

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP
CAMPUS DE JABOTICABAL**

**EFEITO DA ENDOGAMIA EM *Cotesia flavipes* (CAMERON,
1891) (HYMENOPTERA: BRACONIDAE) CRIADA EM *Diatraea
saccharalis* (FABRICIUS, 1794) (LEPIDOPTERA CRAMBIDAE)
AO LONGO DE GERAÇÕES**

**Maíra Trevisan
Bióloga**

2014

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP
CAMPUS DE JABOTICABAL**

**EFEITO DA ENDOGAMIA EM *Cotesia flavipes* (CAMERON,
1891) (HYMENOPTERA: BRACONIDAE) CRIADA EM *Diatraea
saccharalis* (FABRICIUS, 1794) (LEPIDOPTERA CRAMBIDAE)
AO LONGO DE GERAÇÕES**

Maíra Trevisan

Orientador: Prof. Dr. Sergio Antonio De Bortoli

Co-orientadora: Dra. Alessandra Marieli Vacari

**Dissertação apresentada a Faculdade de Ciências
Agrárias e Veterinárias – Unesp, Campus de
Jaboticabal, como parte das exigências para a
obtenção do título de Mestre em Agronomia
(Entomologia Agrícola)**

2014

Trevisan, Máira
T814e Efeito da endogamia em *Cotesia flavipes* (Cameron, 1891)
(Hymenoptera: Braconidae) criada em *Diatraea saccharalis* (Fabricius,
1794) (Lepdoptera: Crambidae) ao longo de gerações / Máira
Trevisan. – – Jaboticabal, 2014
vi, 72 f. : il. ; 29 cm

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista,
Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 2014
Orientador: Sergio Antonio De Bortoli
Co-orientadora: Alessandra Marieli Vacari
Banca examinadora: Adriana Coletto Morales Corrêa e Castro, Ana
Eugênia de Carvalho Campos
Bibliografia

1. Cana-de-açúcar. 2. Controle biológico. 3. Controle de qualidade.
4. Criação massal. 5. Broca da cana. I. Título. II. Jaboticabal-
Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias.

CDU 595.7:633.61

Ficha catalográfica elaborada pela Seção Técnica de Aquisição e Tratamento da Informação –
Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação - UNESP, Câmpus de Jaboticabal.



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

CAMPUS DE JABOTICABAL

FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS DE JABOTICABAL

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO: EFEITO DA ENDOGAMIA EM *Cotesia flavipes* (CAMERON, 1891) (HYMENOPTERA: BRACONIDAE) CRIADA EM *Diatraea saccharalis* (FABRICIUS, 1794) (LEPIDOPTERA CRAMBIDAE) AO LONGO DE GERAÇÕES

AUTORA: MAÍRA TREVISAN

ORIENTADOR: Prof. Dr. SERGIO ANTONIO DE BORTOLI

CO-ORIENTADORA: Profa. Dra. ALESSANDRA MARIELI VACARI

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

Prof. Dr. SERGIO ANTONIO DE BORTOLI

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

Profa. Dra. ADRIANA COLETTO MORALES CORRÊA E CASTRO

Departamento de Biologia Aplicada À Agropecuária / Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal

Profa. Dra. ANA EUGENIA DE CARVALHO CAMPOS

Instituto Biológico de São Paulo / São Paulo/SP

Data da realização: 07 de julho de 2014.

DADOS CURRICULARES DA AUTORA

MAÍRA TREVISAN – Nascida em 21 de fevereiro de 1985, na cidade de São José dos Campos, São Paulo, Brasil. É Bióloga graduada pela Universidade de Taubaté - UNITAU /Taubaté – SP, em dezembro de 2010. As atividades de pesquisa em controle biológico iniciaram-se com estágio no Laboratório de Entomologia Agrícola da UNITAU, onde desenvolveu seu trabalho de conclusão de curso com taxonomia de himenópteros parasitoides de moscas-das-frutas. Em março de 2012 iniciou o curso de Mestrado em Agronomia (Entomologia Agrícola), sendo bolsista do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) no período de março de 2012 a fevereiro de 2014. Desde o período de iniciação científica participou da organização do Programa de Extensão Natureza & Criança, do Depto. de Agronomia da UNITAU, de 2009 a 2011; realizou treinamento em taxonomia de himenópteros parasitoides no Centro Experimental Central do Instituto Biológico de São Paulo; participou do grupo de apoio do VI Curso de Inverno em Entomologia Agrícola; foi palestrante do mini-curso Criação de *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794) (Lepidoptera: Crambidae) e do parasitoide *Cotesia flavipes* (Cameron, 1891) (Hymenoptera: Braconidae) no VII Curso de Inverno em Entomologia Agrícola; publicou como autora/co-autora 16 (dezesesseis) resumos simples em anais de eventos científicos, tendo participado de 05 (cinco) congressos, simpósios e similares nacionais e 01 (um) internacional.

“Um passo a frente e você não estão mais no mesmo lugar”

Chico Science

Aos meus amados pais, Ivan e Marilena, por todo incentivo, carinho e preocupação durante toda a vida! E por todo o apoio, mesmo quando não concordavam com minhas escolhas. É por eles que sou quem sou hoje, do que me orgulho muito!

Ao Renato, meu querido irmão, pelas eternas lembranças da infância, que sempre rendem muitas alegrias e saudades daqueles tempos!

À minha avó, Mercedes, por todo carinho e cuidado de “Segunda Mãe”.

Ao Guilherme, por tornar tudo mais fácil durante as conversas sem fim, as inúmeras risadas, por todo apoio e amor!

DEDICO

AGRADECIMENTOS

A Deus, que cuida do meu caminho.

À Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Campus de Jaboticabal, e ao Departamento de Fitossanidade pela oportunidade de realização do curso de pós-graduação em Entomologia Agrícola.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela concessão da bolsa de estudos.

Aos meus orientadores Prof. Dr. Sergio Antonio De Bortoli e Dra. Alessandra Marieli Vacari pela oportunidade, ensinamentos, ajuda e paciência.

Ao Laboratório de Entomologia da Usina São Martinho, Pradópolis-SP, pela concessão do material biológico necessário para os experimentos.

Aos Professores, Dr. Nelson Wanderley Peroto e Dra. Adriana Coletto Morales, pelos conselhos e sugestões durante o decorrer do trabalho.

