trial realease of *Apanteles flavipes* in the Florida Everglades to control the sugarcane borer. **Journal of Economic Entomology**. Washington, v.60, n.1, p.44-47, 1967.

GODFRAY, H.C.J. **Parasitoids, behavioral and evolutionary ecology**. Princeton: Princeton University Press, 1994. xi + 473p.

GUAGLIUMI, P. **Pragas da Cana-de-Açúcar**: Nordeste do Brasil. Rio de Janeiro: IAA, 1972. 622p. (Coleção Canavieira nº10).

GUEVARA, L.A.C. **Aspectos da biologia em condições naturais e frequência de acasalamento da *Diatraea saccharalis* (Fabr., 1794) (Lepidoptera: Crambidae) a broca da cana-de-açúcar**. 1976. 70f. Dissertação (Mestrado) ESALQ, Universidade de São Paulo, Piracicaba.

HENSLEY, S.D.; HAMMOND, JR., A.H. Laboratory techniques for rearing the sugarcane borer on an artificial diet. **Journal of Economic Entomology**, Geneva, v.61, n.6, p.1742-1743, 1968.

HIVIZI, C.L.; BUENO, V.H.P.; CARVALHO, L.M.; CARVALHO, A.R. Quality controlo f the parasitoid *Cotesia flavipes* (Cameron) (Hymenoptera: Braconidae) produced under a mass-rearing system. **Global IOBC Bulletin**, Montreal, v.3, p.65-68, 2007.

HIVIZI, C.L.; BUENO, V.H.P.; SILVA, A.C.; CARVALHO, L.M. Controle de qualidade do parasitoide *C. flavipes*. In: BUENO, V.H.P.(Ed.). **Controle biológico de pragas: Produção massal e controle de qualidade**. 2.ed. Lavras: Editora UFLA, 2009. 429p.

KING, E.G.; BREWER, F.D.; MARTIN, D.F. Development of *Diatraea saccharalis* (Lep.: Pyralidae) at constant temperatures. **Entomophaga**, Paris, v.20, n.3, p.301-306, 1975.

LASALLE, J.; GAULD, I.A. Parasitic Hymenoptera and the biodiversity crisis. **Rhedia**, v.74, n.3, p.315-334, 1991.

LEERDAM, M.B.VAN.; SMITH, J.W.; FUNCHS, T.W. Frass mediated, host finding behavior of *C. flavipes* a braconid parasite of *D. saccharalis* (Lepidoptera: Pyralidae). **Annals of the Entomological Society of America**, v. 78, p.647-650, 1986.

LEENTEREN, J.C. van. Controle de qualidade de agentes de controle biológico produzidos massalmente. In: BUENO, V.H.P. (Ed.). **Controle biológico de pragas: Produção massal e controle de qualidade**. 2.ed. Lavras: Editora UFLA, p.311-337, 2009a.

LEENTEREN, J.C. van. Testes para o controle de qualidade de agentes de controle biológico comercializados. In: BUENO, V.H.P. (Ed.). **Controle biológico de pragas: Produção massal e controle de qualidade**. 2.ed. Lavras: Editora UFLA, p.339-370, 2009b.

LEENTEREN, J.C. van; HALE, A.; KLAPWIJK, J.N.; SCHELT, J. van; STEINBERG, S. Guidelines for quality control of commercially produced natural enemies. In: LEENTEREN, J. C. van (Ed.). **Quality control and production of biological control agents: theory and testing procedures**. Wallingford: CABI, p.265-303, 2003.

LEPPLA, N.C.; ASHLEY, T.R. Quality control in insect mass production: a review and a model. **Bulletin of Entomological Society of America**, Lanham, v.35, p.33-43, 1989.

LEPPLA, N.C.; FISHER, W.R. Total quality control in insect mass production for insect pest management. **Journal of Applied Entomology**, Berlin, v.108, n.5, p.452-461, 1989.

LEPPLA, N.C.; WILLIAMS, D. W. Mass rearing beneficial insects and the renaissance of biological control. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.27, p.231-238, 1992.

LIMA FILHO, M. **Quantificação de *Apanteles flavipes* (Cameron, 1891) em cana-de-açúcar para controle de *Diatraea* spp.** 1989. 107f. Dissertação (Mestrado em Entomologia) - ESALQ/USP, Piracicaba. 1989.

MACEDO, N.; MENDES, A.C.; BOTELHO, P.S.M.; NAKANO, O. Criação massal em laboratório de *Diatraea saccharalis* (F., 1794) sobre arroz (*Oryza sativa*). **Brasil Açucareiro**, Rio de Janeiro, v.87, n.1, p.65-67, 1976.

MACEDO, N.; BOTELHO, P.S.M.; MENDES, A.C. Liberações de *Apanteles flavipes* Cam. em São Paulo. Congresso Brasileiro de Entomologia, 4, Goiânia, **Resumos...** Goiânia, SEB. p.114, 1977.

MACEDO, N.; BOTELHO, P.S.M.; DEGASPARI, N.; ALMEIDA, L.C.; ARAÚJO, J.R.; MAGRINI, E.A. **Controle biológico da broca da cana-de-açúcar; manual de instrução.** Piracicaba: IAA/PLANALSUCAR, 1983. 22p.

MACEDO, N.; MENDONÇA, A.F.; MORENO, J.A.; PINAZA, A.H. Estimativa de benefício econômico de dez anos de controle biológico de *Diatraea* spp., através de *Apanteles flavipes* Cameron, no Estado de Alagoas. Congresso Brasileiro de Entomologia, 9, Londrina. **Resumos...** p.134, 1984.

MACEDO, N.; BOTELHO, P.S.M. Controle integrado da broca da cana-de-açúcar *Diatraea saccharalis* (Fabr., 1794) (Lepidoptera, Pyralidae). **Brasil Açucareiro**, Rio de Janeiro, v.106, n.2, p.1-14, 1988.

MANPRIM, M.C.; DE BORTOLI, S.A. Aspectos ecológicos de *Diatraea saccharalis* (Fabr., 1794) (Lep.: Pyralidae) em milho. In: Congresso Brasileiro de Entomologia, 8. Brasília, 1983. **Resumos...** Brasília, SEB, p.1. 1983.

MASON, W.R.M. The polyphyletic nature of *Apanteles* forester (Hymenoptera: Braconidae): a phylogeny and reclassification of Microgastrinae. **Memoirs of the Entomological Society of Canada**, v.115, n.1, p.147, 1982.

MÉLO, A.B.P. **Biologia de *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794) (Lepidoptera-Pyralidae) em diferentes temperaturas para determinação das exigências térmicas**. 1984. 101f. Dissertação (Mestrado em Entomologia) - ESALQ/USP, Piracicaba. 1984.

MENDES, V.L.F.L.; SILVA, R.M.L.; MENDONÇA, A.F.; MELO, E.M. Influência de diferentes temperaturas no ciclo biológico de *Apanteles flavipes* Cam. (Hym.: Braconidae). In: Congresso Brasileiro de Entomologia, 8. Brasília, 1983. **Resumos...** Brasília, SEB, p.266. 1983.

MENDONÇA, A.F. **Pragas da cana-de-açúcar**. Maceió: Insetos & Cia, 1996. 200p.

MENDONÇA, A.F.; RISCO, S.H.; COSTA, J.M.B. Introduction and rearing of *Apanteles flavipes* Cameron (Hym.: Braconidae) in Brazil. Congress International Society of Sugarcane Technologists, 16, S. Paulo, 1978. **Proceedings...** São Paulo, v.1, p.703-710, 1978.

MENDONÇA FILHO, A. Criação artificial em laboratório dos parasitos da broca da cana-de-açúcar (*Diatraea* spp.) (Lep., Crambidae). **Brasil Açucareiro**, Rio de Janeiro, v.81, n.4, p.47-80, 1973.

MISKIMEN, G.W. Nona septic laboratory rearing of the sugarcane borer, *Diatraea saccharalis*. **Annals of the Entomological Society of America**, Columbus, v.58, n.6, p.820-823, 1965.

MOUTIA, L.A.; COURTOIS, C.M. Parasites of the moth-borers of sugar-cane in Mauritius. **Bulletin of Entomological Research**, London, v.43, p.325-359, 1952.

NOVARETTI, W.R.; TERAN, F.O. Melhorias introduzidas nas dietas usadas para a criação da *Diatraea saccharalis* (Fabr., 1794). In: Seminário COPERSUCAR da Agroindústria Açucareira, 4, São Paulo, 1976, **Resumos...** São Paulo, p.81-84, 1976.

OSORES, V.M.; WILLINK, E.; COSTILLA, M.A. Cria de *Diatraea saccharalis* F. en laboratorio. Estación Experimental Agro-industrial "O BISPO COLOMBRES", San Miguel de Tucumán, n.39, 1982. 10p.

PÁDUA, L.E.M. **Biologia comparada de *Apanteles flavipes* (Cameron, 1891) (Hymenoptera-Braconidae) para determinação de suas exigências térmicas.** 1983. 53f. Dissertação (Mestrado em Entomologia) - ESALQ/USP, Piracicaba. 1983.

PÁDUA, L.E.M. **Influência da nutrição, temperatura e umidade relativa do ar na relação *Apanteles flavipes* (Cameron, 1891) – *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794).** 1986. 85f. Tese (Doutorado em Entomologia) - ESALQ/USP, Piracicaba. 1986.

PAN, Y.; LONG, W.H. Diets for rearing the sugarcane borer. **Journal of Economic Entomology**, Geneva, v.54, n.2, p.257-261. 1961.

PARRA, J.R.P.; MILANO, P.; CONSOLI, F.L.; ZERIO, N.G.; HADDAD, M.L. Efeito da nutrição de adultos e da umidade na fecundidade de *Diatraea saccharalis* (Fabr.) (Lepidoptera: Crambidae). **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v.28, n.1, p.49-57, 1999.

PEREIRA-BARROS, J. L.; BROGLIO-MICHELETTI, S. M. F.; SANTOS, A. J. N.; CARVALHO, L. W. T.; CARVALHO, L. H. T.; OLIVEIRA, C. J. T.; Aspectos biológicos de *Trichogramma galloi* Zucchi, 1988 (Hymenoptera: Trichogrammatidae) criados em ovos de *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794) (Lepidoptera: Crambidae). **Ciência agrotécnica**, Lavras, v.29, n.4, p.714-718, 2005.

PEREIRA, C.E.F.; LIMA, R.O.R.; VILAS BOAS, A.M. Introdução e adaptação de *Apanteles flavipes* Cam. (Hym., Braconidae), parasito de *Diatraea spp.* nos Estados de

Pernambuco, Paraíba e Rio Grande do Norte. In: Congresso Brasileiro de Entomologia, 4, Goiânia, 1977. **Resumos...** Goiânia, SEB. p. 94, 1977.

PETERS T.M.; BARBOSA, P. Influence of population density on size, fecundity, and development rate of insects in culture. **Annual Review of Entomology**, Palo Alto, v.22, p.431-450, 1977.

PINTO, A. de S. Controle de Pragas da cana-de-açúcar. Boletim Técnico Biocontrol. Sertãozinho, SO. **Biocontrol**, n.1, 64p. 2006.

PLANALSUCAR. Guia das principais pragas da cana-de-açúcar no Brasil. Piracicaba. 28p. 1982.

PLANALSUCAR EM NOTÍCIAS. Liberações de parasitos em Pernambuco. **Brasil Açucareiro**, v.85, n.4, 1975a. (Comunicado nº 36: I).

PLANALSUCAR EM NOTÍCIAS. **Brasil Açucareiro**, v.86, n.4, 1975b. (Comunicado nº 42: I).

PLANALSUCAR EM NOTÍCIAS. Novo inimigo da broca em Campos. **Brasil Açucareiro**, v.86, n.6, 1975c. (Comunicado nº 44: IV).

POITOUT, S.; BUES, R. Élevage de plusieurs espèces de lépidoptères Noctuidae sur milieu artificiel riche et sur milieu artificiel simplifié. **Annales de Zoologie, Ecologie**, Paris, v.2, p.79-91, 1970.

POTTING, R.P.J.; SNELLEN, H.M.; VET, L.E.M. Fitness consequences of superparasitism and mechanism of host discrimination in the stemborer parasitoid *Cotesia flavipes*. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, Belgium, v.82, p.341-348, 1997a.

POTTING, R.P.J.; OTTEN, H.; VET, L.E.M. Absence of odour learning in the stembores parasitoid *C. flavipes*. **Animal Behaviour**, Bristol, v.53, p.1211-1223, 1997b.

PREZOTTI, L.; PARRA, J.R.P. Controle de qualidade em criações massais de parasitoides e predadores. In: PARRA, J.R.P.; BOTELHO, P.S.M.; CORRÊA-FERREIRA, B.S.; BENTO, J.M.S. **Controle biológico no Brasil: parasitoides e predadores**. São Paulo: Manole, p.295-311, 2002.

PREZOTTI, L.; PARRA, J.R.P.; VENCOSKY, R.; DIAS, C.T.S.; CRUZ, I.; CHAGAS, M.C.M. Teste de voo como critério de avaliação de qualidade de *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae): adaptação de metodologia. **Neotropical Entomology**, Londrina, v.31. p.411-417, 2001.

PRUNA, P.M. Revisión de La literatura Del borer de La caña de azucar, *Diatraea saccharalis* (Fabricius). La Habana, Academia de Ciências de Cuba. 66p. 1969. (Série Biologia n.5).

RISCADO, C.M.; LIMA FILHO, M.; BARBOSA, J.T. Complexo de inimigos naturais de *Diatraea spp.* e sua ação de controle no Rio de Janeiro. Congresso Brasileiro de Entomologia, Guiana, 1970. **Resumos...** Guiana, SEB. p.61, 1970.

RISCO, S.H.; MORALES, N.; AYQUIPA, G. Uma dieta para la crianza masiva de orugas del borer de la caña de azúcar: *Diatraea saccharalis* (Fabr.) (Lep.: Crambidae). **Saccharum**, São Paulo, v.1, n.1, p.27-42, 1973.

ROE, R.M.; HAMMOND, A.M.; SPARKS, T.C. Growth of larval *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Pyralidae) on an artificial diet and synchronization of the last larval stadium. **Annals of the Entomological Society of America**, Columbus, v.75, n.4, p.421-429, 1982.

SANTA CRUZ, J.M.S.; MOSS, C.S.; RANAUD, G.G.; MONTALVO, C.G. Cria artificial de *Diatraea saccharalis* Fab. (Lepidoptera: Pyralidae) y su aplicación en la evolución de resistencia en maíz. **Agrociencia**, México, v.18, p.3-13, 1964.

SGRILLO, R.B. **Criação em laboratório da broca da cana-de-açúcar *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794) visando seu controle.** 1973. 98f. Dissertação (Mestrado) ESALQ Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1973.

SLANSKY JR. F. Nutritional ecology of endoparasitic insects and their hosts: as overview. **Journal of Insect Physiology**, Great Britain, v.32, n.4, p.255-261, 1986.

SLANSKY JR. F.; SCRIBER, J.M. Food consumption and utilization. In: KERKUT, G.A. LAWRENCE, L.I. (Eds.). **Comprehensive insect physiology biochemistry and pharmacology**. Oxford: Pergamon press, v.4, p.87-163, 1985.

SOUZA, A.M.L.; ÁVILA, C.J.; PARRA, J.R.P. Consumo e utilização de alimento por *Diatraea saccharalis* (Fabr.) (Lepidoptera: Pyralidae), *Heliothis virescens* (Fabr.) e *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) em duas temperaturas. **Neotropical Entomology**, Londrina, v.30, n.1, p.11-17, 2001.

TERAN, F.O. Controle Biológico da broca da cana-de-açúcar nas usinas cooperadas. In: Seminário COPERSUCAR da Agroindústria Açucareira, 3, Águas de Lindóia, 1975. **Anais...** Águas de Lindóia, p.245-252, 1975.

TERAN, F.O.; PRECETTI, A.A.C.M.; DERNEIKA, O. Broca da cana-de-açúcar, *Diatraea saccharalis*. In: **REUNIÃO TÉCNICA AGRONÔMICA COPERSUCAR**: Pragas da cultura da cana-de-açúcar, 1983, Piracicaba. Copersucar. São Paulo: Cooperativa Central dos Produtores de Açúcar e Alcool do Estado de São Paulo, p.4-15, 1983.

TERAN, F.O.; PRECETTI, A.A.C.M.; SANCHES, A.G. Importância econômica, aspectos bioecológicos e manejo populacional da broca da cana-de-açúcar, *Diatraea saccharalis*. In: SEMINÁRIO DE TECNOLOGIA AGRONÔMICA, 3, Piracicaba, 1986. **Anais...** Copersucar. Piracicaba, p.153-167, 1986.

THOMPSON, S.N. Nutrition and in vitro culture of insect parasitoids. **Annual Review of Entomology**, Palo Alto, v.31, p.197-219, 1986.

UEHARA, M.T. **Avaliação da aptidão “fitness” das populações do parasitoide *Cotesia flavipes* (Hymenoptera: Braconidae) (Cameron, 1891)** 2000. 94f. Dissertação. (Mestrado em Entomologia) - Universidade de São Paulo/ FFCLRP, Ribeirão Preto. SP. 2000.

UEHARA, M.T. **Estratégias de parasitismo da vespa parasitoide *Cotesia flavipes*, Cameron, 1891 (Hymenoptera: Braconidae).** 2005. 124f. Tese (Doutorado em Entomologia) - Universidade de São Paulo/ FFCLRP, Ribeirão Preto. SP. 2005.

VAN DINTHER, J.B.M.; GOOSSENS, P.A. Rearing of *Diatraea saccharalis* on diets in Surinam. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, Amsterdam, v.13, p.320-326. 1970.

VIEL, S.R. **Uso da alimentação para otimização da criação massal de *Cotesia flavipes* (Cameron, 1891) (Hymenoptera: Braconidae) em broca da cana-de-açúcar.** 2007. 32f. Monografia (Latu Senso em Manejo Integrado de Pragas e Receituário Agrônômico) – Universidade Federal de Lavras / UFLA. Lavras, MG. 2007.

VIEL, S.R. Criação de *Diatraea saccharalis* e *Cotesia flavipes*. In: DE BORTOLI, S.A. (Ed.). **Criação de Insetos: da base à biofábrica.** Jaboticabal, SP. edição própria, 2009. p.76-140.

VILLACORTA, A.; MAGRO, J.A. Criação massal de *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Pyralidae) em laboratório. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Jaboticabal, v.4, n.1, p.43-48, 1975.

VOLPE, H.X.L. **Distribuição espacial do parasitismo de *Cotesia flavipes* (Cameron, 1891) (Hymenoptera: Braconidae) em cana-de-açúcar.** 2009. 67f. Dissertação (Mestrado em Entomologia Agrícola) – Universidade Estadual Paulista / FCAV, Jaboticabal. SP. 2009.

WAAGE, J.K. Family planning in parasitoids: adaptative patterns of progeny and sex allocation. In: WAAGE, J.K.; GREATHEAD, D. (Eds.). **Insects Parasitoids**. London: Academic Press, p.63-95, 1986.

WALKER, D.W. Potential for control of sugarcane borer through radio-induced sterility. In: Radiation, radioisotopes and rearing methods in control of insects pests. **Proceedings of a Paineel**. Tel-Aviv, IAEA, p.131-140, 1968.

WALKER, D.W.; ALEMANY, A.V.; QUINTANA, V.; PADOVANI, F. & HAGEN, K.S. Improved xenic diets for rearing the sugarcane borer in Puerto Rico. **Journal of Economic Entomology**, Geneva, v.59, n.1, p.1-4. 1966.

WIEDENMANN, R.N.; SMITH JR, J.W. Parasitization of *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Pyralidae) by *Cotesia chilones* and *C. flavipes* (Hymenoptera: Braconidae). **Environmental Entomology**, v.24, p.950-961, 1995.

WILKINSON, D.S. A revision of the Indo-Australian species of the genus *Apanteles* (Hym.:Braconidae). : Part I. **Bulletin of Entomological Research**, London, v.19, p.79-105, 1928.

WONGSIRI, T.; RANDOLPH, N.M. A comparison of the biology of the sugarcane borer on artificial and natural diets. **Journal of Economic Entomology**, Geneva, v.55, n.4, p.472-473, 1962.

YAMAUCHI, M. N.; GOBBI, N.; CHAUD-NETO, J.; CAMPOS-FARINHA, E. Relationship between number of ovipositions of *Cotesia flavipes* (Cam.) and number of descendants emerged from its host *Diatraea saccharalis* (Fabr.). **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v. 26, n. 1. p.87-91. 1997.

CAPÍTULO 2 - QUALIDADE DO PARASITOIDE *Cotesia flavipes* PRODUZIDO EM LABORATÓRIO COM DIFERENTES DIETAS ARTIFICIAIS

RESUMO - Visando melhorias qualitativas na criação de *Cotesia flavipes* Cameron, 1891, (Hymenoptera: Braconidae) em laboratório, realizaram-se testes com alimentação de adultos, antes do parasitismo em *Diatraea saccharalis*, utilizando 14 dietas: (2,5%; 5% e 10% sacarose; 2,5%; 5% e 10% sacarose + 2,5% lêvedo de cerveja; 2,5%; 5% e 10% mel; 2,5%; 5% e 10% mel + 2,5% lêvedo; 2,5% lêvedo; e água) e a testemunha. Avaliaram-se: adultos emergidos, razão sexual, porcentagem de emergência, peso das massas de pupas, e longevidade dos adultos nas gerações F1 e F2. O delineamento foi o inteiramente casualizado com 15 tratamentos e cinco repetições. As maiores médias de adultos emergidos foram 85 (5% sacarose) para F1 e 91 (5% sacarose + 2,5% lêvedo) para F2 e, as menores, 63,6 (5% mel + 2,5% lêvedo) para F1 e 66,8 (5% mel) para F2. As dietas que proporcionaram as maiores médias de fêmeas foram 5% mel + 2,5% lêvedo (0,82) para F1 e 10% sacarose + 2,5% lêvedo (0,75) para F2, enquanto 10% sacarose + 2,5% lêvedo (0,60) para F1 e 2,5% mel (0,59) para F2, proporcionaram as menores médias de fêmeas. As maiores porcentagens de emergência foram 93,9% (2,5% sacarose + 2,5% lêvedo) para F1 e 93,9% (5% mel + 2,5% lêvedo) para F2, enquanto as menores 81,7% (5% mel + 2,5% lêvedo) para F1 e 79,0% (5% mel) para F2. Mel (2,5%) proporcionou maior peso de massas de pupas. A longevidade não diferiu significativamente para F1 ou F2. As dietas 5% e 10% de sacarose ou mel proporcionaram melhorias qualitativas para *C. flavipes*.

Palavras-chave: criação massal, controle biológico, alimentação de adultos, cana-de-açúcar, broca-da-cana-de-açúcar.

QUALITY OF THE PARASITOID *Cotesia flavipes* PRODUCED IN THE LABORATORY WITH DIFFERENT ARTIFICIAL DIETS

ABSTRACT - Aiming at qualitative improvements in rearing *Cotesia flavipes* in laboratory, tests were carried out using adults fed on 14 diets (2.5%, 5% and 10% sucrose, 2.5%, 5% and 10% sucrose + 2.5% brewer's yeast, 2.5%, 5% and 10% honey, 2.5%, 5% and 10% honey + 2.5% yeast, 2.5% yeast; and water) and control, before parasitism in *Diatraea saccharalis*. We evaluated the number of emerged adults, sex ratio, percentage of emergence, weight of pupae mass and longevity in F1 and F2 generations. The design was completely randomized with 15 treatments and five repetitions. The highest averages of emerged adults were 85 (5% sucrose) for F1 and 91 (5% sucrose + 2.5% yeast) for F2. The lowest, 63.60 (5% honey + 2.5% yeast) for F1 and 66.80 (5% honey) for F2. The diets that provide the highest averages of female were honey 5% + 2.5% yeast (0.82) for F1 and 10% sucrose + 2.5% yeast (0.75) for F2, while 10% sucrose + 2.5% yeast (0.60) for F1 and 2.5% honey (0.59) for F2 provided fewer females. The highest percentage of emergence were 93.90% (2.5% sucrose + 2.5% yeast) for F1, and 93.89% (5% honey + 2.5% yeast) for F2, while the smaller, 81.71% (5% honey + 2.5% yeast) for F1 and 78.96% (5% honey) for F2. 2.5% of honey allowed the highest weight mass. Longevity did not differ significantly for F1 or F2 and were higher for adults that received diet. 5 or 10% sucrose or honey provided qualitative improvements to *C. flavipes*.

Keywords: mass rearing, biological control, adults feed, sugarcane, sugarcane borer.

1. INTRODUÇÃO

Cotesia flavipes Cameron, 1891, (Hymenoptera: Braconidae) é um endoparasitoide larval, gregário que foi introduzido no Brasil para uso mais efetivo em 1974, para o controle biológico da broca da cana-de-açúcar *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794) (Lepidoptera: Crambidae) (MENDONÇA, 1996).

Em 1975, os laboratórios da COPERSUCAR já dominavam as técnicas de produção deste parasitoide em quantidades satisfatórias, utilizando lagartas de *D. saccharalis* como hospedeiro (CARVALHO et al., 2008).

O controle da broca da cana-de-açúcar com o uso de *C. flavipes* aumentou a procura por esse agente de controle e, para atender a demanda foram criados muitos laboratórios particulares. A concorrência gerada trouxe a necessidade de oferecer não apenas os agentes de controle, mas um diferencial de qualidade (DE BORTOLI & VIANA, 2009).

Segundo LENTEREN (2009), enquanto algumas espécies de inimigos naturais foram devidamente avaliados antes do uso comercial cerca de 20 anos atrás, algumas espécies são vendidas sem a realização de testes que demonstrem sua real eficiência a campo. Atualmente isso ainda é uma realidade.

HIVIZI et. al., (2009) propuseram testes de controle de qualidade de *C. flavipes* em laboratório, que evoluíram a preparação do material, avaliação do parasitismo e fecundidade, emergência, razão sexual, longevidade e atividade de voo.

Ainda são raros os estudos que visam o controle de qualidade em criação de inimigos naturais, devido a pouca tradição no uso do controle biológico aplicado no país (PREZOTTI & PARRA, 2002).

Os laboratórios particulares introduziram modificações na manipulação da dieta e na metodologia de criação de *C. flavipes* visando a criação massal do parasitoide com grande eficiência produtiva e baixo custo (VIEL, 2009). No entanto, a substituição de ingredientes e modificações em suas doses podem acarretar menor qualidade do parasitoide.

Parâmetros morfológicos, biométricos, nutricionais e tabelas de vida podem ser utilizados para a avaliação de dietas na criação de insetos e indicar se a dieta é adequada ao desenvolvimento do inseto (PARRA, 2009).

Na atualidade, adultos de *C. flavipes* não são alimentados durante a linha produtiva. O fornecimento de dieta a esses adultos pode resultar em mudanças significativas na quantidade e no peso de pupas geradas por massa, no número de indivíduos emergidos por oviposição, na razão sexual e na longevidade dos adultos, sem acréscimo significativo no custo (VIEL, 2007). Neste estudo objetivou-se melhorar algumas características biológicas qualitativas de indivíduos gerados de oviposições de *C. flavipes* previamente alimentados com dietas artificiais, em lagartas de *D. saccharalis* em laboratório.

2. MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi conduzido em laboratório a $27^{\circ}\text{C}\pm 1$, umidade relativa de $60\pm 10\%$ e fotofase de 12 horas. Os insetos utilizados foram fornecidos pela empresa Biocontrol, de Sertãozinho, SP, que para sua produção empregou a técnica descrita por ARAÚJO (1987), modificada por VIEL (2009). Aos hospedeiros (lagartas de *D. saccharalis*) foi fornecida dieta proposta por HENSLEY & HAMMOND JR (1968) modificada por VIEL (2009).

A preparação dos recipientes contendo os diferentes tratamentos ocorreu, no mínimo, 12 horas antes da utilização da geração parental para o parasitismo induzido.

Foram separados quinze recipientes de desenvolvimento (recipientes plásticos de polipropileno transparentes, de 5 cm de diâmetro por 2,5 cm de altura) (Fig 1) contendo a geração parental para o parasitismo induzido (inoculação), com dez massas selecionadas durante a revisão. Os tratamentos testados estão descritos na Tabela 1.

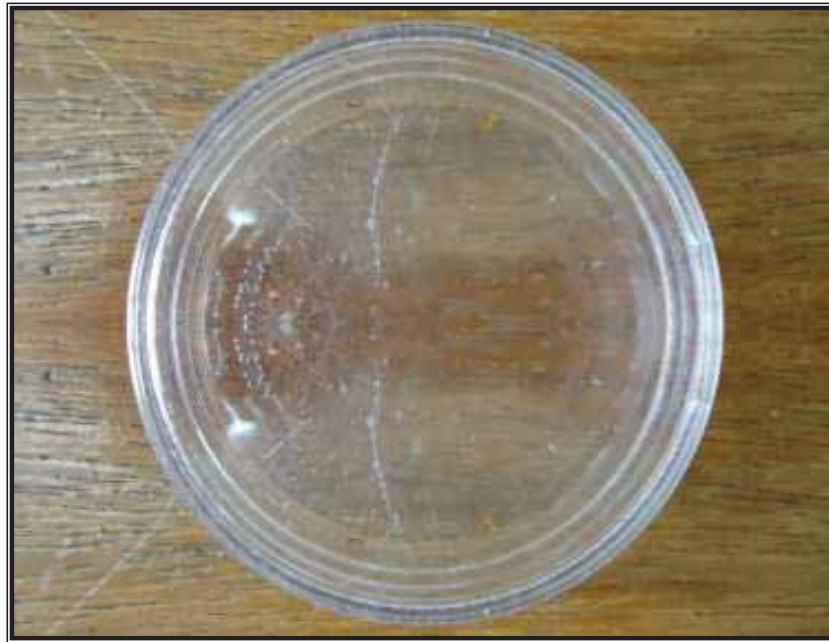


Figura 1. Recipiente plástico de desenvolvimento usado no experimento.

Tabela 1. Dietas utilizadas para alimentação de adultos de *Cotesia flavipes*.

Tratamentos	Dietas	Sacarose	Mel	Lêvedo de Cerveja	Água destilada
1	2,5% Sacarose	2,5gr	-	-	100mL
2	2,5% Sacarose + 2,5% Lêvedo	2,5gr	-	2,5gr	100mL
3	2,5% Mel	-	2,5mL	-	100mL
4	2,5% Mel + 2,5% Lêvedo	-	2,5mL	2,5gr	100mL
5	5% Sacarose	5gr	-	-	100mL
6	5% Sacarose + 2,5% Lêvedo	5gr	-	2,5gr	100mL
7	5% Mel	-	5mL	-	100mL
8	5% Mel + 2,5% Lêvedo	-	5mL	2,5gr	100mL
9	10% Sacarose	10gr	-	-	100mL
10	10% Sacarose + 2,5% Lêvedo	10gr	-	2,5gr	100mL
11	10% Mel	-	10mL	-	100mL
12	10% Mel + 2,5% Lêvedo	-	10mL	2,5gr	100mL
13	2,5% Lêvedo	-	-	2,5gr	100mL
14	Água destilada	-	-	-	100mL
15	Testemunha	-	-	-	-

As dietas foram preparadas em solução de 100 mL de água destilada para cada tratamento, acrescidos dos diferentes componentes testados. As dietas foram aplicadas na forma de “X” (Fig 2) no interior das tampas dos recipientes de desenvolvimento com o auxílio de uma haste flexível, sempre no mesmo horário, ficando disponíveis aos adultos por, pelo menos, 12 horas após o início da emergência.



Figura 2. Tapa do recipiente de desenvolvimento usado no experimento, com dieta artificial aplicada em forma de “X”.

Para a geração F1, foram submetidas ao parasitismo induzido 120 lagartas por tratamento. Trinta massas foram utilizadas para obtenção dos pesos; 30 para a contagem e separação dos adultos (machos e fêmeas) emergidos, 30 para avaliação da longevidade e o restante das massas obtidas foi destinado à avaliação da geração F2.

Para a geração F2, os adultos foram alimentados com as mesmas dietas oferecidas a geração parental (Tab 1). Para esta etapa, 90 lagartas por tratamento foram submetidas ao parasitismo induzido; 30 massas foram utilizadas para obtenção dos pesos; 30 para a contagem e separação dos machos e fêmeas emergidos e o restante para avaliação da longevidade.

A metodologia de parasitismo induzido foi proposta por ARAÚJO (1987) e modificada por VIEL (2009). Em todos os tratamentos foram utilizadas lagartas de *D. saccharalis* provenientes de um mesmo lote de produção e mesma idade de desenvolvimento (15 dias), por ser a idade padrão usada nos laboratórios de criação desse inseto. Após o parasitismo induzido as lagartas foram colocadas em recipientes plásticos etiquetados (três/ recipiente) (Fig 3). Cada recipiente continha três unidades de 1 cm³ de dieta artificial para alimentação das lagartas até a formação das massas.



Figura 3. Recipientes de desenvolvimento contendo massas de casulos de *Cotesia flavipes*, formados a partir do parasitismo em lagartas de *Diatraea saccharalis*.

A revisão do material proveniente do parasitismo induzido ocorreu no décimo quinto dia após o parasitismo das lagartas, por se tratar do período padrão utilizado nos laboratórios de produção massal desse inseto; a metodologia de revisão foi proposta por ARAÚJO (1987) e modificada por VIEL (2009).

2.1. Pesagem das massas de pupas de *Cotesia flavipes*

As massas obtidas foram pesadas individualmente sempre no décimo sexto dia após o parasitismo induzido, devido a mudança de peso das massas ao longo do tempo observada por VIEL et al. (2010). As pesagens foram realizadas nas duas gerações.

2.2. Separação dos sexos e contagem dos adultos de *Cotesia flavipes*

Para a sexagem e contagem dos adultos obtidos, os recipientes de criação foram levados ao freezer 48 horas após a emergência dos parasitoides, para que os adultos fossem paralisados antes de morrerem. Tal procedimento visou evitar a quebra das antenas, que, segundo WILKINSON (1928), é o caráter morfológico que permite facilmente separar machos e fêmeas (Fig 4). Os adultos foram transferidos para placas de Petri e quantificados. A contagem de machos e fêmeas foi realizada nas duas gerações.

2.3. Porcentagem de emergência de adultos de *Cotesia flavipes*

Após a separação e contagem dos adultos, a porcentagem de emergência foi obtida por meio da avaliação das pupas escurecidas (não viáveis) em relação ao número total de pupas de cada massa, quantificadas após a retirada dos recipientes de desenvolvimento do freezer. A avaliação da porcentagem de emergência foi realizada nas duas gerações.



Figura 4. Detalhe da cabeça de *Cotesia flavipes*, evidenciando o dimorfismo sexual por meio da diferença do comprimento das antenas.

2.4. Longevidade de adultos de *Cotesia flavipes* alimentados com diferentes dietas

Para a avaliação da longevidade de adultos de *C. flavipes* alimentados foram utilizados 10 indivíduos por tratamento, cinco machos e cinco fêmeas, provenientes de pupas de diferentes massas e previamente individualizadas em tubos Eppendorf de 2 mL. Os adultos utilizados foram obtidos do tratamento testemunha para que não houvesse influência das dietas. Após a emergência, as dietas descritas na Tabela 1 foram disponibilizadas aos adultos na região interna das tampas dos tubos. As dietas ficaram disponíveis durante 12 horas, por se tratar do período frequentemente aguardado na prática, para que haja a cópula no interior dos copos, antes das liberações em campo. Após esse período os adultos foram transferidos para novos tubos sem dieta. O horário de emergência foi anotado e a avaliação da longevidade foi realizada de hora em hora, a partir da emergência dos adultos.