Aos colegas do LBCI (Claudio Antonio Salas Figueroa, Dagmara Gomes Ramalho, Vanessa Fabíola Pereira de Carvalho, Natália Fernanda Vieira, Wanderley Dibelli, Gustavo Oliveira de Magalhães, Rogério Teixeira Duarte, Tiago Trevisoli Agostini, Caroline Placidi De Bortoli e Rafael Ferreira dos Santos) pelo apoio, amizade e ajuda durante a realização dos experimentos. Em especial aos amigos Valéria Lucas de Laurentis, Haroldo Xavier Linhares Volpe, Lucas Trevisoli Agostini e Ana Carolina Pires Veiga pela amizade e companheirismo.

Aos professores e funcionários do Departamento de Fitossanidade, pela convivência e auxílio sempre que necessário.

SUMÁRIO

	Página
LISTA DE TABELAS.....	iii
LISTA DE FIGURAS.....	iv
RESUMO.....	v
ABSTRACT.....	vi
1.INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	4
2.1. A cultura da cana-de-açúcar.....	4
2.1.1. Histórico.....	4
2.1.2. Importância econômica.....	6
2.2. A broca da cana-de-açúcar.....	7
2.2.1. Descrição.....	8
2.2.2. Biologia.....	9
2.2.3. Danos.....	10
2.2.4. Controle.....	11
2.2.4.1. Controle biológico.....	11
2.2.4.2. Controle químico.....	13
2.2.4.3. Controle cultural.....	13
2.3. O parasitoide <i>Cotesia flavipes</i>	14
2.3.1. Histórico.....	14
2.3.2. Descrição e Biologia.....	16
2.4. Controle de qualidade em criações massais.....	18
2.4.1. Importância do controle de qualidade.....	19
2.4.2. Parâmetros avaliados no controle de qualidade de <i>Cotesia flavipes</i>	20
2.4.3. Deterioração genética em criações massais.....	21
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	24
3.1. Obtenção do material.....	24
3.2. Formação e condução do grupo endogâmico de <i>Cotesia flavipes</i>	24

3.3. Parâmetros biológicos de <i>Cotesia flavipes</i>	25
3.4. Sobrevivência dos adultos.....	26
3.5. Atividade de voo.....	26
3.6. Características morfométricas.....	28
3.7. Capacidade de parasitismo.....	28
3.8. Tabela de vida de fertilidade.....	29
3.9. Análise dos dados.....	30
4. RESULTADOS	31
4.1. Parâmetros biológicos.....	31
4.2. Sobrevivência de adultos.....	34
4.3. Atividade de voo.....	38
4.4. Características morfométricas.....	40
4.5. Capacidade de parasitismo.....	43
4.6. Tabela de vida de fertilidade.....	45
5. DISCUSSÃO.....	48
6. CONCLUSÃO.....	57
7. REFERÊNCIAS	58

LISTA DE TABELAS

	Página
Tabela 1. Período pupal de indivíduos de dois grupos de <i>Cotesia flavipes</i>	31
Tabela 2. Porcentagem de adultos emergidos por massa de dois grupos de <i>Cotesia flavipes</i>	32
Tabela 3. Total de adultos emergidos por massa de pupas de dois grupos de <i>Cotesia flavipes</i>	33
Tabela 4. Razão sexual de indivíduos de dois grupos de <i>Cotesia flavipes</i>	34
Tabela 5. Porcentagens (média \pm EP) de adultos de <i>Cotesia flavipes</i> caminhadores, voadores e não voadores em teste de voo em condições de laboratório.....	39
Tabela 6. Comprimento do corpo (mm) de adultos de <i>Cotesia flavipes</i> (média \pm EP) de dois grupos criados em condições de laboratório.....	40
Tabela 7. Comprimento da tíbia posterior (mm) de adultos de <i>Cotesia flavipes</i> (média \pm EP) de dois grupos criados em condições de laboratório.....	41
Tabela 8. Largura da asa anterior (mm) de adultos de <i>Cotesia flavipes</i> (média \pm EP) de dois grupos criados em condições de laboratório.....	42
Tabela 9. Comprimento da asa anterior (mm) de adultos (média \pm EP) de <i>Cotesia flavipes</i> dois grupos criados em condições de laboratório.....	43
Tabela 10. Parâmetros de tabela de vida de fertilidade (média \pm IC) de <i>Cotesia flavipes</i> após a criação de grupos do parasitoide por dez gerações em laboratório.....	47

LISTA DE FIGURAS

	Página
Figura 1. Estágios de desenvolvimento de <i>Diatraea saccharalis</i> . (A) Adulto- Fêmea; (B) Ovos; (C) Lagarta; (D) Pupa. Fotos: Negri, H.O.....	9
Figura 2. Estágios de desenvolvimento de <i>Cotesia flavipes</i> (A) Adulto – Fêmea; (B) Fêmea parasitando lagarta de <i>Diatraea saccharalis</i> ; (C) Larvas deixando o corpo do hospedeiro; (D) Pupas. Fotos: Negri, H.O; Costa, V. A.....	18
Figura 3. Modelo de recipiente para teste de voo de <i>Cotesia flavipes</i> , adaptado de Hivizi et al. (2007) citados por Hivizi et al. (2009).....	27
Figura 4. Sobrevivência de machos de <i>Cotesia flavipes</i> de grupos submetidos e não submetidos à endogamia.....	36
Figura 5. Sobrevivência de fêmeas de <i>Cotesia flavipes</i> de grupos submetidos e não submetidos à endogamia.....	37
Figura 6. Parasitismo realizado por fêmeas de <i>Cotesia flavipes</i> de dois grupos criados em condições de laboratório.....	44
Figura 7. Número médio de descendentes por fêmea (mx) e taxa de sobrevivência (lx) de dois grupos de <i>Cotesia flavipes</i>	46

EFEITO DA ENDOGAMIA EM *Cotesia flavipes* (CAMERON, 1891) (HYMENOPTERA: BRACONIDAE) CRIADA EM *Diatraea saccharalis* (FABRICIUS, 1794) (LEPIDOPTERA: CRAMBIDAE) AO LONGO DE GERAÇÕES