2.5. Longevidade de adultos de *Cotesia flavipes* (alimentação parental)

Para a observação da longevidade dos adultos de *C. flavipes* provenientes da geração parental alimentada com as dietas descritas na tabela 1, foram utilizados 10 adultos por tratamento, cinco machos e cinco fêmeas, provenientes de pupas de diferentes massas e previamente individualizadas em tubos Eppendorf de 2 mL (Figs 5 e 6). O horário de emergência foi anotado e a avaliação da longevidade foi realizada de hora em hora, a partir da emergência. A longevidade dos adultos foi acompanhada nas duas gerações.



Figura 5. Tubo de Eppendorf de 2 mL utilizado para alimentação e avaliação da longevidade de adultos de *Cotesia flavipes*.



Figura 6. Pupas de *Cotesia flavipes* individualizadas em tubos de Eppendorf de 2 mL.

Os testes foram realizados somente na geração F1, dado que a alimentação objetivou proporcionar maior longevidade aos indivíduos destinados à liberação em campo.

2.6. Análise dos dados

O delineamento utilizado foi o inteiramente casualizado, com 15 tratamentos e cinco repetições.

Verificou-se a hipótese de normalidade dos dados utilizando o teste de Kolmogorov e a homogeneidade da variância pelo teste de Bartlett. Foram realizadas as transformações necessárias nas variáveis: longevidade de fêmeas de *C. flavipes* da geração F2, e razão sexual para F1 e F2 e aplicada a análise de variância pelo PROC ANOVA. As médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade,

quando significativas pela ANOVA. Todas as análises foram realizadas utilizando o software SAS INSTITUTE (2002).

A análise multivariada foi utilizada para análise dos aspectos biológicos de *C. flavipes* submetidos à análise exploratória de agrupamentos, utilizando o Método de Ward. A análise de agrupamento foi utilizada como análise exploratória, o que não necessita investigar as pressuposições de independência e normalidade.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. Pesagem das massas de pupas de *Cotesia flavipes*

O peso médio das massas de pupas de *C. flavipes* foi de 57,0 mg e o número médio de pupas por massa 55, o que resultou em peso médio de 1,04 mg por pupa. Tais dados 1.710 mg, de onde serão obtidos em média 1.175 indivíduos.

Para a geração F1, quando considerado o peso médio de uma única massa, observou-se que dentre os tratamentos fornecidos aos adultos do parasitoide, a dieta composta por 2,5% de mel proporcionou maior peso médio de massas, 64,4 mg por massa ($F_{14,60}=33,55; p<0,0001$) e 1.934 mg por unidade de liberação (30 massas) ($F_{14,60}=33,60; p<0,0001$), respectivamente (Tab 2). Quando a concentração de mel na dieta aumentou ou foi acrescentado lêvedo de cerveja, os pesos das massas diminuíram. O menor peso foi obtido quando os adultos foram alimentados com 5% de sacarose + 2,5% de lêvedo, 50,4 mg por massa e 1.512 mg por unidade de liberação (Tab 2).

Tabela 2. Peso das massas de pupas de *Cotesia flavipes* alimentada com diferentes dietas.

Dietas	Peso de uma massa (mg) ¹		Peso de 30 massas (mg)	
	F1	F2	F1	F2
2,5% sacarose	59,6±0,81 bc	50,4±1,54 ab	1.790,0±26,64 bc	1.512,0±42,24 ab
2,5% sac.+2,5% lêv.	60,4±0,81 b	54,0±1,30 ab	1.816,0±25,42 b	1.620,0±38,47 ab
2,5% mel	64,4±0,81 a	52,4±1,29 ab	1.934,0±26,76 a	1.576,0±39,19 ab
2,5% mel+2,5% lêv.	53,2±0,58 efg	50,6±1,29 ab	1.594,0±15,68 efg	1.520,0±40,49 ab
5% sacarose	60,4±1,17 b	48,8±1,02 b	1.814,0±37,09 b	1.460,0±27,57 b
5% sac.+2,5% lêv.	50,4±0,51 g	52,8±1,68 ab	1.512,0±13,56 g	1.588,0±47,16 ab
5% mel	50,6±0,81 g	50,6±0,93 ab	1.512,0±24,37 g	1.520,0±26,08 ab
5% mel+2,5% lêv.	51,4±0,40 fg	49,8±0,80 ab	1.538,0±12,41 fg	1.498,0±23,45 ab
10% sacarose	57,2±0,37 bcd	55,6±0,75 a	1.718,0±10,68 bcd	1.668,0±24,17 a
10% sac.+2,5% lêv.	57,4±0,51 bcd	53,2±1,11 ab	1.726,0±15,03 bcd	1.588,0±33,82 ab
10% mel	55,2±0,58 de	53,6±1,63 ab	1.652,0±17,15 de	1.608,0±48,41 ab
10% mel+2,5% lêv.	54,6±0,60 def	55,0±0,84 a	1.634,0±19,39 def	1.644,0±24,00 a
2,5% lêvedo	56,2±0,58 cde	53,4±0,81 ab	1.688,0±17,72 cde	1.604,0±23,15 ab
Água destilada	56,0±0,63 de	51,0±0,84 ab	1.674,0±16,00 de	1.532,0±24,17 ab
Testemunha	55,8±0,58 de	50,4±1,21 ab	1.678,0±16,55 de	1.510,0±37,42 ab

¹médias (±EP) seguidas da mesma letra nas colunas não diferem significativamente (teste de Tukey; P>0,05)

Para a geração F2 observou-se que as dietas compostas por 10% sacarose e 10% mel + 2,5% lêvedo proporcionaram os maiores pesos médios de massas, 55,6 mg e 55 mg ($F_{14,60}=2,98; p=0,0017$), e 1.668 mg e 1.644 mg para 30 massas ($F_{14,60}=3,06; p=0,0013$), respectivamente, diferindo significativamente do menor valor encontrado, quando os adultos foram alimentados com 5% sacarose: 48,8 mg (uma massa) e 1.460 mg (30 massas). Entre as demais dietas não houve diferença significativa (Tab 2).

Os resultados aqui obtidos, peso médio da pupa (1,04 mg), corroboram os relatados por PÁDUA (1983), que obteve um peso médio de 1,1 mg para pupas de *C. flavipes* obtidos por meio parasitismo em lagartas de *D. saccharalis* que se desenvolveram em diferentes temperaturas. Entretanto, LIMA FILHO (1989) utilizou a média do peso dos casulos (1,1 mg), sugerida por PÁDUA (1983) para quantificar o número de indivíduos de *C. flavipes* para o controle de *D. saccharalis*. LIMA FILHO (1989) multiplicou o número de casulos a serem liberados nas áreas experimentais por 1,1 mg, para obter em mg, a quantidade de casulos a serem liberadas. Para confirmação deste valor, reservou amostras das massas pesadas para avaliação do

peso médio de um casulo, contando os casulos emergidos e aqueles sem emergência. Verificou um peso médio de 0,67 mg por casulo de *C. flavipes* e promoveu uma correção nos valores citados por PÁDUA (1983), realizando uma divisão do peso das massas que ele liberou, pelo fator 0,67 (peso médio real de um casulo). As alterações citadas por LIMA FILHO (1989) não corroboram os resultados obtidos neste trabalho, pois não foi realizada alteração do peso médio dos casulos após a emergência dos adultos.

Resultados diferentes dos relatados por PÁDUA (1983; 1986) e por LIMA FILHO (1989) podem ser creditados ao momento do desenvolvimento das massas quando elas foram pesadas, dado que a perda de umidade dos casulos durante o desenvolvimento pupal origina diferença no peso (VIEL et al., 2010).

3.2. Separação dos sexos e contagem dos adultos de *Cotesia flavipes*

Para a geração F1, as maiores médias de adultos de *C. flavipes* emergidos por massa foram com dietas contendo 5% de sacarose (85,0 adultos), 10% de sacarose + 2,5% de lêvedo (84,4); 2,5% de sacarose + 2,5% de lêvedo (83,4), 10% de sacarose (83,0), 10% de mel + 2,5% de lêvedo (80,8), 2,5% de sacarose (80,04), 2,5% de lêvedo (79,2), água destilada (79,2), e testemunha (78,6). A menor média foi de adultos provenientes da geração F1 alimentadas com a dieta contendo 5% de mel + 2,5% de lêvedo de cerveja (63,6 adultos) ($F_{14,60}=4,08; p<0,0001$) (Tab 3).

Para a geração F2, a maior média de adultos emergidos por massa foi com a dieta contendo 5% de sacarose + 2,5% de lêvedo de cerveja (91,0 adultos), enquanto as menores foram com 10% de mel (70,8) e 5% de mel (66,8) ($F_{14,60}=5,0; p<0,0001$) (Tab 3).

Vários autores realizaram estudos envolvendo a contagem de adultos produzidos por massa de *C. flavipes* e os resultados obtidos foram conflitantes. MOUTIA & COURTOIS (1952) relataram 42,6 adultos por massa; CASTILHO (1982): 42,2; PÁDUA

(1983): 37,5; PÁDUA (1986): 38,1; LIMA FILHO (1989): 44,1 e 56,9 em gerações diferentes; UEHARA (2000): 50,8; e VIEL (2007): 61,9.

Tabela 3. Número de adultos emergidos e porcentagem de emergência de *Cotesia flavipes* alimentada com diferentes dietas.

Dietas	Número de adultos emergidos ¹		Porcentagem de emergência (%)	
	F1	F2	F1	F2
2,5% sacarose	80,4±1,50 a	82,4±3,37 abc	83,9±1,38 efg	89,7±1,79 ab
2,5% sac.+2,5% lêv.	83,4±1,69 a	78,8±2,87 abcd	93,9±0,31 a	89,8±0,53 ab
2,5% mel	76,2±5,49 ab	87,0±2,98 ab	84,8±1,32 defg	89,6±0,62 ab
2,5% mel+2,5% lêv.	74,2±3,34 ab	75,8±1,56 bcd	92,2±0,53 ab	92,1±0,61 ab
5% sacarose	85,0±2,32 a	74,6±3,35 bcd	88,1±1,09 bcde	88,1±2,14 ab
5% sac. + 2,5% lêv.	77,0±5,53 ab	91,0±2,30 a	82,6±1,49 fg	91,0±0,63 ab
5% mel	71,8±2,96 ab	66,8±2,98 d	89,8±0,29 abcd	78,9±2,06 c
5% mel + 2,5% lêv.	63,6±1,80 b	82,4±3,28 abc	81,7±1,49 g	93,9±0,88 a
10% sacarose	83,0±3,63 a	88,2±2,63 ab	93,3±1,06 a	91,0±0,35 ab
10% sac. + 2,5% lêv.	84,4±2,04 a	79,8±2,33 abcd	87,1±1,15 cdef	91,5±1,71 ab
10% mel	72,8±2,05 ab	70,8±4,29 cd	90,6±0,62 abc	86,2±2,39 b
10% mel + 2,5% lêv.	80,8±2,03 a	79,2±1,80 abcd	91,5±1,05 abc	90,6±0,68 ab
2,5% lêvedo	79,2±2,52 a	84,4±4,25 abc	84,7±0,61 efg	93,2±0,48 a
Água destilada	79,2±0,73 a	87,4±1,86 ab	85,4±0,31 defg	91,6±0,72 ab
Testemunha	78,6±1,33 a	77,2±3,68 abcd	84,1±0,96 efg	91,6±0,88 ab

¹médias (±EP) seguidas da mesma letra nas colunas não diferem significativamente (teste de Tukey; P>0,05)

Os resultados discordantes podem ser creditados às mudanças que ocorreram nas dietas artificiais oferecidas ao hospedeiro de *C. flavipes* ao longo dos anos de pesquisa, ou ainda a diferenças de temperatura e umidade relativa durante o desenvolvimento das massas do parasitoide, além das distintas linhagens utilizadas nos estudos.

3.3. Porcentagem de emergência de adultos de *Cotesia flavipes*

Na geração F1, as maiores porcentagens médias foram de genitoras alimentadas com 2,5% de sacarose + 2,5% de lêvedo de cerveja (93,9%) e 10% de sacarose

(93,3%), enquanto as menores médias foram com 5% de sacarose + 2,5% de lêvedo (82,6%) e 5% de mel + 2,5% de lêvedo de cerveja (81,7%) ($F_{14,60}=16,15; p<0,0001$) (Tab 3).

Os resultados demonstraram uma tendência de que pode existir um limite viável na alimentação dos adultos para se obter maiores porcentagens de emergência, visto que com baixas dosagens de sacarose ou de mel, com o lêvedo de cerveja resultaram em porcentagens mais elevadas de emergência de adultos, contudo, em dosagens mais elevadas de sacarose ou de mel, a adição do lêvedo de cerveja se tornou prejudicial, diminuindo as porcentagens de emergência alcançadas pelas mesmas dietas sem a adição do lêvedo de cerveja.

Na geração F2 as maiores médias foram de adultos provenientes da geração parental alimentados com 5% de mel + 2,5% de lêvedo de cerveja (93,9%) e 2,5% de lêvedo de cerveja (93,2%), enquanto as menores com 10% de mel (86,2%) e 5% de mel (78,9%) ($F_{14,60}=7,65; p<0,0001$) (Tab 3).

Outros estudos avaliaram a porcentagem de emergência dos adultos de *C. flavipes* e corroboram os resultados obtidos neste estudo, como GIFFORD & MANN (1967): 84%; CASTILHO (1982): 83,2%, e LIMA FILHO (1989): 86,8% e 89,66%, em diferentes gerações.

Para a avaliação da razão sexual, nos testes envolvendo indivíduos da geração F1, os adultos provenientes da geração parental alimentados com a dieta de 5% de mel + 2,5% de lêvedo proporcionaram maior razão sexual, maior número de fêmeas, (0,82), enquanto os adultos provenientes da geração parental alimentados com 10% de mel e 10% de sacarose + 2,5% de lêvedo de cerveja registraram menores razões sexuais (0,61 e 0,60), respectivamente ($F_{14,60}=8,43; p<0,0001$) (Tab 4). Na geração F2, os adultos provenientes da geração parental alimentados com 10% de sacarose + 2,5% de lêvedo de cerveja registraram maior razão sexual (0,75), enquanto os alimentados com a dieta de 2,5% de mel tiveram razão sexual menor (0,59) ($F_{14,60}=2,49; p=0,0076$) (Tab 4).

Vários estudos também foram realizados para avaliação da razão sexual de *C. flavipes*, como LIMA FILHO (1989): 0,51; WIEDENMANN & SMITH JR (1995): 0,66;

0,44 e 0,39, para três linhagens diferentes; UEHARA (2000): 0,61; VIEL (2007): 0,61. CAMPOS-FARINHA & CHAUD-NETTO (2000) e UEHARA (2005) afirmaram que a razão sexual de *C. flavipes* é voltada para fêmeas.

Tabela 4. Razão sexual e longevidade de *Cotesia flavipes* alimentada com diferentes dietas.

Dietas	Razão sexual ¹		Longevidade (horas)	
	F1	F2	Machos	Fêmeas
2,5% sacarose	0,74±0,01 ab	0,62±0,03 ab	72,6±2,00 efg	91,0±3,66 bcd
2,5% sac.+2,5% lêv.	0,78±0,01 ab	0,72±0,02 ab	73,5±3,26 efg	98,6±3,54 abcd
2,5% mel	0,72±0,01 ab	0,59±0,02 b	76,1±3,01 defg	105,5±5,26 ab
2,5% mel+2,5% lêv.	0,76±0,02 ab	0,68±0,02 ab	70,1±3,04 fg	112,5±4,11 a
5% sacarose	0,72±0,02 ab	0,63±0,02 ab	93,5±1,63 ab	101,1±4,72 abc
5% sac. + 2,5% lêv.	0,70±0,02 bcd	0,69±0,01 ab	85,8±2,26 bcd	98,7±5,49 abcd
5% mel	0,71±0,02 bcd	0,65±0,03 ab	89,6±1,17 abc	111,6±4,02 a
5% mel + 2,5% lêv.	0,82±0,03 a	0,69±0,02 ab	78,8±2,43 def	108,4±2,46 a
10% sacarose	0,72±0,03 abc	0,74±0,02 ab	94,8±2,02 ab	105,7±1,92 ab
10% sac.+2,5% lêv.	0,60±0,01 d	0,75±0,03 a	85,7±2,67 bcd	99,0±1,37 abcd
10% mel	0,61±0,02 cd	0,66±0,06 ab	98,7±1,23 a	114,4±2,27 a
10% mel+2,5% lêv.	0,76±0,02 ab	0,73±0,02 ab	81,8±2,10 cde	102,8±1,41 ab
2,5% lêvedo	0,79±0,02 ab	0,72±0,03 ab	73,1±1,19 efg	89,5±2,90 bcd
Água destilada	0,76±0,01 ab	0,64±0,04 ab	69,4±1,21 g	85,4±2,07 cd
Testemunha	0,80±0,02 ab	0,68±0,03 ab	68,1±1,70 g	84,0±1,67 d

¹médias (±EP) seguidas da mesma letra nas colunas não diferem significativamente (teste de Tukey; P>0,05)

3.4. Longevidade de adultos de *Cotesia flavipes* alimentados com diferentes dietas

Nos testes com machos alimentados, as dietas que proporcionaram os melhores resultados foram 10% de mel (98,7H), 10% de sacarose (94,8H), 5% de sacarose (93,5H) e 5% de mel (89,6H). As menores longevidades foram com 2,5% de mel + 2,5% de lêvedo de cerveja (70,1H), água destilada (69,4H) e a testemunha (68,1H) ($F_{14,360}=21,55; p<0,0001$) (Tab 4). Para as fêmeas, os melhores resultados foram com 10% de mel (114,4H), 2,5% de mel + 2,5% de lêvedo de cerveja (112,5H), 5% de mel (111,6H) e 5% de mel +2,5% de lêvedo de cerveja (108,4H), enquanto que os menores

resultados foram obtidos com 2,5% de sacarose (91,0H), 2,5% de lêvedo de cerveja (89,5H), água destilada (85,4H) e a testemunha (84,0H) ($F_{14,360}=8,04; p<0,0001$) (Tab 4).