RESUMO - Embora no decorrer dos anos o parasitoide *Cotesia flavipes* tenha se mostrado eficiente no controle das populações da broca da cana, *Diatraea saccharalis*, atualmente existe a preocupação quanto ao controle de qualidade dos indivíduos produzidos massalmente. Um dos principais problemas das criações massais de insetos se refere aos cruzamentos consanguíneos, que resultam na perda da variabilidade genética, influenciando o tamanho, viabilidade e fertilidade da prole, mortalidade juvenil e adulta, bem como a morfologia dos indivíduos, fatores que podem comprometer a efetividade do inimigo natural. Nesse contexto, avaliou-se os parâmetros biológicos e a capacidade de voo de *C. flavipes* buscando evidências do efeito da endogamia na qualidade do parasitoide. Foram comparados dois grupos durante dez gerações, um oriundo de uma biofábrica, com outro endogâmico, criado em laboratório e iniciado a partir do primeiro. Para garantir a endogamia, fêmeas recém-emergidas foram forçadas a copular com apenas um irmão, sendo os casais individualizados e as fêmeas utilizadas para o parasitismo de lagartas de *D. saccharalis*. As avaliações foram efetuadas em cada uma das gerações do parasitoide até a décima geração, sendo registrado: a razão sexual, porcentagem de emergência, número de descendentes/fêmea, longevidade de machos e de fêmeas, a capacidade de voo e análise morfométrica dos adultos. Na décima primeira geração foi estudada a capacidade de parasitismo, além da construção de tabelas de vida de fertilidade. Os resultados das características biológicas, da capacidade de voo, da análise de caracteres morfométricos e capacidade de parasitismo mostraram diferenças significativas aleatórias entre os grupos, ora melhores resultados foram verificados para o grupo da biofábrica e ora para o grupo endogâmico. Também não se observou diferenças significativas ao longo de gerações para um mesmo grupo. Assim, a criação de um grupo de *C. flavipes* submetido à endogamia por dez gerações não é suficiente para evidenciar efeitos deletérios desse evento sobre os indivíduos.

Palavras-chave: Cana-de-açúcar, Controle biológico, Controle de qualidade, Criação massal, Broca da cana.

INBREEDING EFFECTS ON *Cotesia flavipes* (CAMERON, 1891) (HYMENOPTERA: BRACONIDAE) REARING IN *Diatraea saccharalis* (FABRICIUS, 1794) (LEPIDOPTERA: CRAMBIDAE) OVER GENERATIONS

ABSTRACT - Although over the years the parasitoid *Cotesia flavipes* has proved to be effective in controlling populations of the sugarcane borer, *Diatraea saccharalis*, currently there is concern about the quality control of individuals produced in large scale. One of the main problems of the massal rearing insects refers to inbreeding, resulting in the loss of genetic variability influencing the size, viability and fertility of the offspring, juvenile and adult mortality as well as the morphology of individuals, factors that can compromise the effectiveness of the natural enemy. In this context, we evaluated the biological parameters and flight ability of *C. flavipes* seeking evidence of the inbreeding effect on the parasitoid quality. Two groups, one from a bio-factory and another inbred laboratory rearing, started from the first, were compared for ten generations. To assure inbreeding, newly emerged females were forced to mate with a brother, being individualized couples and females were used for the parasitism of larvae of *D. saccharalis*. The evaluations were performed in each of the generations of the parasitoid up to the tenth generation, and recorded the sex ratio, emergence percentage, number of offspring / female, longevity of males and females, the ability of flight and morphometric analysis of adults. At the eleventh generation was studied the parasitism capacity, besides the construction of life tables. The results of the biological characteristics, the ability of flight, morphometric analysis and parasitism capacity showed random significant differences between groups, at times best results were obtained for the biofabric group and sometimes for the inbred group. Also no significant differences across generations for the same group were observed. Thus, the rearing of *C. flavipes* subjected to inbreeding for ten generations was not sufficient to show deleterious effects of this event on individuals.

Keywords: Sugarcane, Biological control, Quality control, Mass rearing, Sugarcane borer.

1. INTRODUÇÃO

O Brasil é líder mundial na produção de cana-de-açúcar (*Saccharum officinarum*). Responsável por mais da metade do açúcar comercializado no mundo, o país tem aproximadamente 8,8 milhões de hectares plantados, com previsão de produção de 672 milhões de toneladas de cana-de-açúcar para a safra 2014/2015 (CONAB, 2014), com produção estimada em 32,5 milhões de toneladas de açúcar e 25,87 bilhões de litros de etanol (UNICA, 2014).

Como qualquer cultivo, a cana-de-açúcar apresenta uma gama de insetos associados à lavoura. Das várias espécies que causam prejuízos ao produtor destaca-se a broca da cana *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794) (Lepidoptera: Crambidae), um lepidóptero cuja forma larval abre galerias no interior do colmo da cana (GARCIA; BOTELHO; MACEDO, 2009). Sua alta relevância como praga se dá pela frequência com que ocorre nos canaviais, seu alto potencial biótico e o clima favorável no país (PINTO; GARCIA; BOTELHO, 2006).

Os danos diretos causados pelas lagartas de *D. saccharalis* estão relacionados ao ataque direto às plantas de cana, provocados pela alimentação do inseto. As galerias formadas pelo consumo do colmo enfraquecem a planta, facilitando sua queda, ou ocasionando a morte da gema apical, sintoma conhecido como “coração-morto” (DINARDO-MIRANDA, 2008).

Como prejuízos indiretos, tem-se a colonização de fungos causadores da podridão vermelha do colmo. Os orifícios deixados pela broca na abertura das galerias favorecem a entrada de micro-organismos como *Fusarium moniliforme* e *Colletotrichum falcatum*, que causam inversão de sacarose e diminuição da pureza do caldo, prejudicando o rendimento agrícola e industrial da cultura (GARCIA; BOTELHO; MACEDO, 2009).

Devido à biologia da praga e às extensas áreas contínuas cultivadas com cana-de-açúcar, o controle químico da broca da cana é pouco eficiente, já que ela passa a maior parte de sua fase larval inacessível ao contato com inseticidas, além de ser

oneroso dado o porte da cultura e potencialmente prejudicial ao ambiente (MARCONATO, 1988).

O parasitoide *Cotesia flavipes* (Cameron, 1891) (Hymenoptera: Braconidae) foi introduzido com sucesso no Brasil a partir 1976 (BOTELHO, 1992; MACEDO, 2009) e de 1980 a 2002 a intensidade de infestação desta praga diminuiu de 11% para 2,8% (POLANCZYK et al., 2004).

Embora ao longo dos anos o parasitoide tenha se mostrado eficiente no controle de *D. saccharalis*, atualmente existe a preocupação quanto ao controle de qualidade dos parasitoides produzidos massalmente (HIVIZI et al., 2009; VACARI et al., 2012).