Observou-se que os adultos que não receberam lêvedo de cerveja apresentaram maiores médias de longevidades que aqueles que receberam as mesmas doses de dieta acrescidas de lêvedo de cerveja (Tab 4).

Os adultos que foram alimentados com a dieta de 10% mel proporcionaram os melhores resultados para longevidade e diferiram significativamente da testemunha, que registrou o pior resultado, alcançando diferença de aproximadamente 30,6 horas para os machos e 30,4 horas para fêmeas, demonstrando uma boa possibilidade de uso prático.

3.5. Longevidade de adultos de *Cotesia flavipes* (alimentação parental)

Não foram observadas diferenças na longevidade entre as fêmeas ou entre os machos da geração F1 (fêmeas: $F_{14,360}=0,57; p=0,8896$; machos: $F_{14,360}=0,21; p=0,9992$) e da geração F2 (fêmeas: $F_{14,360}=1,83; p=0,3366$; machos: $F_{14,360}=0,60; P=0,8684$).

As fêmeas da geração F1 oriundas de adultos da geração parental alimentada com a dieta contendo apenas água destilada tiveram a maior longevidade média (85,8 horas), enquanto aquelas da geração parental alimentadas com a dieta contendo 2,5% de sacarose, a menor média registrada (83,5 horas) (Tab 5).

Na geração F2, as fêmeas da geração parental alimentadas com 10% de sacarose + 2,5% de lêvedo de cerveja apresentaram a maior longevidade média (88,2 horas), e aquelas com a dieta contendo 2,5% de sacarose, a menor média observada para fêmeas (83,1 horas) (Tab 5).

Para machos não alimentados da geração F1 (testemunha) e para aqueles da geração parental alimentados com 5% de sacarose + 2,5% de lêvedo de cerveja, as maiores longevidades médias foram ambas de 69,6 horas, enquanto aqueles da geração parental alimentados com 2,5% ou 10% de sacarose as menores longevidades

médias foram ambas de 67,6 horas. Na geração F2, os machos cujas mães receberam dieta contendo 5% de sacarose ou 5% de mel + 2,5% de lêvedo de cerveja tiveram as maiores longevidades médias (70,6 horas), e aqueles em que as genitoras foram alimentadas com 2,5% de mel registraram, a menor longevidade observada para machos 68,3 horas (Tab 5).

Tabela 5. Longevidade de machos e fêmeas das gerações F1 e F2 de *Cotesia flavipes* alimentada com diferentes dietas.

Dietas	Longevidade de machos (horas) ¹		Longevidade de fêmeas (horas)	
	F1	F2	F1	F2
2,5% sacarose	67,6±1,37 a	68,4±1,19 a	83,5±1,19 a	83,1±0,85 a
2,5% sac.+2,5% lêv.	68,9±1,68 a	69,3±1,34 a	84,6±0,96 a	85,2±1,14 a
2,5% mel	67,9±1,83 a	68,3±0,73 a	83,9±1,08 a	87,5±1,31 a
2,5% mel+2,5% lêv.	69,0±1,57 a	70,1±1,38 a	84,6±0,77 a	86,1±1,12 a
5% sacarose	68,3±1,38 a	70,6±1,29 a	84,4±0,74 a	86,8±0,99 a
5% sac. + 2,5% lêv.	69,6±1,52 a	69,4±1,05 a	85,3±0,89 a	85,3±1,14 a
5% mel	67,8±1,44 a	69,8±1,37 a	84,6±0,54 a	86,4±1,07 a
5% mel + 2,5% lêv.	68,0±1,80 a	70,6±1,03 a	84,0±1,00 a	85,5±1,18 a
10% sacarose	67,6±1,58 a	70,0±1,24 a	84,7±0,96 a	85,8±1,14 a
10% sac.+2,5% lêv.	68,9±1,63 a	70,5±1,09 a	85,1±0,71 a	88,2±0,80 a
10% mel	69,1±1,64 a	68,7±1,03 a	85,4±0,78 a	85,9±1,09 a
10% mel+2,5% lêv.	69,4±1,46 a	70,4±1,07 a	85,1±0,73 a	87,4±0,90 a
2,5% lêvedo	69,0±1,67 a	70,5±1,01 a	85,4±0,59 a	86,6±0,89 a
Água destilada	69,3±1,72 a	68,4±0,86 a	85,8±0,90 a	86,2±0,77 a
Testemunha	69,6±1,63 a	69,2±0,90 a	84,1±0,81 a	83,2±0,73 a

¹médias (±EP) seguidas da mesma letra nas colunas não diferem significativamente (teste de Tukey; P>0,05)

Em todos os tratamentos as fêmeas tiveram longevidade superiores as dos machos, tanto na geração F1 como na geração F2. A diferença de longevidade ficou entre 16,2 horas, (18,9% para os maiores resultados), e 15,9 horas, (19,1% para os menores resultados) na geração F1, e na geração F2, 17,4 horas, (19,8% para os melhores resultados), e 14,9 horas, (17,9% para os menores resultados).

Diversos estudos relataram diferentes resultados para a longevidade de *C. flavipes* que podem ser justificados pela diferença de temperatura e umidade e uso de linhagens diferentes do parasitoide, como CUEVA et al. (1980): 55,2 horas e 76,8 horas, em condições diferentes de temperatura e umidade; MENDES et al. (1983): 7, 5 e 4 dias a 20°C; 5, 5 e 4 dias a 25°C; e 4, 4 e 2 dias a 30°C, para a primeira, segunda e

terceira gerações, respectivamente; PÁDUA (1983): 3,17 dias a 20°C; 2,87 dias a 22°C; 2,79 dias a 25°C e 1,97 dias a 30°C; PÁDUA (1986): 3,5 dias a 100% de UR; 1,44 dias a 82% de UR; 1,14 dias a 72% de UR e 0,92 dias a 60% de UR; UEHARA (2000): 2 a 3 dias (48 a 72 horas).

De forma geral, os tratamentos a base de mel e sacarose, sem a utilização de lêvedo de cerveja foram aqueles que demonstraram os melhores resultados para os pesos das massas e para a longevidade dos adultos alimentados. Quando o parasitoide consome uma dieta a base de mel e sacarose, melhora suas características biológicas, que pode estar relacionada com uma fonte de alimento mais energética.

Os tratamentos que receberam o acréscimo de lêvedo de cerveja proporcionaram as maiores quantidades de adultos por massa, as maiores porcentagens de fêmeas por massa e ainda massas com as melhores porcentagens de emergência de adultos.

A análise de agrupamentos (Fig 7), das diferentes dietas usadas para alimentação de adultos de *C. flavipes* mostrou que as dietas de 5% de sacarose, 10% de mel e 5% de mel apresentaram padrões específicos quando comparadas às demais, inclusive com a testemunha, o que pode ser explicado por terem proporcionado melhorias nas características biológicas e na qualidade do parasitoide.

A alimentação de adultos de insetos entomófagos em laboratório pode otimizar a fecundidade e prolongar o tempo de vida. A fonte de carboidrato é o alimento comumente empregado (THOMPSON & RAGEN, 1999). HOHMANN et al. (1988) relataram que fêmeas de *Trichogramma platneri* Nagarkatti, 1975 (Hymenoptera: Trichogrammatidae) tiveram curta longevidade e cerca de metade de seu potencial de fecundidade quando não foi disponibilizado mel para a alimentação dos adultos. Resultados similares foram posteriormente reportados por MCDUGALL & MILLS (1997) para essa espécie.

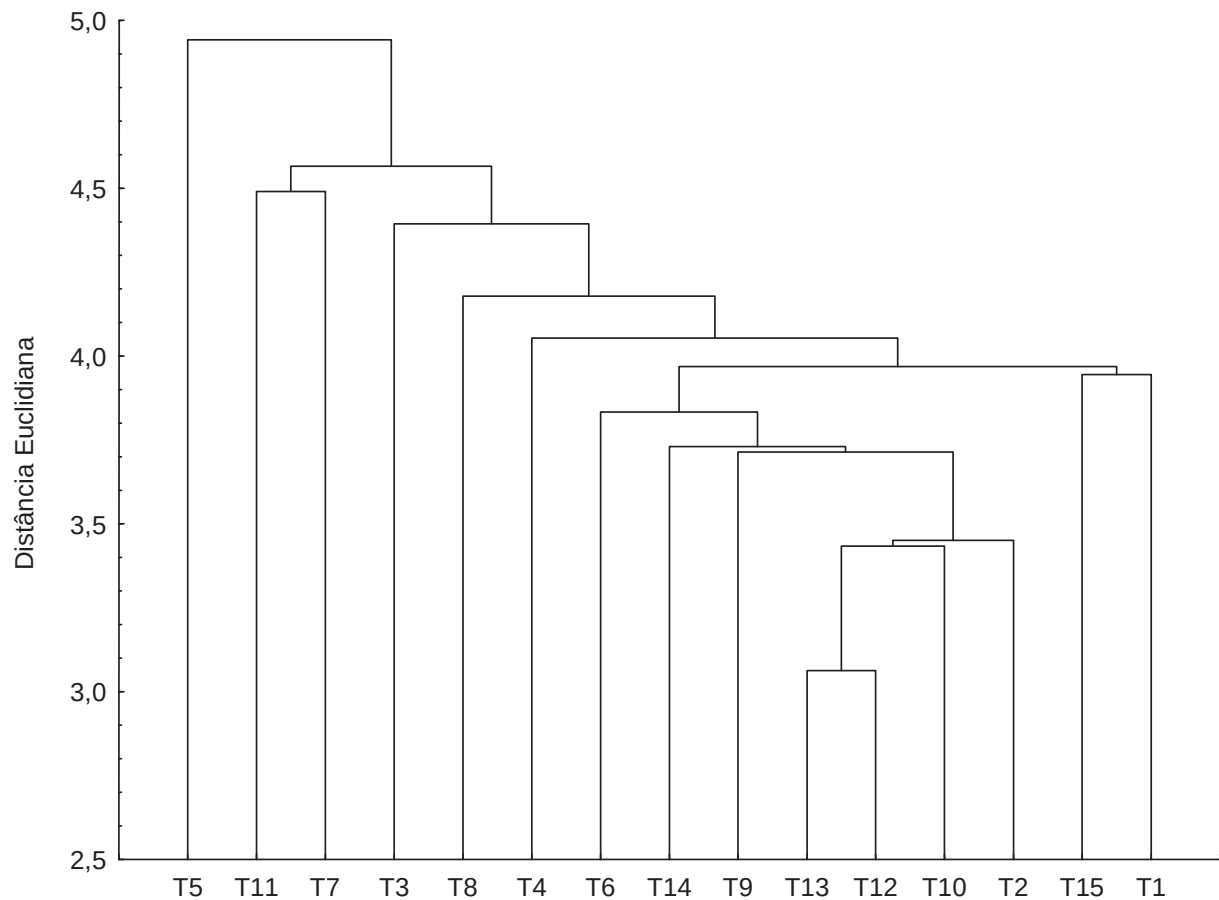


Figura 7. Dendrograma mostrando a estrutura de grupos formada pelas diferentes dietas fornecidas a adultos de *Cotesia flavipes*.

A disponibilidade de mel após o primeiro dia da emergência de adultos aumentou em seis vezes a longevidade de *Trichogramma pretiosum* Riley, 1879 (Hymenoptera: Trichogrammatidae) (BAI et al., 1992). MORALES-RAMOS et al. (1996) observaram que fêmeas de *Catolaccus grandis* Burks, 1954 (Hymenoptera: Pteromalidae) exibiram maior longevidade quando alimentadas com solução de glicose-frutose.

Vários autores relataram a importância potencial de alimentos suplementares para melhorar a eficiência dos agentes de controle biológico (VAN EMDEN, 1990; JERVIS & KIDD, 1991; JERVIS et al., 1996).

Sugere-se que novos estudos sejam conduzidos, por mais gerações do parasitoide para se confirmar os resultados observados nas gerações F1 e F2.

4. CONCLUSÕES

A disponibilização da dieta a base de 5% de sacarose, 5 e 10% de mel aos adultos de *C. flavipes* antes da liberação em campo, proporcionou acréscimo considerável na sua longevidade.

O consumo de dietas artificiais pelos adultos de *C. flavipes* antes do parasitismo em *D. saccharalis* proporcionou melhorias qualitativas na criação massal desse agente de controle em laboratório.

5. REFERÊNCIAS

ARAÚJO, J.R. **Guia prático para criação da broca da cana-de-açúcar e de seus parasitoides em laboratório**. Piracicaba: IAA/PLANALSUCAR, 1987. 36p.

BAI, B.; LUCK, R. F.; FORSTER, 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.

CAMPOS-FARINHA, A.E. de C.; CHAUD-NETTO, J. Biologia reprodutiva de *Cotesia flavipes* (Cameron) (Hymenoptera: Braconidae) avaliação do número de posturas, prole e razão sexual do parasitoide em relação ao tamanho do hospedeiro *Diatraea saccharalis* Fabricius (Lepidoptera: Pyralidae). **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v.67, p.249-252, 2000.

CARVALHO, J.S.; VOLPE, H.X.L.; VIEL, S.R.; GOULART, R.M.; VACARI, A.M.; JUNIOR, J.A. de S.; DE BORTOLI, S.A. Pragas da cana-de-açúcar: descrição, dano e controle, In: ARAÚJO, E. de S.; VACARI, A.M.; CARVALHO, J.S.; GOULART, R.M.; CAMPOS, A.P.; VOLPE, H.X.L. (Eds.). **Tópicos em Entomologia Agrícola**. Ribeirão Preto: Maxicolor Gráfica e Editora, 2008. p.55-70.

CASTILHO, H.J. **Introdução de *Apanteles flavipes* (Cam., 1891) (Hymenoptera, Braconidae) para o controle biológico da broca da cana-de-açúcar *Diatraea saccharalis* (Fabr., 1794) (Lepidoptera, Pyralidae), na região de Santa Bárbara d'Oeste, SP.** 1982. 79f. Dissertação (Mestrado em Entomologia) - ESALQ/USP, Piracicaba. 1982.

CUEVA, M.C.; AYQUIPA, G.A.; MESCUA, V.B. Estúdios sobre *Apanteles flavipes* (Cameron), introducido para controlar *Diatraea saccharalis* (F.) en el Peru. **Revista Peruana de Entomologia**, Lima, v.23, p.73-76, 1980.

DE BORTOLI, S.A.; VIANA, C.L.T.P. A Base. In: DE BORTOLI, S.A. (Ed.). **Criação de Insetos: da base à biofábrica**. Jaboticabal, São Paulo: edição própria, 2009. p.12-56.

GIFFORD, J.R.; MANN, G.A. Biology, rearing and a trial realease of *Apanteles flavipes* in the Florida Everglades to control the sugarcane borer. **Journal of Economic Entomology**, Washington, v.60, p.44-47, 1967.

HENSLEY, S.D.; HAMMOND, JR., A.H. Laboratory techniques for rearing the sugarcane borer on an artificial diet. **Journal of Economic Entomologic**, Geneva, v.61, p.1742-1743, 1968.

HIVIZI, C.L.; BUENO, V.H.P.; SILVA, A.C.; CARVALHO, L.M. Controle de qualidade do parasitoide *C. flavipes*. In: BUENO, V.H.P.(Ed.). **Controle biológico de pragas: Produção massal e controle de qualidade**. 2.ed. Lavras: Editora UFLA, 2009. 429p.

HOHMANN, C. L.; LUCK, R. F.; OATMAN, E. R. A comparison of longevity and fecundity of adult *Trichogramma platneri* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) reared from the eggs of the cabbage looper and the angoumois grain moth, with and without access to honey. **Journal of Economic Entomology**, v.81, p.1307-1312, 1988.

JERVIS, M. A.; HAWKINS, B. A.; KIDD, A. C. The usefulness of destructive host feeding parasitoids in classical biological control: Theory and observation conflict. **Ecology and Entomology**, v.21, p.41-46, 1996.

JERVIS, M. A.; KIDD, A. C. The dynamic significance of hostfeeding by insect parasitoids--what modellers ought to consider. **Oikos**, v.62, p.97-99, 1991.

LENTEREN, J.C. van. Controle de qualidade de agentes de controle biológico produzidos massalmente. In: BUENO, V.H.P. (Ed.). **Controle biológico de pragas: Produção massal e controle de qualidade**. 2.ed. Lavras: Editora UFLA, 2009. p.311-337.

LIMA FILHO, M. **Quantificação de *Apanteles flavipes* (Cameron, 1891) em cana-de-açúcar para controle de *Diatraea* spp.** 1989. 107f. Dissertação (Mestrado em Entomologia) - ESALQ/USP, Piracicaba. 1989.

MCDUGALL, S. J.; MILLS, N. J. The influence of host, temperature and food sources on the longevity of *Trichogramma platneri*. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v.83, p.195-203, 1997.

MENDES, V.L.F.L.; SILVA, R.M.L.; MENDONÇA, A.F.; MELO, E.M. Influência de diferentes temperaturas no ciclo biológico de *Apanteles flavipes* Cam. (Hym.: Braconidae). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENTOMOLOGIA, 8., 1983, Brasília-DF. **Anais...** Brasília: SEB, 1983. p.266.

MENDONÇA, A.F. **Pragas da cana-de-açúcar**. Maceió: INSETOS & CIA. 1996. 200p.

MORALES-RAMOS, J. A.; ROJAS, M. G.; KING, E. G. Significance of adult nutrition and oviposition experience on longevity and attainment of full fecundity of *Catolaccus grandis* (Hymenoptera: Pteromalidae). **Annals of the Entomological Society of America**, v.89, p.555-563, 1996.

MOUTIA, L.A.; COURTOIS, C.M. Parasites of the moth-borers of sugar-cane in Mauritius. **Bulletin of Entomological Research**, London, v.43, p.325-359, 1952.

PÁDUA, L.E.M. **Biologia comparada de *Apanteles flavipes* (Cameron, 1891) (Hymenoptera-Braconidae) para determinação de suas exigências térmicas**. 1983. 53f. Dissertação (Mestrado em Entomologia) - ESALQ/USP, Piracicaba. 1983.

PÁDUA, L.E.M. **Influência da nutrição, temperatura e umidade relativa do ar na relação *Apanteles flavipes* (Cameron, 1891) – *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794)**. 1986. 85f. Tese (Doutorado em Entomologia) - ESALQ/USP, Piracicaba. 1986.

PARRA, J.R.P. Índices nutricionais para medir consumo e utilização de alimentos por insetos, In: PANIZZI, A.R., PARRA, J.R.P. (Eds.). **Bioecologia e nutrição de insetos – base para o manejo integrado de pragas**. Brasília: Embrapa, 2009. p.37-90.

PREZOTTI, L.; PARRA, J.R.P. Controle de qualidade em criações massais de parasitoides e predadores. In: PARRA, J.R.P.; BOTELHO, P.S.M.; CORRÊA-FERREIRA, B.S.; BENTO, J.M.S. **Controle biológico no Brasil: parasitoides e predadores**. São Paulo: Manole, 2002. p.295-311.

SAS INSTITUTE. SAS/STAT User`s Guide, version 9.00 TS level 2MO. SAS Institute Inc., Cary, NC. 2002.

THOMPSON, S.N.; HAGEN, K.S. Nutrition of entomophagous insects and other arthropods. In: BELLOWS, T.S. and FISHER, T.W. (Eds.). **Handbook of Biological Control: Principles and Applications**. Academic Press, San Diego, CA, p.594-652, 1999.

UEHARA, M.T. **Avaliação da aptidão “fitness” das populações do parasitoide *Cotesia flavipes* (Hymenoptera: Braconidae) (Cameron, 1891).** 2000. 94f. Dissertação (Mestrado em Entomologia) – Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto. 2000.

UEHARA, M.T. **Estratégias de parasitismo da vespa parasitoide *Cotesia flavipes*, Cameron, 1891 (Hymenoptera: Braconidae).** 2005. 124f. Tese (Doutorado em Entomologia) - Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto. 2005.

VAN EMDEN, H. F. Plant diversity and natural enemy efficiency in agroecosystems. In: MACKAUER, L. E.; EHLER, & J. ROLAND (Eds.). **Critical issues in biological control.** Andover: Intercept. p.63-80, 1990.

VIEL, S.R. **Uso da alimentação para otimização da criação massal de *Cotesia flavipes* (Cameron, 1891) (Hymenoptera: Braconidae) em broca da cana-de-açúcar.** 2007. 32f. Monografia (Latu Senso em Manejo Integrado de Pragas e Receituário Agrônomo) – Universidade Federal de Lavras / UFLA. Lavras, MG. 2007.

VIEL, S.R. Criação de *Diatraea saccharalis* e *Cotesia flavipes*, In: DE BORTOLI, S.A. (Ed.). **Criação de Insetos: da base à biofábrica.** Jaboticabal: edição própria, 2009. p.76-140.

VIEL, S.R.; DE BORTOLI, S.A.; VACARI, A.M.; PERIOTO, N.W. Relação entre o peso médio das massas de *Cotesia flavipes* com dados quantitativos de qualidade para o uso comercial. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENTOMOLOGIA, 23., 2010, Natal-RN. **Anais...** Natal: SEB, 2010. (CD-ROM).

WIEDENMANN, R.N.; SMITH JR, J.W. Parasitization of *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Pyralidae) by *Cotesia chilones* and *C. flavipes* (Hymenoptera: Braconidae). **Environmental Entomology**, v.24, p.950-61, 1995.

WILKINSON, D.S. A revision of the Indo-Australian species of the genus *Apanteles* (Hym.:Braconidae). Part I. **Bulletin of Entomological Research**, London, v.19, p.79-105, 1928.

CAPÍTULO 3 – PROTOCOLO DE AVALIAÇÃO DE EFICIÊNCIA DO PARASITOIDE *Cotesia flavipes* NA BUSCA PELO SEU HOSPEDEIRO *Diatraea saccharalis* EM LABORATÓRIO.

RESUMO – O estudo visou testar um protocolo de avaliação da qualidade de *Cotesia flavipes* Cameron 1891, quanto à eficiência na busca do hospedeiro *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794). Foram avaliados o tempo de disponibilidade do hospedeiro para a oviposição, a quantidade de lagartas parasitadas, a fotofase mais adequada ao parasitismo, e a condição do orifício de entrada da lagarta no colmo de cana-de-açúcar (aberto - A ou fechado - F). Os insetos foram obtidos da Biotech, Ribeirão Preto, SP. e mantidos em condições controladas. Para a realização dos testes foi usada uma arena, representada por um copo de polietileno de 700 mL com tampa. Lagartas de *D. saccharalis* de 15 dias foram oferecidas em diferentes quantidades, em um pedaço de colmo de 13 cm, perfurado transversalmente. As lagartas foram colocadas nos orifícios conforme o tratamento (0, 6, 12, 18 e 24 horas de fotofase - L), (6, 12, 18 e 24 horas de disponibilidade do hospedeiro - H) e (1, 2, 3, 4 e 5 lagartas por arena - T); todos com 15 repetições. Após o término do período de disponibilidade do hospedeiro, as lagartas foram retiradas e colocadas em recipientes de desenvolvimento com dieta artificial. Os dados obtidos foram analisados pelo teste de Kolmogorov e a homogeneidade da variância pelo teste de Bartlett. Foram realizadas também análises de agrupamento e de componentes principais. Para as comparações foi criado um Índice de Performance da Qualidade (IPQ). Dois subgrupos foram selecionados por terem propriedades específicas e os maiores IPQs. No primeiro, somaram 5 tratamentos (24H-0L-1T-F_IPQ22; 24H-12L-1T-F_IPQ22; 18H-12L-2T-F_IPQ15; 18H-6L-3T-F_IPQ15; e 12H-0L-1T-F_IPQ26) e no segundo 6 tratamentos (24H-6L-1T-F_IPQ17; 18H-6L-1T-A_IPQ16; 12H-6L-1T-F_IPQ17; 12H-12L-1T-A_IPQ12; 18H-12L-1T-F_IPQ17; e 6H-0L-1T-F_IPQ23). Dos 11 selecionados, os três melhores IPQs (I26; I23; e I22) possuem três condições iguais, das quatro testadas, (0L-1T-F), diferenciando-se apenas pelas horas de disponibilidade do hospedeiro (12H; 6H; e

24H). Propõe-se o uso do tratamento com Seis horas de disponibilidade do hospedeiro, zero hora de luz, uma lagarta por arena, com o orifício de entrada da lagarta no colmo fechado, para avaliação da qualidade de *C. flavipes*, dada a maior facilidade e rapidez na realização dos testes, menor quantidade de horas e disponibilidade do hospedeiro.

Palavras-chave: controle de qualidade, parasitoides, protocolo amostral, criação massal, manejo integrado

PROTOCOL FOR THE EVALUATION OF EFFICIENCY OF THE PARASITOID *Cotesia flavipes* IN THE PURSUIT OF ITS HOST *Diatraea saccharalis* LABORATORY.

ABSTRACT - The study aimed to test a protocol for evaluating the quality of *Cotesia flavipes* Cameron 1891, regarding the efficiency in the pursuit of the host *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794). We assessed the time of availability of hosts for oviposition, the number of parasitized caterpillars, the photophase most appropriate to parasitism, and the condition of the entrance hole of the worm stems of cane sugar (open - or closed A - F) . The insects were obtained from Biotech, Ribeirão Preto, SP. and maintained under controlled conditions. For the tests used was an arena, represented by a glass of 700 mL with polyethylene lid. Larvae of *D. saccharalis* 15 days are offered in different quantities in a piece of stem of 13 cm, drilled across. Larvae were placed in the holes according to treatment (0, 6, 12, 18 and 24 hours of photophase - L), (6, 12, 18 and 24 hours of availability of the host - H) and (1, 2, 3, four five larvae per arena - T), all with 15 repetitions. After the period of availability of the host, the larvae were removed and placed in containers with artificial diet development. Data were analyzed by the Kolmogorov and homogeneity of variance by Bartlett's test. Were also carried out cluster analysis and principal components. For comparisons was created a Performance Index for Quality (IPQ). Two subgroups were selected because they have specific properties and the largest IPQs. At first, amounted to 5 treatments (24H-0L-1T-F_IPQ22, 24H-12L-1T-F_IPQ22, 18H-12L-2T-F_IPQ15, 18H-6L-3T-F_IPQ15, and 12H-0L-1T-F_IPQ26) and second six treatments (24H-6L-1T-F_IPQ17, 18H-6L-1T-A_IPQ16, 12H-6L-1T-F_IPQ17, 12H-12L-1T-A_IPQ12, 18H-12L-1T-F_IPQ17, and 6H-0L-1T - F_IPQ23). Of the 11 selected, the top three IPQs (I26, I23, and I22) have three equal terms of the four tested (F-0L-1T), differing only by the hours of availability of the host (12H, 6H, and 24H). It is proposed the use of treatment with Six hours of availability of the host, zero hours of light, a caterpillar in the arena with the entrance hole of the worm

in the stem close to the quality assessment of *C. flavipes*, given the ease and speed tests, fewer hours and availability of the host.

Keywords: quality control, parasitoids, sampling protocol, integrated management

1. INTRODUÇÃO

O controle biológico com parasitoides é o mais eficiente dos meios de combate à broca da cana-de-açúcar *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794) (Lepidoptera: Crambidae) (MACEDO & BOTELHO, 1988; TERAN et al., 1986). Este método de controle pode ser realizado por meio de introduções de parasitoides de outros países, liberações suplementares ou ainda realizando o manejo do meio, melhorando as condições favoráveis aos inimigos naturais, tornando-os mais eficientes (BENNETT, 1977).

Em 1973, o Instituto do Açúcar e do Alcool / Programa Nacional de Melhoramento da Cana-de-açúcar (IAA/PLANALSUCAR) iniciou um programa que tinha por objetivos, a princípio, conhecer os hábitos, biologia, inimigos naturais e principais prejuízos ocasionados pela broca da cana-de-açúcar (BOTELHO, 1992).

Em termos econômicos, *D. saccharalis* é a espécie mais importante do gênero e de maior distribuição como praga de cana-de-açúcar no continente americano e, também maior importância econômica para aquela cultura no Brasil, onde causa prejuízos em todo o território nacional (MENDONÇA, 1996).

Segundo MENDONÇA (1996), quando as lagartas atacam canas novas, de até quatro meses de idade, causam a morte da gema apical e provocam a morte da planta, sintoma conhecido como “coração morto”. Em cana adulta, as perfurações e as galerias abertas no colmo causam brotações laterais, enraizamento aéreo, perda de peso, afinamento do colmo, atrofia de entrenós e morte da planta, com consequente queda da produção agrícola.

Através das perfurações feitas pelas lagartas e pelas rachaduras do colmo, penetram fungos (*Fusarium moniliforme* Sheldon e ou *Colletotrichum falcatum* Went) causadores da podridão vermelha, responsável pela queda no rendimento industrial provocada pela inversão da sacarose, diminuição da pureza do caldo e contaminação no processo de fermentação alcoólica (PLANALSUCAR, 1982).

ALMEIDA et al. (2008) afirmaram que experimentos conduzidos em telados e campo indicaram que para cada 1% do Índice de Infestação (I.I.%) ocorrem perdas médias de 0,77% na produção de cana, acrescidas de 0,25% na produção de açúcar e 0,20% na produção de álcool. Lembram ainda que as perdas de campo são representadas pelas canas quebradas e mortas que permanecem no canavial e que as perdas em açúcar e álcool referem-se aos danos do complexo broca mais podridão vermelha que ocorrem nas canas danificadas que são levadas a indústria.

O controle biológico de *D. saccharalis* com a utilização de seus inimigos naturais tornou-se prática bastante difundida e utilizada nas usinas do Brasil (ARAÚJO, 1987). Dentre os parasitoides liberados para o controle de *D. saccharalis*, o microhimenóptero *Cotesia flavipes* (Cameron, 1891) (Hymenoptera: Braconidae) tem se mostrado o mais eficiente (BOTELHO et al., 1983; ALMEIDA et al., 1991) e o agente de controle produzido em maior quantidade nos laboratórios do Estado de São Paulo. Estes laboratórios realizam a produção massal dos parasitoides, levantamentos populacionais da praga, liberações dirigidas, avaliação de parasitismo e o levantamento de intensidade de infestação (porcentagem de entrenós brocados) para avaliação dos danos causados pela broca (COPERSUCAR, 1984; ALMEIDA et al., 1988).

GALLO et al. (2002) afirmaram que este é o mais importante programa de controle biológico brasileiro e que, com a introdução e liberação de *C. flavipes*, a intensidade de infestação da broca-da-cana que era de 8 a 10%, passou para 2% no Estado de São Paulo, o que resultou em economia de 80 milhões de dólares/ano.

BOTELHO (1992) relatou as principais atividades desenvolvidas pelo IAA/PLANALSUCAR no controle biológico da broca da cana-de-açúcar ao longo de 15 anos de pesquisa na região que abrange os estados do Paraná, São Paulo, Minas Gerais, Mato Grosso do Sul e Mato Grosso (cerca de 2,3 milhões de ha) e informou que as criações e liberações de *C. flavipes* foram constantes e crescentes a partir de 1976, passou por certa estabilização nos anos seguintes até 1985, com aumento no número de parasitoides liberados em função, principalmente, do tamanho da área de plantio da cana.

A troca de informações entre os laboratórios que produzem esses insetos, a competitividade entre eles e o desenvolvimento de pesquisas locais, favoreceram a ocorrência de diferenças entre as metodologias de criação (VIEL, 2009).

Laboratórios de usinas, do Centro de Tecnologia Canavieira (CTC) e vários particulares comercializam pupas de *C. flavipes*, principalmente na região sudeste do país. O aumento na produção proporcionou diminuição significativa no preço deste parasitoide e, por consequência, no custo de controle da praga (VIEL, 2009).

Segundo DE BORTOLI & VIANA (2009), o controle de qualidade em criações de insetos passou a ser preocupação a partir dos anos de 1980. Nessa época eram utilizados vários parâmetros biológicos como a porcentagem de emergência, razão sexual, longevidade, fecundidade, tamanho, habilidade de voo, eficiência de campo, dentre outros, para verificar se o inseto produzido no laboratório era competitivo com os selvagens, de campo. Na atualidade, ainda são incipientes os programas de controle de qualidade de *C. flavipes* produzidos no Brasil.

VIEL et al. (2007) elaboraram um histórico de produtividade na criação massal de *C. flavipes* e de *D. saccharalis*, avaliaram cinco índices de produtividade observados no laboratório de produção massal de *C. flavipes* da usina LDC Bioenergia SA, unidade de Jaboticabal, SP: massa/broca inoculada; número de colaboradores; brocas inoculadas/colaborador/mês; massas liberadas/colaborador/mês e (I.I.%). Os autores observaram que houve tendência de crescimento ao longo dos anos na eficiência de inoculação realizada no laboratório, aumento do número de brocas inoculadas/colaborador/mês, aumento no número de massas liberadas colaborador/mês e diminuição no índice médio de intensidade de infestação, apesar das reduções no número de colaboradores do laboratório. Tal tendência foi também observada na maioria dos laboratórios de produção massal de *D. saccharalis* e de *C. flavipes* do Brasil.

DE BORTOLI & VIANA (2009) afirmaram que para a produção de inimigos naturais, a qualidade do produto fornecido é determinante pelo desempenho pós-liberação. Para CHAMBERS (1977) devem ser considerados os componentes de

qualidade como: adaptabilidade, mobilidade, atividade sexual, reprodução e colonização.

VIEL (2009) descreveu procedimentos para se atingir o mínimo de qualidade no controle das operações na criação massal de *C. flavipes* e seu hospedeiro *D. saccharalis* em laboratório e citou, como exemplos, o uso correto dos ovos do hospedeiro (posturas), a seleção de lagartas para a manutenção do laboratório, a seleção de pupas e de adultos do hospedeiro, a seleção de massas de *C. flavipes* para obtenção de material de matrizes e a eficiência do parasitismo induzido (inoculação). Contudo, a quantidade de adultos produzidos por massa, o tamanho individual dos adultos, a razão sexual obtida, a eficiência de parasitismo induzido ou ainda a quantidade de massas que constituem um copo de liberação em campo não definem a qualidade do parasitoide quanto a busca pelo seu hospedeiro, pelo fato do parasitismo em laboratório ocorrer de forma induzida e não representa a eficiência de controle da praga em campo.

O aumento no número de biofábricas no Brasil e no mundo e da concorrência conduzirá os produtores de insetos a terem como diferencial de suas criações a qualidade do indivíduo produzido (DE BORTOLI & VIANA, 2009).

A qualidade do material destinado à liberação, indicada pelos caracteres biológicos do parasitoide seria o mais importante subsídio para programar o controle da praga em função dos demais parâmetros de campo (LIMA FILHO, 1989).

Uma substância hidrossolúvel presente nas fezes secas ou reidratadas de lagartas de *D. saccharalis* é a responsável pela localização do hospedeiro pelo parasitoide. O contato do parasitoide com as fezes induz o comportamento de busca, caracterizado pela redução no ritmo de locomoção e tateamento das fezes com as antenas (LEERDAM et al., 1986).

Ainda são raros os estudos que visam o controle de qualidade em criação de inimigos naturais, devido a pouca tradição no uso do controle biológico aplicado no país (PREZOTTI & PARRA, 2002).

Apesar de algumas espécies de inimigos naturais terem sido avaliados antes do uso comercial cerca de 20 anos atrás, hoje algumas espécies são vendidas sem a

realização de testes que demonstrem sua real eficiência no campo (LENTEREN, 2009a). Procedimentos para o controle de qualidade para inimigos naturais foram delineados para várias espécies, e ainda são realizados para outras espécies de inimigos naturais (LENTEREN et. al., 2003).