A confiança na eficiência do agente de controle biológico utilizado deve ser condição primordial para que um programa de controle biológico alcance sucesso e se estabeleça. Resultados insatisfatórios devido a baixa qualidade de inimigos naturais podem resultar em propaganda negativa desse método de controle e comprometer todo um programa desenvolvido ao longo de muitos anos de pesquisa (PREZOTTI; PARRA, 2002). A ação dos inimigos naturais entomófagos, que contribuem significativamente para manter as populações das pragas em equilíbrio, depende basicamente de eficientes métodos de produção massal, liberação no campo e potencial da espécie para reduzir a população da praga (RISCADO, 1982).

Um dos maiores obstáculos do controle de qualidade é a detecção da perda da variabilidade genética em insetos criados massalmente. Dos mecanismos envolvidos na deterioração dessa variabilidade, o cruzamento consanguíneo parece ser um dos mais relevantes eventos para populações criadas em laboratório (MACKAUER, 1972; BARLETT, 1984). O processo de endogamia é caracterizado pela ocorrência de acasalamentos entre indivíduos aparentados ou cruzamentos consanguíneos, isso inclui cruzamentos entre irmãos, entre pais e filhos e entre primos (RALLS; FRANKHAM; BALLOU, 2007). A prole resultante apresenta, a cada geração, uma maior frequência de alelos homozigotos recessivos, que, no geral, carregam caracteres deletérios indesejáveis (CHARLESWORTH; CHARLESWORTH, 1987).

As consequências da endogamia se refletem na perda da variabilidade genética e pode influenciar o tamanho dos insetos, a viabilidade e fertilidade da prole, a

mortalidade juvenil e adulta, bem como a morfologia dos indivíduos (CASSEL et al., 2001), fatores que podem comprometer a efetividade do inimigo natural em campo (van LENTEREN, 2009).

Contudo, visto toda a importância do controle de qualidade, principalmente em relação à depressão endogâmica para a produção e liberação de *C. flavipes*, estudos sobre essa ocorrência ainda são escassos e pouco se sabe sobre os efeitos desse evento.

No cenário atual brasileiro, existem populações fundadas a partir de um pequeno grupo de indivíduos, sem nenhuma outra introdução relatada de insetos de linhagem selvagem. Embora a reprodução seja aleatória dentro dessas populações conduzidas nas biofábricas, todos os indivíduos são aparentados, pois suas árvores genealógicas apresentam ancestrais comuns em algum ponto (GRIFFITHS et al., 2008). Dessa forma, pode-se considerar que as populações brasileiras de *C. flavipes*, mesmo que fechadas nos laboratórios de diferentes biofábricas, são endogâmicas no sentido de que há alguma probabilidade de um gene ser homozigoto por descendência, ou seja, podem apresentar alelos homozigotos que foram sendo transferidos dos pais para os filhos através de gerações (GRIFFITHS et al., 2008), justificando estudos que possam esclarecer se existem efeitos deletérios que podem ocorrer devido aos cruzamentos consanguíneos na produção massal desta espécie.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. A cultura da cana-de-açúcar

2.1.1. Histórico

A cana-de-açúcar é originária da ilha Nova Guiné no sudoeste do Oceano Pacífico, onde foi utilizada como planta ornamental nos jardins das moradias. Ela acompanhou as migrações náuticas dos habitantes do Oceano Pacífico e disseminou-se em várias ilhas do sul do Pacífico, alcançando posteriormente o sudeste asiático na Indochina, Malásia, Bengala e China, e chegando mais tarde ao Vale de Indo na Índia (MIRANDA, 2008).

Desconhecida no Ocidente, a cana-de-açúcar foi observada por alguns generais de Alexandre, o Grande, em 327 a.C. e, mais tarde, no século XI, durante as Cruzadas. Os árabes introduziram seu cultivo no Egito no século X e pelo Mar Mediterrâneo, em Chipre, Sicília e Espanha. Acredita-se que os egípcios desenvolveram o processo de clarificação do caldo da cana e um açúcar de alta qualidade para a época (FIGUEIREDO, 2008; MACHADO, 2014).

O açúcar era consumido por reis e nobres na Europa, que o adquiriam de mercadores monopolistas, que mantinham relações comerciais com o Oriente, a fonte de abastecimento do produto (FIGUEIREDO, 2008). No início do século XIV, há registros de comercialização de açúcar por quantias que hoje seriam equivalentes a R\$ 200,00/kg (MACHADO, 2014).

Na época do Renascimento, o comércio era feito por via marítima, pois os senhores feudais cobravam altos tributos pelos comboios que passavam pelas suas terras. Portugal, por sua posição geográfica, era passagem obrigatória para as naus carregadas de mercadorias. Isso estimulou a introdução da cana-de-açúcar na Ilha da Madeira, de onde saíram as primeiras mudas para cultivo nas colônias portuguesas (MIRANDA, 2008).

No Brasil, a cana-de-açúcar foi introduzida no período colonial, por volta de 1530, trazida da Ilha da Madeira para a Capitania de São Vicente (São Paulo) por Martim Afonso de Souza, amigo de infância de D. João III. Com o enorme desenvolvimento do plantio de cana-de-açúcar em Pernambuco a partir de 1535, outras capitanias receberam orientação para o cultivo, que se expandiu tão rapidamente pelo país que em 1580 o Brasil já havia conquistado o monopólio mundial de produção de açúcar (FIGUEIREDO, 2008). A descoberta do ouro no final do século XVII nas Minas Gerais retirou do açúcar o primeiro lugar na geração de riquezas, cuja produção se retraiu até o final do século XIX. Além disso, a Europa, maior consumidor do açúcar produzido no Brasil, deixou de ser dependente da importação quando começaram a produzir açúcar a partir da beterraba, no início do século XIX (MACHADO, 2014).

O imperador do Brasil, D. Pedro II, era um entusiasta das novas tecnologias e em 1857 foi elaborado um programa de modernização da produção de açúcar. A maioria das novas indústrias estava no Nordeste e em São Paulo e passaram a ser chamadas de "usinas de açúcar". Apesar da novidade, o açúcar derivado da cana não era visto como concorrente do açúcar de beterraba (MIRANDA, 2008).

No final do século XIX, o governo brasileiro incentivou a vinda de europeus para suprir a mão de obra necessária às fazendas de café, no interior paulista. Os imigrantes, de maioria italiana, adquiriram terra e grande parte optou pela produção de aguardente a partir da cana. Inúmeros engenhos se concentraram nas regiões de Campinas, Itu, Moji-Guaçu, Piracicaba e nas vizinhanças de Ribeirão Preto (MACHADO, 2014).

Com a crise do petróleo na década de 1970, o governo brasileiro criou um programa de incentivo à produção de utilização do álcool como combustível em substituição à gasolina, o Programa Nacional do Álcool (Proálcool) (ANDRADE; CARVALHO; SOUZA, 2009). Esse programa alavancou o desenvolvimento de novas regiões produtoras como o Paraná, Goiás, Mato Grosso e Mato Grosso do Sul. Em menos de cinco anos a produção de pouco mais de 300 milhões de litros ultrapassou a cifra de 11 bilhões de litros, caracterizando o Proálcool como o maior programa de energia renovável já estabelecido em termos mundiais (MACHADO, 2014).

A tecnologia aplicada no setor canavieiro, em termos de agricultura avançada, é notável. As variedades são desenvolvidas para ambientes e manejos específicos, os métodos de preparo do solo e conservação, tratos culturais, manejo de doenças e pragas, uso de maturadores e inibidores de florescimento, desenvolvimento de plantio e colheita mecanizados, aplicação de técnicas gerenciais específicas a produção são fatos comprovados no setor. As usinas são modernas e o uso da informática, de tecnologias como automação de plantio e colheita, é intensivo e crescente. A busca de novas alternativas, como agregação de valores, cogeração de energia elétrica e novos sistemas de administração, é constante (FIGUEIREDO, 2008).

2.1.2. Importância econômica

O Brasil não é apenas o maior produtor de cana-de-açúcar. É também o primeiro do mundo na produção de açúcar e etanol e conquista, cada vez mais, o mercado externo com o uso do biocombustível como alternativa energética.

O setor sucroalcooleiro nacional é referência para os demais países produtores. A cana-de-açúcar é produzida em quase todo o país, sendo o estado de São Paulo o maior produtor com 51,7% (4.696,3 mil hectares) da área plantada, seguido por Goiás com 9,3% (878,27 mil hectares), Minas Gerais com 8,9% (788,88 mil hectares), Mato Grosso do Sul com 7,4% (712,34 mil hectares), Paraná com 6,7% (644,65 mil hectares), Alagoas com 4,7% (390,40 mil hectares) e Pernambuco com 3,2% (277,74 mil hectares). Nos demais estados produtores as áreas são menores, com representações abaixo de 3,0% (CONAB, 2014).

Responsável por mais da metade do açúcar comercializado no mundo, o país tem aproximadamente 9.130,1 mil hectares plantados, com previsão de produção de 672 milhões de toneladas de cana-de-açúcar para a safra 2014/2015 (CONAB, 2014). A estimativa de produção de açúcar para essa mesma safra é de 32,5 milhões de toneladas, 2,84% inferior ao valor registrado na safra 2013/2014. Já a projeção para

produção de etanol chega a 25,87 bilhões de litros, 1,2% superior à safra anterior (UNICA, 2014).

Devido ao crescimento do consumo interno, a produção de etanol projetada para 2019 é de 58,8 bilhões de litros, sendo 50 bilhões de litros destinados ao consumo interno e 8,8 bilhões às exportações (BRASIL, 2013).

Além do açúcar refinado e do etanol, outros produtos também são gerados pelo processamento da cana: diversos tipos de açúcares, glicose, frutose, glicerina, ácidos sorbitol e sucralose, entre outros. De outras fermentações, podem ser obtidos acetonas, antibióticos (penicilina, tetraciclina), enzimas industriais (amilases, proteases), vitaminas (C, B2, B12), aminoácidos (lisina, fenilalanina) e insumos biológicos para a agricultura (bioinseticidas e fertilizantes), álcool hidratado carburante (96GL), álcool anidro (99,5GL), derivados do álcool, os desidratados (etilenos) e os desidrogenados (acetaldeídos) (WAAK; NEVES, 1998).

Dos subprodutos, utiliza-se o bagaço da cana como combustível nas unidades geradoras de vapor (caldeiras) para movimentar turbinas e gerar energia utilizada na moagem e para eventual retorno a rede pública de distribuição; também é usado nas caldeiras de indústrias citrícolas, de papel e celulose, e outras, para geração de energia. Gera também a pasta de celulose para produção de papel e pode ser usado na alimentação animal (WAAK; NEVES, 1998).

Dessa maneira, a agroindústria canavieira gera e recupera energia: do açúcar como alimento, do etanol como combustível para veículos e da eletricidade obtida com a queima do bagaço (UNICA, 2009).

2.2. A broca da cana-de-açúcar

Várias são as espécies de pragas que causam prejuízo econômico ao produtor de cana. A broca da cana, *D. saccharalis*, é a espécie de maior relevância no país, dada a frequência com que ocorre, seu alto potencial biótico, o clima favorável, o hábito que a protege dos inimigos naturais e, principalmente, pelos prejuízos causados

(PINTO; GARCIA; BOTELHO, 2006). Está amplamente distribuída nas regiões canavieiras do Brasil e em diversos países da América do Sul, Central e do Norte (VENDRAMIM; SILVA; CAMARGO, 1989; DINARDO-MIRANDA, 2008). Além da cana-de-açúcar, ataca diversas gramíneas, como sorgo, milho e arroz (MENDONÇA et al., 1996; BENEDINI, 2006).

É sem dúvida a praga mais conhecida na indústria canavieira e as perdas são calculadas por meio de índices de infestação, em especial pelo Índice de intensidade de infestação (= % de entrenós brocados) que é correlacionado com a produção de açúcar e álcool. Esses índices de perdas são incompletos, uma vez que consideram apenas perdas industriais. As perdas agrônômicas são pouco comentadas, particularmente pela dificuldade de se analisar em campo aberto, comparando-se canaviais infestados com aqueles livres de infestação (TERÁN, 1987).

2.2.1. Descrição

O adulto de *D. saccharalis* é uma mariposa de cor amarelo-palha com manchas escuras nas asas anteriores e asas posteriores esbranquiçadas, medindo 25 mm de envergadura (Figura 1A) (BOTELHO; MACEDO, 2002). A fêmea geralmente é maior, com abdome volumoso e asas menos pigmentadas do que o macho. Esse ainda se diferencia das fêmeas por possuir cerdas no último par de pernas (MENDONÇA et al., 1996; DINARDO-MIRANDA, 2008).