Para garantir a qualidade de *C. flavipes* produzido em laboratório, HIVIZI et al. (2009) propuseram testes de controle de qualidade envolvendo a preparação do material, avaliação do parasitismo e da fecundidade, emergência, razão sexual, longevidade e atividade de voo do parasitoide.

Segundo LENTEREN (2009b), o desenvolvimento de programas de controle de qualidade simples e confiáveis para inimigos naturais aumentou como resultado da intensa colaboração entre os pesquisadores e os usuários do controle biológico, e espera-se que esses desenvolvimentos resultem em um rápido melhoramento da “indústria” do controle biológico.

Atualmente não há uma metodologia eficaz capaz de avaliar a eficiência de *C. flavipes* na busca pelo seu hospedeiro. As avaliações realizadas no material biológico adquirido de diversos laboratórios produtores deste agente de controle são unicamente quantitativas.

Este estudo visou testar um protocolo de avaliação para a qualidade de *C. flavipes* produzido em laboratório quanto à eficiência na busca de seu hospedeiro *D. saccharalis*, baseado no tempo necessário de disponibilidade das lagartas para ocorrência da oviposição, na quantidade de lagartas parasitadas por uma única fêmea, na fotofase mais adequada para a ocorrência do parasitismo, e na condição do orifício de entrada da lagarta no colmo de cana-de-açúcar (aberto ou fechado). A principal proposta foi desenvolver uma metodologia prática e de baixo custo para ser utilizada por qualquer produtor de cana-de-açúcar para testar o material biológico proveniente dos diversos laboratórios de produção, ou ainda, dar a possibilidade para os próprios laboratórios de produção avaliarem a qualidade do material por eles produzido.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Local do estudo

Por se tratar de estudo multidisciplinar, as atividades deste projeto foram desenvolvidas no Laboratório de Biologia e Criação de Insetos (LBCI) do Departamento de Fitossanidade da Unesp e no laboratório de Entomologia da LDC Bioenergia SA., ambos em Jaboticabal, SP. Os insetos foram mantidos sob condições controladas, com temperatura de $27^{\circ}\text{C}\pm 1$, umidade relativa de $60\pm 10\%$ e com diferentes períodos de fotofase, de acordo com os tratamentos propostos.

2.2. Origem do material biológico

Os insetos foram obtidos por doação do laboratório de criação de *D. saccharalis* e de seu inimigo natural *C. flavipes*, da empresa Biotech, situada no município de Ribeirão Preto, SP. A produção destes agentes foi baseada em ARAÚJO (1987) e modificada por VIEL (2009).

Todos os materiais e utensílios utilizados no projeto seguiram as recomendações de assepsia em laboratórios de criação de inimigos naturais da broca da cana-de-açúcar, segundo SANGUINO (1983).

2.3. Teste de eficiência da busca de *Cotesia flavipes* pelo hospedeiro

2.3.1. Desenvolvimento de arenas para avaliação de busca de *Cotesia flavipes* pelo hospedeiro *Diatraea saccharalis*

Testes preliminares foram feitos para criação de uma arena para avaliação da qualidade de *C. flavipes* quanto a busca de seu hospedeiro, *D. saccharalis* utilizando a princípio, uma estrutura de vidro transparente com 4 mm de espessura, nas dimensões 100x50x50 cm (Fig 1), semelhante a um aquário, com duas aberturas superiores, uma do lado esquerdo, para facilitar a liberação das fêmeas do parasitoide e, a outra do lado direito, para a colocação dos colmos de cana-de-açúcar perfurados contendo as lagartas do hospedeiro. Foram realizadas várias liberações de fêmeas de *C. flavipes* no interior da arena, contudo, o parasitoide se manteve apenas caminhando no lado esquerdo da arena, próximo do local de liberação.



Figura 1. Protótipo de arena para testes de avaliação da qualidade de parasitismo de *Cotesia flavipes*, confeccionada com vidro de 4 mm de espessura, nas dimensões 100x50x50 cm.

Não foram obtidas lagartas parasitadas a partir desse modelo de arena, pois mesmo tendo deixado o hospedeiro disponível ao parasitismo por 24 horas, o parasitoide não realizou a oviposição.

Outro grande problema seria quanto a viabilidade das repetições, já que a arena só permitia uma repetição durante o período avaliado, o que tornaria o trabalho extremamente longo. Ainda assim, havia o inconveniente de se confeccionar, armazenar e transportar uma arena pesada, frágil e que dependia de um espaço considerável para armazená-la.

Desta forma, buscou-se um formato de arena de testes que fosse de fácil acesso, viável para a realização de várias repetições simultâneas, de baixo custo e que fosse descartável ao final do processo, para não necessitar armazenamento.

Dada a ineficiência da arena de vidro, foram realizados novos testes com uma nova arena que se constituiu de um copo transparente de polietileno de 700mL, com uma tampa removível (Fig 2), para facilitar a colocação dos colmos contendo as lagartas de *D. saccharalis*.

Foram oferecidas lagartas de *D. saccharalis*, de 15 dias de idade, em 140 diferentes tratamentos (Tab 1), no interior de um pedaço de colmo de cana-de-açúcar de 13 cm de comprimento, perfurado com uma broca de 5/32 mm acoplada em furadeira elétrica. Os tratamentos foram: 1, 2, 3, 4 e 5 lagartas no interior do colmo com um orifício aberto; 1, 2, 3, 4 e 5 lagartas no interior do colmo com o orifício fechado pela própria lagarta. Todos os tratamentos foram realizados com diferentes períodos de disponibilidade do hospedeiro no interior das arenas (6, 12, 18 e 24 horas) e com diferentes fotofases (0, 6, 12, 18 e 24 horas).



Figura 2. Bancada com as arenas de testes de qualidade do parasitismo de *Cotesia flavipes*, preparadas para dois tratamentos testados no experimento.

Tabela 1. Teste de eficiência da busca de *Cotesia flavipes* pelo hospedeiro *Diatraea saccharalis*.

		Fotofase - 0 Hora				Fotofase - 6 Horas				Fotofase - 12 Horas				Fotofase - 18 Horas				Fotofase - 24 Horas			
		Horas de Disponibilidade do hospedeiro				Horas de Disponibilidade do hospedeiro				Horas de Disponibilidade do hospedeiro				Horas de Disponibilidade do hospedeiro				Horas de Disponibilidade do hospedeiro			
Orifício de entrada da lagarta - Aberto	Nº de Lagartas	6H	12H	18H	24H	6H	12H	18H	24H	6H	12H	18H	24H	6H	12H	18H	24H	6H	12H	18H	24H
	1 lagarta	15*	15*	15*	15*	15*	15*	15*	15*	0	15*	15*	15*	0	0	15*	15*	0	0	0	15*
	2 lagartas	15*	15*	15*	15*	15*	15*	15*	15*	0	15*	15*	15*	0	0	15*	15*	0	0	0	15*
	3 lagartas	15*	15*	15*	15*	15*	15*	15*	15*	0	15*	15*	15*	0	0	15*	15*	0	0	0	15*
	4 lagartas	15*	15*	15*	15*	15*	15*	15*	15*	0	15*	15*	15*	0	0	15*	15*	0	0	0	15*
	5 lagartas	15*	15*	15*	15*	15*	15*	15*	15*	0	15*	15*	15*	0	0	15*	15*	0	0	0	15*
Orifício de entrada da lagarta - Fechado	Nº de Lagartas	6H	12H	18H	24H	6H	12H	18H	24H	6H	12H	18H	24H	6H	12H	18H	24H	6H	12H	18H	24H
	1 lagarta	15*	15*	15*	15*	15*	15*	15*	15*	0	15*	15*	15*	0	0	15*	15*	0	0	0	15*
	2 lagartas	15*	15*	15*	15*	15*	15*	15*	15*	0	15*	15*	15*	0	0	15*	15*	0	0	0	15*
	3 lagartas	15*	15*	15*	15*	15*	15*	15*	15*	0	15*	15*	15*	0	0	15*	15*	0	0	0	15*
	4 lagartas	15*	15*	15*	15*	15*	15*	15*	15*	0	15*	15*	15*	0	0	15*	15*	0	0	0	15*
	5 lagartas	15*	15*	15*	15*	15*	15*	15*	15*	0	15*	15*	15*	0	0	15*	15*	0	0	0	15*

*Refere-se à quantidade de repetições realizadas.

Em todos os tratamentos foram utilizadas lagartas de *D. saccharalis* provenientes do mesmo lote de produção, e da mesma idade de desenvolvimento. As lagartas foram alimentadas com a mesma dieta de alimentação em tubos, proposta por HENSLEY & HAMMOND JR (1968), e modificada segundo descrito por VIEL (2009), desenvolvidas no mesmo local, sob condições controladas.

Os colmos foram cortados na medida de 13 cm de comprimento e perfurados anteriormente a liberação de *C. flavipes* na arena (Fig 3). As lagartas foram colocadas nas perfurações dos colmos (Fig 4), uma em cada perfuração, de acordo com o tratamento ao qual se referiam. Um colmo de cada vez foi colocado no interior da arena através da abertura da tampa removível.



Figura 3. Colmo de cana-de-açúcar sendo preparado para a utilização no experimento.

No caso dos tratamentos com os orifícios fechados, as lagartas foram colocadas no interior do orifício 12 horas antes da liberação do parasitoide no interior da arena.



Figura 4. Lagarta de *Diatraea saccharalis* sendo colocada no orifício aberto do colmo de cana-de-açúcar.

Os parasitoides foram retirados do copo de material produzido para liberação em campo e levados até a arena de testes com auxílio de uma pinça, aguardando que a fêmea ficasse sobre a parte posterior da pinça para não machucá-la. As fêmeas dos parasitoides foram colocadas na porção superior do colmo de cana (Fig 5) e no mesmo instante a arena de testes foi fechada. Após tampada, evitou-se movimentar a arena para não correr o risco de prensar o parasitoide entre o colmo de cana e a parede interna da arena.

A tampa não foi removida até o final de cada período de avaliação. Ao se concretizar o período de disponibilidade do hospedeiro, as tampas foram removidas das arenas com cuidado e os colmos contendo as lagartas foram retirados do seu interior e observados cuidadosamente para que o parasitoide utilizado na avaliação fosse encontrado e eliminado.

Na sequência os colmos foram rachados longitudinalmente (Fig 6), de forma muito cuidadosa, a fim de se extrair as lagartas parasitadas do interior dos mesmos.



Figura 5. Fêmea de *Cotesia flavipes* sendo colocada sobre o pedaço de colmo de cana-de-açúcar com auxílio de uma pinça.

As lagartas foram transferidas para recipientes plásticos de desenvolvimento (5 cm de diâmetro por 2,5 cm de altura) previamente identificados (Fig 7), contendo dieta artificial suficiente para o seu desenvolvimento até a formação de pupas de *D. saccharalis* e/ou massas de pupas de *C. flavipes*.

Após a formação dos casulos do parasitoide (massas) ocorreu a revisão do material, para a retirada das lagartas mortas e dos restos de dieta artificial; os recipientes de desenvolvimento foram mantidos em salas climatizadas, segundo descrição do item 2.1. e, após a emergência, os adultos foram contados e separados por sexo. Foram avaliados:

- i. Tempo de disponibilidade do hospedeiro;
- ii. Quantidade de lagartas parasitadas;
- iii. Fotofase;
- iv. Condição do orifício de entrada da lagarta (aberto ou fechado);

- v. Quantidade de adultos gerados por massa;
- vi. Razão sexual;
- vii. Eficiência de parasitismo e,
- viii. Porcentagem de emergência.



Figura 6. Colmo de cana-de-açúcar aberto longitudinalmente, para retirada de lagartas de *Diatraea saccharalis*.



Figura 7. Recipientes de desenvolvimento contendo dietas e lagartas parasitadas de *Diatraea saccharalis*, para obtenção das massas de pupas de *Cotesia flavipes*.

2.4. Análise dos dados

Para avaliar o efeito combinado do tempo de disponibilidade, fotofase, número de hospedeiros e condição do orifício de entrada de *C. flavipes* foi utilizado delineamento inteiramente casualizado. As interações foram analisadas usando o procedimento PROC GLM do SAS INSTITUTE (2002).

Verificou-se a hipótese de normalidade dos dados utilizando o teste de Kolmogorov e a homogeneidade da variância pelo teste de Bartlett. Para os dados de tempo de disponibilidade, densidade do hospedeiro e diferentes fotofases, foram realizadas as transformações necessárias e aplicada a análise de variância (ANOVA). As médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade, quando significativas pela ANOVA. Para os dados das condições do orifício foi aplicado o teste t de Studente a 5% de probabilidade. Todas as análises foram realizadas utilizando o software SAS INSTITUTE (2002).

Análises multivariadas foram utilizadas para avaliar os dados biológicos de *C. flavipes* submetidos à análise de agrupamento e a análise de componentes principais. As análises multivariadas foram utilizadas como exploratórias, o que não necessita investigar as pressuposições de independência e normalidade. Os métodos estatísticos multivariados aplicados visaram a classificação dos tratamentos em grupos. As análises multivariadas foram realizadas após a padronização das variáveis e, cada uma delas ficou com média 0 e variância 1.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. Índice de performance da qualidade (IPQ)

Para a realização dos cálculos envolvendo as análises de Componentes Principais e de Agrupamento houve a necessidade de se criar um índice para a classificação dos resultados, que indicou se o tratamento foi bom ou ruim e, os melhores resultados foram aqueles que obtiveram os maiores índices. Para a obtenção do índice de performance da qualidade foi criada a seguinte fórmula:

$$\text{IPQ} = (\text{LP}) / (\text{LD}) \times (\text{AE}) \times (\text{RS}) \times (\text{EA}).$$

Sendo:

IPQ = Índice de performance da qualidade;

LP = Número de lagartas parasitadas;

LD = Número de lagartas disponibilizadas para o parasitismo;

AE = Total de adultos emergidos;

RS = Razão sexual;

EA = Porcentagem de emergência de adultos.

3.2. Interações entre os fatores

O fator “disponibilidade de hospedeiros” (Disp.) não foi significativo apenas para a variável “adultos/massa”, demonstrou que não importa quanto tempo o hospedeiro esteja disponível para a fêmea de *C. flavipes* realizar o parasitismo, ou seja, isso não influenciou o número de adultos emergidos por massa (Tab 2). O fator “hospedeiros” (Hosp.) não foi significativo nas variáveis “adultos/massa” e “porcentagem de emergência”, demonstrou que não importa a quantidade de lagartas disponibilizadas ao parasitoide, isso não influenciará no número de adultos emergidos por massa e na porcentagem de emergência dos adultos. O fator “Condição do Orifício” (orif.) não foi significativo nas variáveis “Razão sexual” e “porcentagem de emergência”, mostrou que com o orifício de entrada da lagarta aberto ou fechado por ela própria, não influenciou na porcentagem de emergência de adultos e na razão dos mesmos. O fator “Fotofase” (foto.) foi significativo em todas as variáveis testadas, o que indicou ser um fator de grande importância para a avaliação da eficiência da qualidade de *C. flavipes*.

A única interação em que todas as variáveis foram significativas foi (Disp.) x (foto.) x (orif.), demonstrou que nos diferentes períodos de disponibilidade do hospedeiro ao parasitismo, o fotoperíodo e a condição do orifício também diferem. Da mesma forma, nos diferentes fotoperíodos, o tempo de disponibilidade do hospedeiro e a condição do orifício também diferem (Tab 2).

As interações (foto.) x (hosp.) x (orif.) e (Disp.) x (foto.) x (hosp.) x (orif.) não foram significativas para nenhuma das variáveis (Tab 2).

Tabela 2. Valores de F para o efeito do tempo de disponibilidade do hospedeiro, fotofase, número de hospedeiros parasitados e condição do orifício de entrada do parasitoide *Cotesia flavipes*.

Fatores	GL	Valores de F			
		Lagartas parasitadas	Adultos/massa	Razão sexual	Porcentagem emergência
Modelo	138	4,23 ^c	2,01 ^c	2,47 ^c	2,20 ^c
Disponibilidade	3	29,88 ^c	0,12 ^{ns}	18,43 ^c	10,90 ^c
Fotofase	4	3,76 ^a	3,80 ^a	8,18 ^c	6,94 ^c
Hospedeiros	4	29,10 ^c	0,49 ^{ns}	2,74 ^a	2,08 ^{ns}
Orifício	1	28,21 ^c	51,70 ^c	0,87 ^{ns}	1,33 ^{ns}
Disp. x foto.	6	12,50 ^c	2,01 ^{ns}	4,58 ^c	3,67 ^b
Disp. x hosp.	12	3,71 ^c	1,55 ^{ns}	0,57 ^{ns}	3,26 ^c
Disp. x orif.	3	8,76 ^c	3,31 ^a	16,26 ^c	2,48 ^{ns}
Foto. x hosp.	16	1,00 ^{ns}	0,58 ^{ns}	1,24 ^{ns}	1,27 ^{ns}
Foto x orif.	4	5,36 ^c	2,07 ^{ns}	0,60 ^{ns}	2,73 ^a
Hosp. x orif.	4	2,52 ^a	1,50 ^{ns}	0,73 ^{ns}	1,34 ^{ns}
Disp. x foto. x hosp.	24	1,63 ^a	1,75 ^a	1,73 ^a	1,47 ^{ns}
Disp. x foto. x orif.	6	3,56 ^b	4,35 ^c	3,37 ^b	4,38 ^c
Disp. x hosp. x orif.	12	2,08 ^a	2,05 ^a	1,98 ^a	1,57 ^{ns}
Foto. x hosp. x orif.	16	1,60 ^{ns}	1,13 ^{ns}	1,20 ^{ns}	1,40 ^{ns}
Disp. x foto. x hosp. x orif.	23	1,31 ^{ns}	1,43 ^{ns}	1,21 ^{ns}	1,11 ^{ns}

^aP<0,05; ^bP<0,01; ^cP<0,001; ^{ns} não significativo (P>0,05).

Os diferentes tempos de disponibilidade de hospedeiro testados no interior da arena demonstraram diferenças significativas entre as variáveis (Tab 3).