Os ovos têm formato ovalado e achatado, sendo depositados em grupos e de forma imbricada, assemelhando-se a um segmento de couro de cobra ou escama de peixe, com um ovo cobrindo 2/3 ou a metade do que vem logo a seguir (Figura 1B) (BOTELHO; MACEDO, 2002). No início são amarelo-claros e se tornam marrom-escuros quando são visíveis as capsulas cefálicas dos embriões no interior dos ovos (BOTELHO; MACEDO, 2002).

A lagarta é de coloração branca leitosa com pequenas manchas de cor marrom, dispostas em linhas ao longo do dorso. Possui três pares de pernas torácicas e um par

de falsas pernas anais, e no final da fase larval mede aproximadamente 25 mm de comprimento (Figura 1C) (MENDONÇA et al., 1996).

A pupa inicialmente formada é marrom-clara e escurece a medida que se desenvolve (Figura 1D). As pupas de fêmeas geralmente são maiores que as de machos (BOTELHO; MACEDO, 2002).

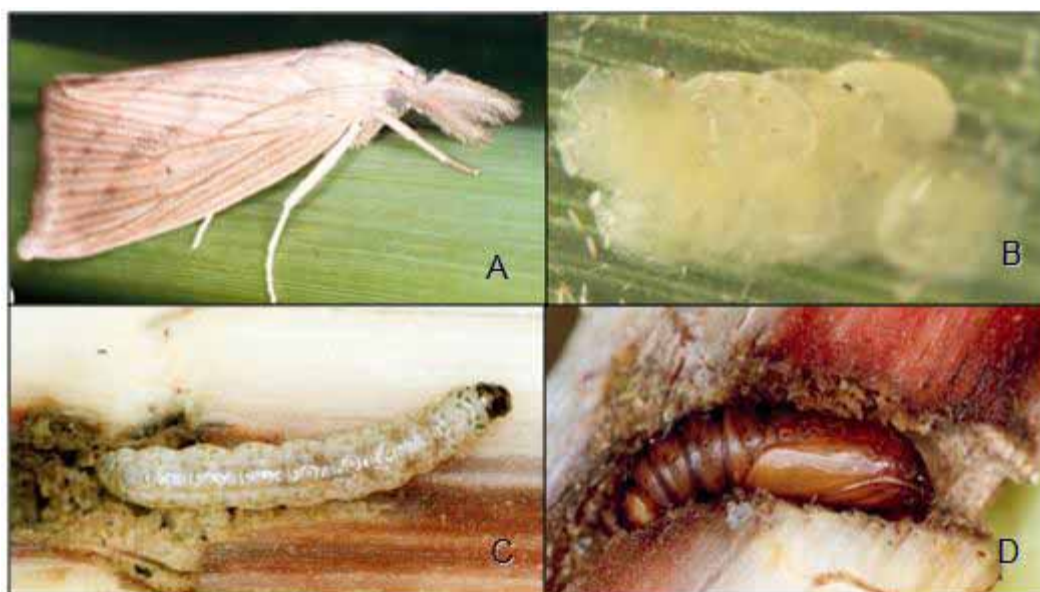


Figura 1. Estágio de desenvolvimento de *Diatraea saccharalis*. (A) Adulto - Fêmea; (B) Ovos; (C) Lagarta; (D) Pupa. Fotos: Negri, H.O.

2.2.2. Biologia

Os adultos vivem em média cinco dias e as fêmeas podem depositar de 200 a 400 ovos, em ambas as faces das folhas ainda verdes e também nas bainhas do colmo (DINARDO-MIRANDA, 2008). Dependendo da época do ano, a fêmea pode colocar de 300 a 600 ovos durante toda a vida (PINTO, 2006).

A eclosão das lagartas acontece em 4 a 9 dias. As lagartas recém-nascidas inicialmente se alimentam do parênquima das folhas, apresentando hábito raspador. Porém, depois da primeira ecdise, as lagartas já apresentam mandíbulas fortes o

suficiente para perfurarem as partes mole do colmo, por onde o penetram e constroem galerias (PINTO; CANO; SANTOS, 2006). No interior do colmo a lagarta passa, geralmente, por seis ecdises (DINARDO-MIRANDA, 2008). Essa é a fase em que o inseto causa danos à cultura.

O completo desenvolvimento da lagarta acontece em média aos 40 dias, quando então fazem um orifício para o exterior e passam à fase de pupa no interior do colmo. Esse estágio dura entre nove e 14 dias, quando emerge o adulto, que sai pelo orifício feito pela lagarta (PINTO; CANO; SANTOS, 2006).

O ciclo biológico completo varia de 50 a 60 dias, sendo que nas condições do Brasil podem chegar a quatro gerações anuais, dependendo das condições climáticas (MENDONÇA, 1996).

2.2.3. Danos

A ocorrência da broca da cana no canavial pode ser altamente destrutiva, podendo inviabilizar a atividade dependendo da intensidade de ataque (MACEDO, 2004). Calcula-se que para cada 1% de índice de intensidade de infestação, ocorre uma redução de 0,42% de açúcar, 0,21% de álcool e 1,14% na produção de matéria prima (CANAOESTE, 2013).

Os danos causados à cana-de-açúcar diretamente pelas lagartas de *D. saccharalis* decorrem da alimentação do inseto dentro do colmo da planta (MENDONÇA et al., 1996; BOTELHO; MACEDO, 2002). As galerias formadas nos entrenós diminuem o peso da planta, o diâmetro e tamanho do colmo, causando secamento e morte (BOTELHO; MACEDO, 2002;); ou os enfraquecem, principalmente quando as galerias são formadas transversalmente no colmo, tornando-o frágil, podendo se quebrar com a ação do vento (DINARDO-MIRANDA, 2008). Quando o ataque acontece em canaviais jovens, ocorre a morte da gema apical, com secamento das folhas mais novas, resultando no sintoma conhecido como “coração-morto”, com consequente morte da planta (MACEDO; BOTELHO, 1988; DINARDO-MIRANDA, 2008). A queda do

rendimento agrícola do canavial é reflexo desses danos causados pela broca (VIEL, 2009).