A porcentagem de parasitismo de *C. flavipes* foi maior a 18 e 24 horas de disponibilidade do hospedeiro, comparada a 6 e 12 horas. Para a variável “número de adultos por massa” não houve diferença significativa entre as horas de disponibilidade de hospedeiro. A razão sexual diferiu apenas para 18 horas de disponibilidade, que registrou as menores porcentagens de fêmeas por massa. Quanto a porcentagem de emergência de adultos, 6 horas de disponibilidade de hospedeiro foi o período com os melhores índices, diferindo significativamente de 18 e 24 horas (Tab 3). Baseado nesses resultados, 6 horas demonstrou os melhores resultados gerais para o tempo de disponibilidade.

Tabela 3. Parasitismo de *Cotesia flavipes* em lagartas de *Diatraea saccharalis* submetidos a diferentes tempos de disponibilidade em arena para teste de qualidade.

Características	Tempo de disponibilidade (horas)			
	6	12	18	24
(%) parasitismo	45,8 ± 2,33 bc	44,4 ± 1,75 c	53,6 ± 1,51 a	51,1 ± 1,49 ab
Adultos/massa	51,7 ± 2,66 a	50,1 ± 2,31 a	50 ± 1,95 a	50,1 ± 1,62 a
Razão sexual	0,57 ± 0,03 a	0,60 ± 0,02 a	0,42 ± 0,02 b	0,54 ± 0,02 a
(%) emergência	88,8 ± 0,01 a	84,3 ± 0,01 ab	76,7 ± 0,02 c	79,7 ± 0,01 bc

Médias ± EP seguidas de letras diferentes na linha, indicam significância pelo teste de Tukey (P<0,05)

A tabela 4 apresenta as análises dos fotoperíodos, onde podem ser observadas algumas diferenças significativas entre as variáveis.

Tabela 4. Parasitismo de *Cotesia flavipes* em lagartas de *Diatraea saccharalis* submetidos a diferentes fotofases em arena para teste de qualidade.

Características	Fotofase (horas de luz)				
	0	6	12	18	24
(%) parasitismo	48,3 ± 1,51 a	47,9 ± 1,68 a	54,1 ± 1,82 a	46,2 ± 2,16 a	54,8 ± 3,53 a
Adultos/massa	54,9 ± 1,84 a	50,8 ± 2,10 ab	48,2 ± 2,04 ab	45,6 ± 2,69 ab	43,8 ± 3,67 b
Razão sexual	0,52 ± 0,02 a	0,59 ± 0,02 a	0,54 ± 0,02 a	0,36 ± 0,03 b	0,55 ± 0,04 a
(%) emergência	85,3 ± 0,01 a	82,6 ± 0,01 a	80,8 ± 0,01 ab	73,2 ± 0,03 bc	70,1 ± 0,03 c

Médias ± EP seguidas de letras diferentes na linha, indicam significância pelo teste de Tukey (P<0,05)

A porcentagem de parasitismo de *C. flavipes* foi maior em uma fotofase de 12 e de 24 horas, apesar de não ter ocorrido diferença significativa entre as características analisadas. Contudo, observou-se que, quanto maior a fotofase, menor o número de adultos por massa. Para a razão sexual, apenas o tratamento com fotofase de 18 horas diferiu significativamente das demais fotofases, onde foram registradas as menores quantidades de fêmeas por massa. A porcentagem de emergência, também foi maior nos menores períodos de luz, a 0 e 6 horas (Tab 4).

No geral, as menores fotofases demonstraram os melhores resultados.

As diferentes densidades de lagartas de *D. saccharalis* não mostraram diferenças significativas entre as variáveis: adultos emergidos por massa; razão sexual e porcentagem de emergência. Observou-se diferença significativa para porcentagem de parasitismo, evidenciando-se que, quanto maior o número de lagartas disponíveis,

menor a porcentagem de parasitismo (Tab 5). Desta forma, 1 lagarta por arena demonstrou ser o número mais adequado para uso nas avaliações de eficiência de qualidade de *C. flavipes*.

Tabela 5. Parasitismo de *Cotesia flavipes* em lagartas de *Diatraea saccharalis* submetidos a diferentes densidades do hospedeiro em arena para teste de qualidade.

Características	Densidades de lagartas				
	1	2	3	4	5
(%) parasitismo	100 ± 0,00 a	55,3 ± 1,02 b	42,0 ± 1,05 c	30,9 ± 0,85 d	28,0 ± 0,91 d
Adultos/massa	50,9 ± 2,23 a	48,9 ± 2,32 a	51,9 ± 2,28 a	48,3 ± 2,02 a	51,5 ± 2,52 a
Razão sexual	0,49 ± 0,02 a	0,48 ± 0,02 a	0,52 ± 0,02 a	0,54 ± 0,02 a	0,57 ± 0,02 a
(%) emergência	83,8 ± 0,02 a	78,3 ± 0,02 a	83,4 ± 0,01 a	80,3 ± 0,02 a	79,4 ± 0,02 a

Médias ± EP seguidas de letras diferentes na linha, indicam significância pelo teste de Tukey (P<0,05)

Quanto as condições do orifício de entrada da lagarta (Tab 6), as variáveis: porcentagem de parasitismo, adultos emergidos por massa e porcentagem de emergência de adultos apresentaram melhores índices para os orifícios de entrada da lagarta fechados. As variáveis “razão sexual” e “porcentagem de emergência” não diferiram significativamente tanto para os orifícios aberto quanto fechados. Assim, de forma geral, os melhores resultados foram obtidos com o uso de orifícios de entrada das lagartas fechados.

Tabela 6. Parasitismo de *Cotesia flavipes* em *Diatraea saccharalis* submetidos a duas condições do orifício de entrada da lagarta, em arena para teste de qualidade.

Características	Condições do orifício	
	Aberto	Fechado
(%) parasitismo	45,9 ± 1,21	53,0 ± 1,19*
Adultos/massa	43,0 ± 1,45	56,6 ± 1,37*
Razão sexual	0,54 ± 0,01	0,51 ± 0,01
(%) emergência	80,1 ± 0,01	81,7 ± 0,01

Médias ± EP; * indica diferença significativa na linha, pelo teste t (P<0,05)

3.3. Análise de Agrupamentos

O Dendrograma (Fig 8) mostra dois grandes grupos que foram separados pela análise de agrupamento. O grupo 1 possui apenas os tratamentos que tiveram o Índice

de Performance da Qualidade (IPQ) abaixo de 10, e o grupo 2, aqueles com IPQs mais elevados, mas, com alguns subgrupos com IPQs inferiores a 10 (Fig 9). Dentro do grupo 2 foram selecionados dois subgrupos que possuem IPQs mais elevados, e que demonstraram possuir propriedades específicas.

No primeiro subgrupo foram selecionados 5 tratamentos (24H-0L-1T-F_IPQ22; 24H-12L-1T-F_IPQ22; 18H-12L-2T-F_IPQ15; 18H-6L-3T-F_IPQ15; e 12H-0L-1T-F_IPQ26) e no segundo subgrupo 6 tratamentos (24H-6L-1T-F_IPQ17; 18H-6L-1T-A_IPQ16; 12H-6L-1T-F_IPQ17; 12H-12L-1T-A_IPQ12; 18H-12L-1T-F_IPQ17; e 6H-0L-1T-F_IPQ23), todos eles com Índices de Performance da Qualidade superiores a 12 (Fig 10).

Quanto às condições do orifício no pedaço de colmo de cana para a entrada da lagarta, no primeiro subgrupo foram selecionados apenas tratamentos que possuíam a abertura fechada pela própria lagarta (F), pode ser que haja maior facilidade do parasitoide encontrar a lagarta quando ela fecha o orifício do colmo com substâncias como restos da sua alimentação ou seu próprio excremento.

GODFRAY (1994) observou que os parasitoides utilizam várias “pistas” para encontrar seus hospedeiros, que podem ser de origens químicas, tácteis e visuais, além de outros atrativos e estímulos produzidos quando o hospedeiro se alimenta ou libera seus excrementos. Sinais químicos e físicos de atração para acasalamento ou para agregação podem ser liberados pelo hospedeiro e facilmente utilizados pelos parasitoides como pistas a serem seguidas.

LEERDAM et al., (1986) relataram que existem substâncias hidrossolúveis presente nas fezes secas ou reidratadas de lagartas de *D. saccharalis* que são responsáveis pela sua localização pelo parasitoide e que o contato do parasitoide com as fezes do hospedeiro induz o comportamento de procura, caracterizado por redução no ritmo de locomoção e tateamento das fezes com as antenas, porém, não citaram quais eram tais substâncias responsáveis pela localização do hospedeiro.

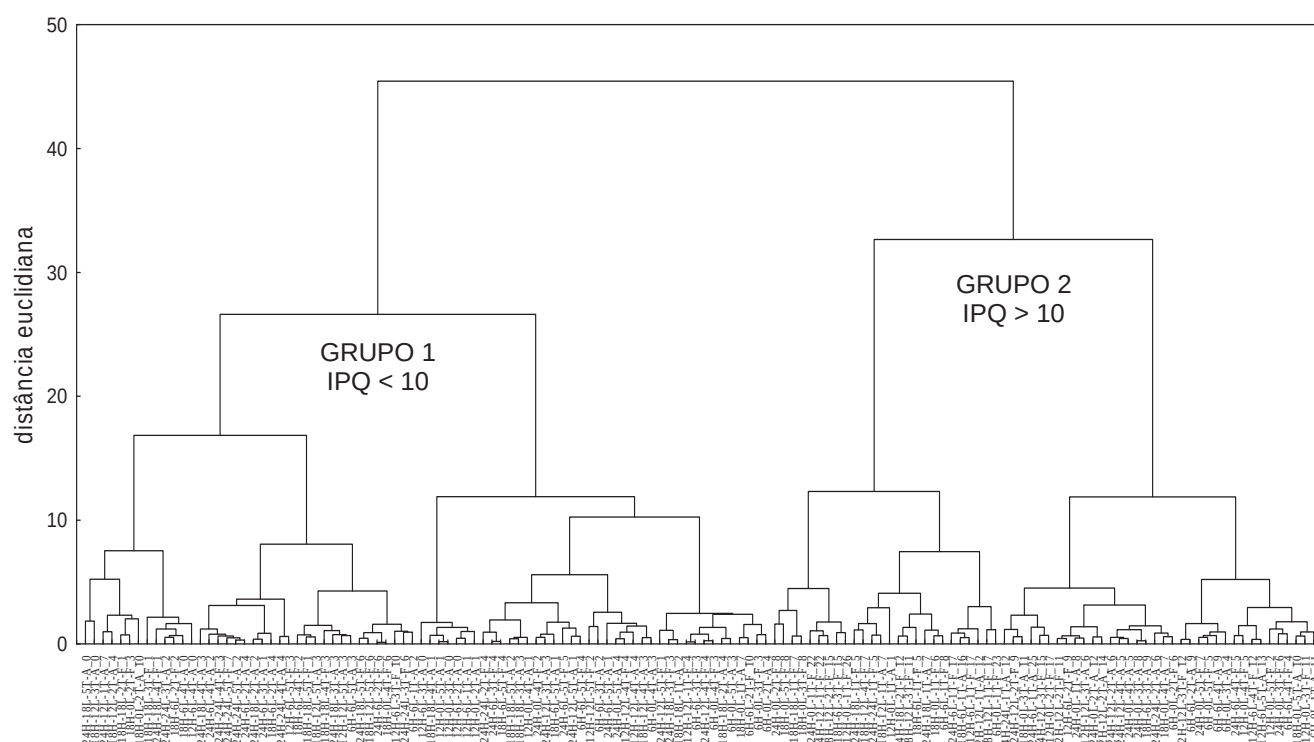


Figura 8. Dendrograma completo resultante da análise de agrupamento mostrando a formação de grupos das diferentes condições em que *Cotesia flavipes* foi submetida para o parasitismo de *Diatraea saccharalis*.

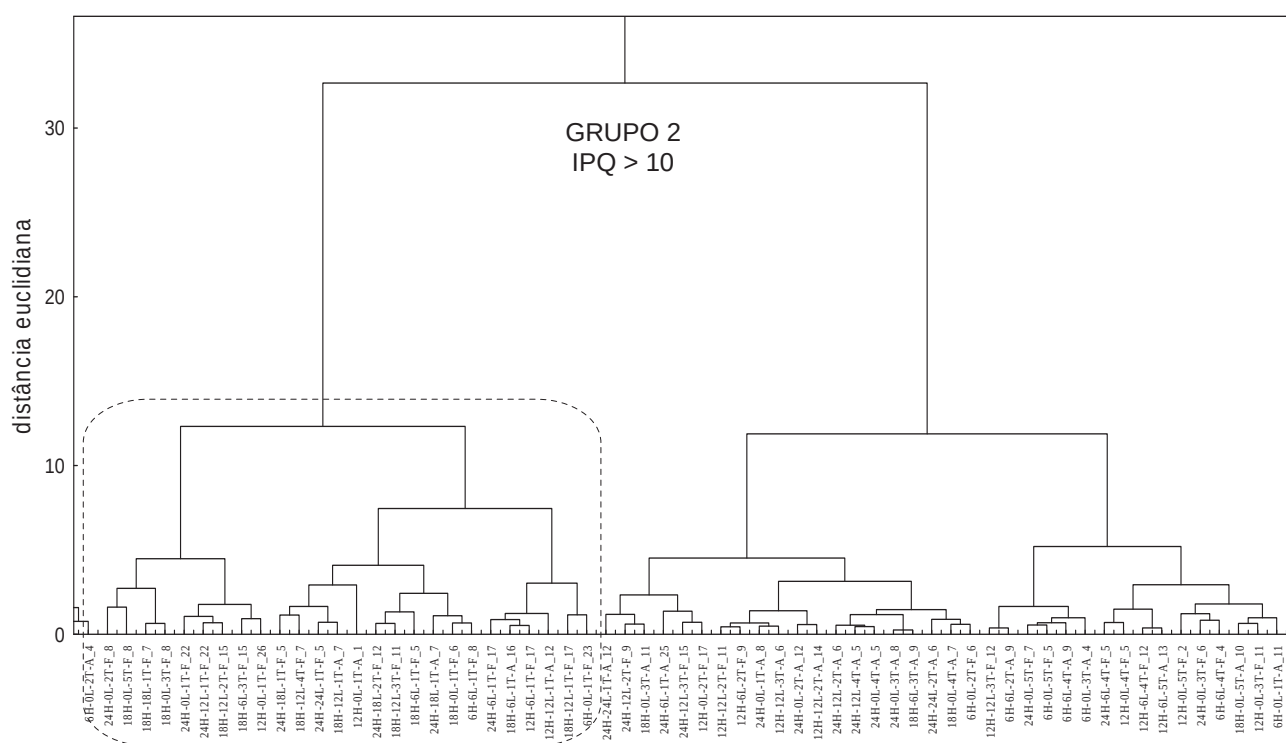


Figura 9. Dendrograma resultante da análise de agrupamento mostrando a ampliação do grupo 2.

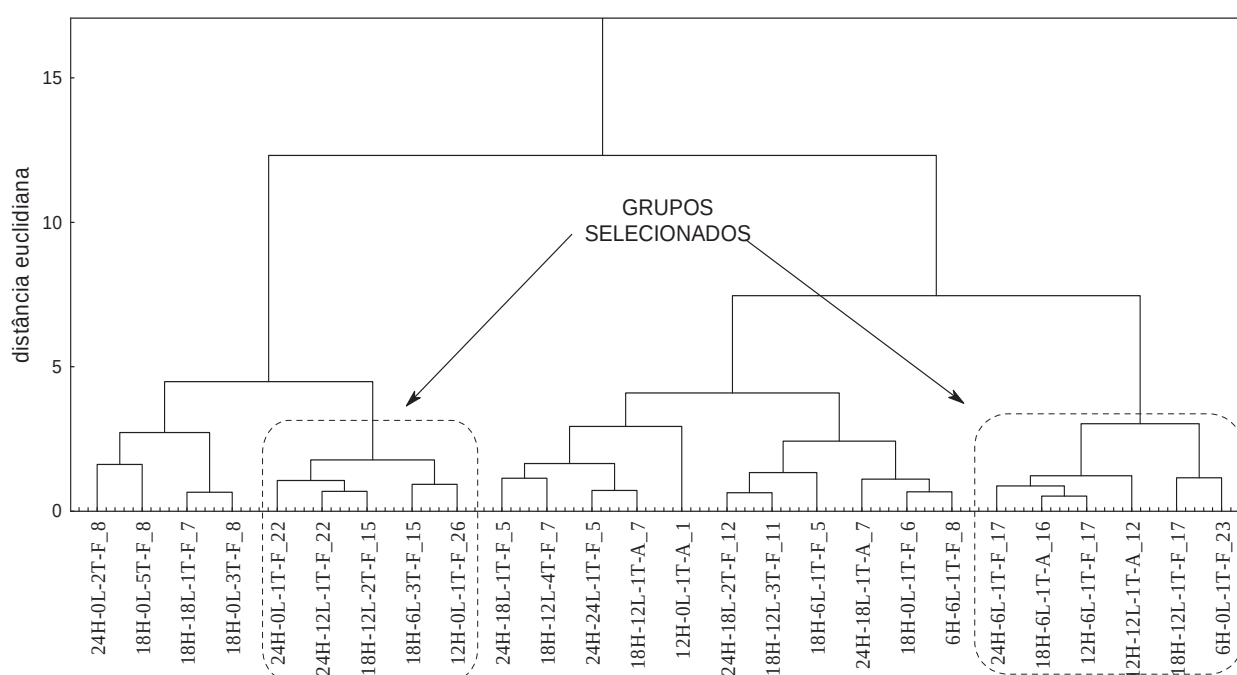


Figura 10. Dendrograma evidenciando os 11 melhores tratamentos, resultantes da análise de agrupamento das diferentes condições em que *Cotesia flavipes* foi submetida para o parasitismo.

No segundo subgrupo foram selecionados apenas dois tratamentos com o orifício de entrada da lagarta aberto (A), que tiveram disponibilidade do hospedeiro ao parasitoide por, no mínimo, 12 e 18 horas; naqueles tratamentos houve tempo suficiente para a lagarta fechar a abertura do orifício durante o período de disponibilidade e, ainda assim, foram registrados baixos IPQs (12 e 16) quando comparados com os outros tratamentos desse subgrupo.

Quanto ao número de lagartas de *D. saccharalis* disponibilizadas para a realização do parasitismo de *C. flavipes*, no subgrupo 1 três, dos cinco tratamentos selecionados possuíam apenas uma lagarta por arena e, os outros dois, (2T e 3T) duas e três lagartas, respectivamente. Para estes tratamentos (2T e 3T), existe a possibilidade da produção de excrementos, utilizada pela lagarta para fechar o orifício de entrada, ter ocorrido em diferentes pontos do tolete de cana, o que pode ter afetado a eficiência de busca e localização do hospedeiro pelo parasitoide. O que reforça essa observação é o fato do subgrupo 2 ter sido selecionado apenas com tratamentos que possuem uma única lagarta por arena (1T).

Para às diferentes fotofases, nos dois subgrupos selecionados, o período de luz foi sempre menor do que 12 horas (12L). Em todos os tratamentos o parasitoide necessitou de, no mínimo, 6 horas de escuro para realizar o parasitismo, exceto o tratamento 12H-12L-1T-F_IPQ12, que também foi o menor IPQ selecionado (12) entre os dois subgrupos. Parece haver maior efetividade do parasitoide durante o período de escuro, pois os maiores IPQs foram obtidos com zero(26), seis(23) e 24(22) horas de luz.

Quanto às diferentes horas de disponibilidade do hospedeiro, os tratamentos selecionados representaram as quatro condições (6H, 12H, 18H e 24H). Os maiores índices parecem estar relacionados às condições de fotofase, quantidade de lagartas por arena e condição do orifício de entrada da lagarta. Porém, como a disponibilidade foi de no mínimo 6 horas e para esse caso a combinação foi zero (0) hora luz, tal fato permitiu sempre um período de, no mínimo, 6 horas de fase escura, para todos os tratamentos selecionados.

Dentre os 11 tratamentos selecionados nos dois subgrupos, os três que obtiveram os melhores IPQs (26, 23 e 22) possuem três condições iguais, das quatro testadas (0L-1T-F), zero horas de fotofase, uma lagarta por arena, e a condição do orifício de entrada da lagarta fechado. Os três melhores tratamentos diferenciam-se apenas pelas horas de disponibilidade do hospedeiro (12H, 6H e 24H), respectivamente.

Para que haja uma validação dos resultados encontrados neste trabalho, é proposto que se realizem testes com os 11 tratamentos selecionados envolvendo material biológico de diferentes laboratórios de criação massal de *C. flavipes*, a fim de se explorar os resultados e determinar um teste que seja mais adequado para comparar os IPQs de diferentes lotes de produção do mesmo laboratório ou de material biológico de diferentes laboratórios.

3.4. Análise de Componentes Principais

A análise de componentes principais (Fig 11) confirmou os resultados da análise de agrupamento, indicou que os mesmos 11 tratamentos selecionados pela análise de agrupamento ficaram na periferia ou próximo dela, na análise de componentes principais e mostrou que eles possuem propriedades específicas. Os dois componentes principais juntos possibilitaram uma ordenação bidimensional dos acessos (componente principal 1 x componente principal 2) e das variáveis, o que permitiu a construção de um gráfico biplot (Fig 11). A quantidade de informação total das variáveis originais, retida pelos dois componentes principais, foi de: 70,27% (27,40% da componente principal 1 + 42,87% da componente principal 2).

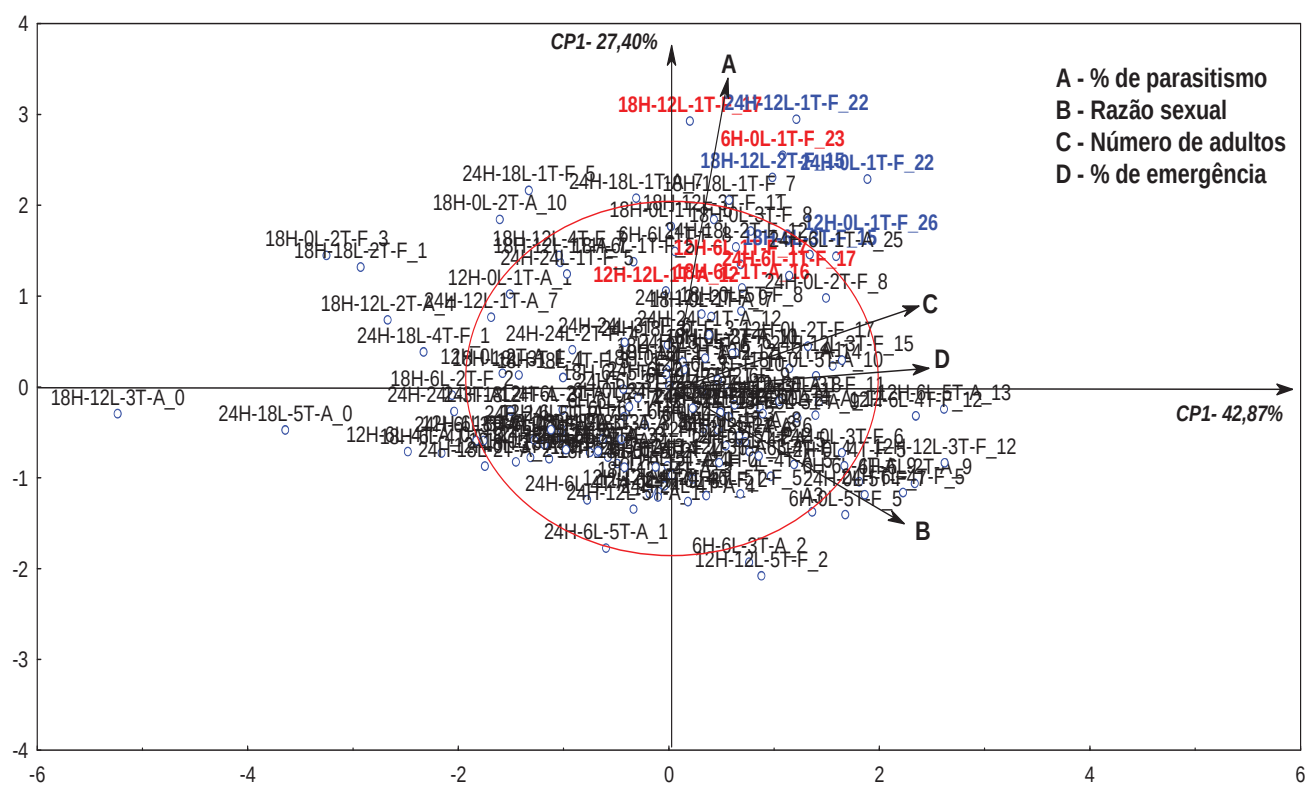


Figura 11. Gráfico biplot das diferentes condições em que *Cotesia flavipes* foi submetida para o parasitismo.

A representação gráfica e a correlação das variáveis nos componentes principais permitiram caracterizar as variáveis que mais discriminaram a formação do grupo. A variável com maior peso foi “porcentagem de parasitismo” (0,92), seguida de “razão sexual” (-0,39), “número de adultos” (0,28) e “porcentagem de emergência” (-0,08) (Fig 11). Assim, os tratamentos agrupados são caracterizados por possuírem maior porcentagem de parasitismo, seguido das demais variáveis que tiveram menor peso.

4. CONCLUSÕES

O Índice de Performance da Qualidade (IPQ) pode ser usado como comparativo de eficiência de *C. flavipes* na busca de seu hospedeiro *D. saccharalis*.

Propomos o uso do tratamento seis horas de disponibilidade, zero hora de luz, uma lagarta por arena e o tolete com o orifício fechado, como protocolo da qualidade do parasitoide *C. flavipes*.

5. REFERÊNCIAS

ALMEIDA, L.C.; ARRIGONI, E.B.; PRECETTI, A.A.C.M. Dez anos de controle biológico da broca da cana-de-açúcar, *Diatraea saccharalis*. In: SEMINÁRIO DE TECNOLOGIA AGRONÔMICA, 7., 1991, Piracicaba. **Anais...** Piracicaba: COPERSUCAR, 1991. p.95-104.

ALMEIDA, L.C.; CARPANEZZI, A.; RODRIGUES, J.C.S. Método alternativo de levantamento de intensidade de infestação final pela broca. In: SEMINÁRIO DE TECNOLOGIA AGRONÔMICA, 4., 1988, Piracicaba. **Anais...** Piracicaba: COPERSUCAR, 1988. p.641-646.

ALMEIDA, L.C.; STINGEL, E.; ARRIGONI, E.B. **Monitoramento e controle de pragas da cana-de-açúcar**. Piracicaba: Centro de Tecnologia Canavieira, 2008. 35p. Apostila.

ARAÚJO, J.R. **Guia prático para criação da broca da cana-de-açúcar e de seus parasitoides em laboratório**. Piracicaba: IAA/PLANALSUCAR, 36p.1987.

BENNETT, F.D. A comparison of the reproductive strategies and certain other biological characteristics of *Apanteles* spp. and tachinid parasites of *Diatraea saccharalis* (Fabr.). In: INTERNATIONAL SOCIETY OF SUGAR CANE TECHNOLOGISTS, 16., 1977, São Paulo. **Proceedings...** p.523-527.

BOTELHO, P.S.M. Quinze anos de controle biológico da *Diatraea saccharalis* utilizando parasitoides. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.27, p.255-262, 1992.

BOTELHO, P.S.M.; DEGASPARI, N.; MACEDO, N.; ALMEIDA, L.C.; ARAÚJO, J.R.; ARAÚJO, S.M.S.S. Control of *Diatraea saccharalis* (Fabr., 1794) with *Apanteles flavipes* (Cam., 1891). In: INTERNATIONAL SOCIETY OF SUGAR CANE TECHNOLOGISTS, 18., 1983, Havana. **Proceedings...** p. 731-746.

CHAMBERS, D.L. Quality control in mass rearing. **Annual Review of Entomology**, Stanford, v.22, p.289-308, 1977.

COPERSUCAR. Manejo integrado da broca da cana-de-açúcar nas unidades cooperadas. **Caderno Copersucar**, Piracicaba, v.6, p.1-7, 1984.

DE BORTOLI, S.A.; VIANA, C.L.T.P. A Base. In: De BORTOLI, S.A. (Ed.). **Criação de Insetos: da base à biofábrica**. Jaboticabal, 2009. p.12-56.

GALLO, D.; NAKANO, O.; SILVEIRA NETO, S.; CARVALHO, R.P.L.; BATISTA, G.C. DE; BERTI FILHO, E.; PARRA, J.R.P.; ZUCCHI, R.A.; ALVES, S.B.; VENDRAMIM, J.D.; MARCHINI, L.C.; LOPES, J.R.S.; OMOTO, C. **Entomologia agrícola**. Piracicaba: FEALQ, 920p. 2002.

GODFRAY, H.C.J. **Parasitoids, behavioral and evolutionary ecology**. Princeton: Princeton University Press, 1994. 473p.

HENSLEY, S.D.; HAMMOND, JR., A.H. Laboratory techniques for rearing the sugarcane borer on an artificial diet. **Journal of Economic Entomologic**, Geneva, v.61, p.1742-1743, 1968.

HIVIZI, C.L.; BUENO, V.H.P.; SILVA, A.C.; CARVALHO, L.M. Controle de qualidade do parasitoide *C. flavipes*. In: BUENO, V.H.P.(Ed.). **Controle biológico de pragas: produção massal e controle de qualidade**. 2.ed. Lavras: Editora UFLA, 2009. 429p.

LEERDAM, M.B.VAN.; SMITH, J.W.; FUNCHS, T.W. Frass mediated, host finding behavior of *C. flavipes* a braconid parasite of *D. saccharalis* (Lepidoptera: Pyralidae). **Annals of the Entomological Society of America**, Piracicaba, v. 78, p.647-650, 1986.

LEENTEREN, J.C. van. Controle de qualidade de agentes de controle biológico produzidos massalmente. In: BUENO, V.H.P. (Ed.). **Controle biológico de pragas: produção massal e controle de qualidade**. 2.ed. Lavras: Editora UFLA, 2009a. p.311-337.

LEENTEREN, J.C. van. Testes para o controle de qualidade de agentes de controle biológico comercializados. In: BUENO, V.H.P. (Ed.). **Controle biológico de pragas: produção massal e controle de qualidade**. 2.ed. Lavras: Editora UFLA, 2009b. p.339-370.

LEENTEREN, J.C. van; HALE, A.; KLAPWIJK, J.N.; SCHELT, J. van; STEINBERG, S. Guidelines for quality control of commercially produced natural enemies. In: LEENTEREN, J. C. van (Ed.). **Quality control and production of biological control agents: theory and testing procedures**. Wallingford: CABI, 2003. p.265-303.

LIMA FILHO, M. **Quantificação de *Apanteles flavipes* (Cameron, 1891) em cana-de-açúcar para controle de *Diatraea* spp.** 1989. 107f. Dissertação (Mestrado em

Entomologia) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1989.

MACEDO, N.; BOTELHO, P.S.M. Controle integrado da broca da cana-de-açúcar *Diatraea saccharalis* (Fabr., 1794) (Lepidoptera, Pyralidae). **Brasil Açucareiro**, Rio de Janeiro, v.106, n.2, p.2-14, 1988.

MENDONÇA, A.F. **Pragas da cana-de-açúcar**. Maceió : Insetos & Cia, 200p. 1996.

PLANALSUCAR. **Guia das principais pragas da cana-de-açúcar no Brasil**. Piracicaba, 1982. 28p.

PREZOTTI, L.; PARRA, J.R.P. Controle de qualidade em criações massais de parasitoides e predadores. In: PARRA, J.R.P.; BOTELHO, P.S.M.; CORRÊA-FERREIRA, B.S.; BENTO, J.M.S. **Controle biológico no Brasil: parasitoides e predadores**. São Paulo: Manole, 2002. p.295-311.

SANGUINO, A. Recomendações de assepsia em laboratórios de criação de inimigos naturais da broca da cana-de-açúcar: Pragas da cana-de-açúcar. In: REUNIÃO TÉCNICA AGRONÔMICA COPERSUCAR, 1983, São Paulo: COPERSUCAR, 1983. p.56-58.

SAS INSTITUTE. **SAS/STAT User`s Guide, version 9.00 TS level 2MO**, Cary, 2002.

TERAN, F.O.; PRECETTI, A.A.C.M.; SANCHES, A.G. Importância econômica, aspectos bioecológicos e manejo populacional da broca da cana-de-açúcar, *Diatraea saccharalis*. In: SEMINARIO DE TECNOLOGIA AGRONÔMICA, 3., 1986, Piracicaba. **Anais...** Piracicaba: COPERSUCAR, 1986. p.153-167.

VIEL, S.R. Criação de *Diatraea saccharalis* e *Cotesia flavipes*. In: De BORTOLI, S.A. (Ed.). **Criação de Insetos: da base à biofábrica**. Jaboticabal, 2009. p.76-140.

VIEL, S.R.; ALMEIDA, L.C.; CARVALHO, J.S. Histórico do controle biológico da *Diatraea saccharalis* (Fabr., 1794) (Lep.: Crambidae) utilizando *Cotesia flavipes* (Cam., 1891) (Hym.: Braconidae), na Louis Dreyfus Commodities Bioenergia S.A, Jaboticabal, SP. In: CONGRESSO DE ECOLOGIA DO BRASIL, 8., 2007, Caxambú. **Resumo...** Caxambú, SEB, 2007.

CAPÍTULO 4 – IMPLICAÇÕES

Quanto a disponibilização de dietas aos adultos, os laboratórios de produção massal de *C. flavipes* poderão obter um acréscimo na porcentagem de emergência de adultos por massa de pupas utilizando dietas a base de sacarose ou mel com a adição de lêvedo de cerveja, o que obviamente trará um benefício tanto para quem comercializa os parasitoides como para quem os libera em campo, devido a maior possibilidade de eficácia do controle. Para os laboratórios que tem problemas com a manutenção do material de matrizes para a continuidade da produção diária, poderá utilizar de uma dieta contendo sacarose ou mel sem a adição de lêvedo de cerveja, essa dieta promove um incremento na longevidade dos parasitoides, o que permitirá o uso dos adultos na linha produtiva de quatro dias, ao invés de três dias em média, nos casos em que a dieta não é utilizada.

Para as liberações de *C. flavipes* em campo, as dietas podem ser aplicadas nas tampas dos copos dos adultos que serão liberados, no dia anterior a liberação, quando alimentados permanecerão mais tempo em campo, promovendo a busca pelo hospedeiro e, por consequência, com possibilidade de aumentar o índice de parasitismo.

O índice proposto para a avaliação da eficiência do parasitoide na busca pelo seu hospedeiro possibilitará, às usinas de cana-de-açúcar e/ou produtores rurais, a avaliação da qualidade do material comercializado pelos diferentes laboratórios de criação massal de *C. flavipes*, antes mesmo da aquisição de lotes para liberação em campo, por meio de uma metodologia fácil e de baixo custo. Em contra-partida, os próprios laboratórios de produção massal terão uma ferramenta simples e barata para realizar o controle de qualidade interno de suas produções, selecionando materiais biológicos mais viáveis para a continuidade da produção, e até mesmo, no momento da venda de seu produto, poderão mencionar que o material produzido por seu laboratório passou por um controle de qualidade

segundo essa metodologia e adotar o Índice de Performance da Qualidade (IPQ), o qual pode servir como comparativo entre os laboratórios.

Algumas melhorias ainda podem ser realizadas para a validação dessa metodologia de avaliação (IPQ), como a sua repetição em material biológico proveniente de laboratórios diferentes, utilizando os principais tratamentos que foram selecionados pela análise de agrupamento. Trata-se de uma ferramenta valiosa e providencial para se resolver uma questão já a muito discutida no setor sucroalcooleiro.