Entretanto, os maiores danos correspondem aos prejuízos industriais, e são causados de forma indireta pelas lagartas de *D. saccharalis*. Os orifícios abertos, tanto para entrada da lagarta quanto para saída do adulto, funcionam como portas de acesso para micro-organismos oportunistas, causadores da Podridão Vermelha. Esses micro-organismos, predominantemente fungos, *Fusarium moniliforme* e/ou *Colletotricum falcatum*, invertem a sacarose armazenada na planta em glicose e levulose, provocando perdas pelo consumo de energia no metabolismo de inversão e pelo fato de os açúcares resultantes desse desdobramento não se cristalizarem no processo industrial. E quando a matéria-prima se destina à produção de álcool, o problema não é menos grave, pois os micro-organismos que penetram no entrenó aberto contaminam o caldo e concorrem com as leveduras no processo de fermentação alcoólica (PLANALSUCAR, 1982; BOTELHO, 1992; BOTELHO; MACEDO, 2002).

2.2.4. Controle

2.2.4.1. Controle biológico

As diversas fases de desenvolvimento da broca da cana sofrem a ação de diferentes inimigos naturais, tais como parasitoides, predadores e entomopatógenos (fungos, bactérias, vírus etc.). O sucesso do controle biológico da broca da cana deve-se à existência de grande diversidade de parasitoides e predadores que atuam principalmente sobre os estágios de ovo e lagarta da praga (NAVA; PINTO; SILVA, 2009).

Algumas espécies de formigas, crisopídeos, joaninhas e tesourinhas estão associadas à broca da cana, exercendo forte pressão principalmente sobre ovos e lagartas recém-eclodidas. Volpe et al. (2012) encontraram baixa densidade de lagartas de *D. saccharalis* em áreas com alta densidade de tesourinhas, sugerindo que o

potencial apresentado por esse predador no controle populacional da broca pode ser utilizado como incremento do controle biológico inundativo. Entretanto, as formigas predadoras são os principais inimigos naturais da broca da cana (SOUSA-SILVA et al., 1992).

Os fungos entomopatogênicos que ocorrem naturalmente nos canaviais são *Beauveria bassiana*, *Cordyceps barberi* e *Metarhizium anisopliae* (MENDONÇA et al., 1996). A broca da cana é muito sensível a *M. anisopliae*, que controla os estágios de ovo e lagarta. As aplicações aéreas desse fungo, contra a cigarrinha-das-folhas ou a cigarrinha-das-raízes, podem causar mortalidade de ovos e lagartas pequenas da broca da cana (NAVA; PINTO; SILVA, 2009). O vírus da granulose da broca da cana (*DsGV*) é responsável por reduções na população dessa praga e, apesar de não ser produzido em larga escala, pode ser utilizado em associação com outros organismos (NAVA; PINTO; SILVA, 2009). Existem também formulações a base da bactéria *Bacillus thuringiensis* que são registradas para o controle de *D. saccharalis* em cana-de-açúcar (BRASIL/ AGROFIT, 2014).

Dentre os parasitoides destacam-se *Trichogramma galloi* Zucchi, 1988 (Hymenoptera: Trichogrammatidae), que atualmente possui um registro no Ministério da Agricultura, e *C. flavipes* que possui oito registros de empresas que produzem e comercializam estes parasitoides (BRASIL/ AGROFIT, 2014). *T. galloi* é um parasitoide de ovos e evita que o inseto inicie o ataque ao colmo da cana. De cada ovo de *D. saccharalis* parasitado por *T. galloi* podem emergir de 2 a 3 adultos (DINARDO-MIRANDA, 2008). Esses insetos devem ser liberados em campo na forma adulta (200.000 parasitoides/ha), em três liberações sucessivas (BOTELHO et al., 1999).

C. flavipes é um parasitoide de lagartas e desde a sua introdução no Brasil vem se destacando em diversos locais do país, sendo extremamente eficiente no controle de *D. saccharalis*. Polanczyk et al. (2004) relataram que o índice de infestação baixou de 10% (década de 1980) para 2% no início do século XXI no estado de São Paulo.

2.2.4.2. Controle químico

Em razão do hábito da praga, o uso de agrotóxico no controle populacional da broca da cana limita-se ao estágio em que a lagarta ainda não perfurou os colmos, período em que ficam expostas, além de ser oneroso e potencialmente prejudicial ao ambiente (MARCONATO, 1988). A aplicação pode ser realizada por meio de pulverização utilizando-se produtos químicos como triflumurom, lufenurom, fipronil, novalurom, carbofurano, tebufenozida, diflubenzurom ou clorantraniliprole, que são registrados para *D. saccharalis* em cana-de-açúcar (BRASIL/ AGROFIT, 2014). O produto deve ser direcionado para a região do palmito, quando houver 3% de plantas com lagartas recém eclodidas (GALLO et al., 2002).

Além do difícil controle das lagartas depois dos primeiros ínstaes, a adoção de inseticidas químicos pode afetar os inimigos naturais, que são importantes reguladores das populações da praga. Em razão disso, Dinardo-Miranda (2008) recomenda a utilização de inseticidas fisiológicos, aplicados somente em áreas com alto índice de infestação de lagartas e baixos de parasitismo.

2.2.4.3. Controle cultural

São diversas as medidas que contribuem para reduzir a infestação da praga. Dentre as boas práticas culturais tem-se o plantio de variedades resistentes ou tolerantes, o corte da cana sem desponete, a moagem rápida após o corte e a eliminação de plantas hospedeiras próximas ao canavial, como o milho, seu hospedeiro nativo (DINARDO-MIRANDA, 2008). Outra situação que aumenta consideravelmente as infestações pela broca é a aplicação de vinhaça, sendo recomendável intensificar as liberações de parasitoides em áreas que recebem irrigação frequente com esse produto (DINARDO-MIRANDA, 2008).

2.3. O parasitoide *Cotesia flavipes*

Acredita-se que *C. flavipes* seja originária da região asiática e introduzida em outras diversas regiões para controle de espécies do gênero *Chilo* (Lepidoptera: Pyralidae) e outros gêneros da família Crambidae em culturas de arroz e milho (BOTELHO; MACEDO, 2002; VIEL, 2009).

A introdução de *C. flavipes* para controle da broca da cana-de-açúcar e sua rápida adaptação no país levaram à criação de laboratórios e associações para a produção em larga escala desse parasitoide (MENDONÇA, 1996).

Atualmente, uma liberação do parasitoide é realizada durante um ciclo da cultura em cerca de três milhões de hectares de cana-de-açúcar no Brasil. Para atender essa área, é necessária a produção de 18 bilhões de parasitoides por ano, e para suprir essa demanda existem cerca de 80 biofábricas no Brasil (VACARI et al., 2012). Todas as indústrias de controle biológico, de acordo com a Associação Brasileira de Controle Biológico (ABCbio), faturaram cerca de US\$ 122 milhões em 2010. Isso representa 3% do mercado de inseticidas no Brasil, que foi de US\$ 8 bilhões no mesmo ano (VEIGA et al., 2013).

A liberação desse himenóptero é feita sempre que a população atingir o mínimo de 800-1000 lagartas de *D. saccharalis* por hectare. São liberadas aproximadamente 6.000 parasitoides por hectare, variando de acordo com a população da broca da cana (PINTO; CANO; SANTOS, 2006).

Diante desse cenário tem-se, então, o que hoje é um dos maiores programas de controle biológico do mundo, devido à extensão da área tratada.

2.3.1. Histórico

Em 1973 o IAA/PLANALSUCAR reuniu uma equipe de pesquisadores e auxiliares técnicos incumbindo-os de desenvolver técnicas de laboratório e campo

visando, de forma prática e objetiva, controlar a praga *D. saccharalis* (BOTELHO, 1992).

O primeiro entrave encontrado foi adequar a técnica de criação de *D. saccharalis* para a produção de inimigos naturais. Com o desenvolvimento de técnicas, o aperfeiçoamento na produção de dietas artificiais e o treinamento de pessoal passou-se a dominar a técnica de criação, possibilitando criar grandes quantidades de brocas (BOTELHO, 1992).

As primeiras pesquisas com produção de parasitoides de *D. saccharalis* iniciaram-se com as espécies *Lixophaga diatraea* Townsend, 1916 (Diptera: Tachinidae), nativa do Peru, *Metagonistylum minense* Townsend, 1927 (Diptera: Tachinidae) e *Paratheresia claripalpis* Van Der Wulp, 1896 (Diptera: Tachinidae). Porém, os resultados obtidos foram modestos e buscou-se, então, a importação de outros inimigos naturais não nativos do Brasil (BOTELHO, 1992).

Em abril de 1974, *C. flavipes* proveniente de Trinidad foi introduzida em Alagoas, iniciando-se então a participação desse parasitoide no Programa Nacional de Controle Biológico de *Diatraea* spp. no Brasil, desenvolvido pelo IAA/Planalsucar (MENDONÇA FILHO et al., 1977 citados por BOTELHO; MACEDO, 2002) e desde a primeira liberação já se observou seu potencial. De 1974 a 1976 houve recuperações do parasitoide em campo de diferentes regiões canavieiras de Alagoas e também nos estados de Pernambuco, Paraíba, Rio Grande do Norte, Sergipe, Bahia, Rio de Janeiro, São Paulo e Amapá (MENDONÇA FILHO et al., 1977 citados por BOTELHO; MACEDO, 2002). Porém, com resultados ainda modestos quanto ao parasitismo, principalmente na região centro-sul do país (BOTELHO, 1992). Assim, novas linhagens de *C. flavipes* foram trazidas em 1978, provenientes da Índia e do Paquistão, que apresentavam clima semelhante ao do Estado de São Paulo (MACEDO, 1978).

Botelho (1992) apresentou um compilado de resultados obtidos em pesquisas com *C. flavipes* durante quinze anos, no qual demonstrou claramente a adaptação do parasitoide no país, com uma participação de 76,64% no parasitismo total obtido no ano de 1989, superando o desempenho de parasitoides nativos e impulsionando o programa de controle biológico elaborado pelo IAA/PLANALSUCAR.

Entre os anos de 1980 e 2002 a intensidade de infestação desta praga diminuiu de 11% para 2,8%. Neste período foram liberados 14,8 bilhões de adultos em 2,44 milhões de hectares a um custo de R\$ 7,14 por hectare, implicando um custo de R\$ 16,7 milhões e gerando uma economia de R\$ 88,4 milhões, pois deixaram de ser aplicados mais de 700.000 litros de inseticidas para o controle da *D. saccharalis* (POLANCZYK et al., 2004).

2.3.2. Descrição e Biologia

A vespa *C. flavipes* é um endoparasitoide cenobionte de larvas, que apresenta hábito gregário e desenvolvimento holometabólico (ovo, larva, pupa e adulto) (MOUTIA; COURTOIS, 1952).

Os adultos são diminutos, medindo de 2 a 3 mm de comprimento. Possuem corpo enegrecido, pernas marrom-amareladas e asas hialinas (Figura 2A) (CUEVA; AYQUIPA; MESCUA, 1980; BOTELHO; MACEDO, 2002). O dimorfismo sexual é caracterizado pelo tamanho das antenas, que nos machos se apresenta maior do que nas fêmeas, embora ambos tenham o mesmo número de antenômeros (WILKINSON, 1928; CUEVA; AYQUIPA; MESCUA, 1980; BOTELHO; MACEDO, 2002).

O acasalamento se dá logo após a emergência, estando o macho apto para a cópula em aproximadamente 13 minutos, e a fêmea em 27 (CUEVA; AYQUIPA; MESCUA, 1980). As fêmeas de *C. flavipes* costumam voar após o acasalamento, enquanto os machos permanecem sobre a cana-de-açúcar procurando outras fêmeas, até que estas se tornem escassas (ARAKAKI; GANAHA, 1986). Reproduzem-se sexuadamente ou por partenogênese arrenótoca, ou seja, ovos fecundados dão origem a descendentes femininos (diploides), enquanto ovos não fecundados originam descendentes machos (haploides) (MOUTIA; COURTOIS, 1952; GAULD; HANSON, 2006). Depois do acasalamento, o esperma fica armazenado na espermateca da fêmea, que pode, então, controlar sua liberação e consequente fertilização dos ovos. Esse tipo de determinação sexual é chamado de determinação haplodiploide de sexo, e

é considerada uma autoapomorfia do grupo Hymenoptera (SHARKEY; FERNÁNDEZ, 2006).

Segundo Potting (1996), a localização da lagarta hospedeira se dá através de estímulos olfativos, reconhecendo os voláteis liberados pela planta injuriada e por substâncias hidrossolúveis presentes nas fezes produzidas pela lagarta.

Os ovos são depositados pela fêmea na hemocele da lagarta hospedeira (Figura 2B) e ficam flutuando livremente na hemolinfa. São arredondados na porção cefálica, largos medianamente e afilados na parte posterior medindo cerca de 0,09 mm de comprimento, logo depois de serem depositados. O número de ovos colocados pela fêmea varia de acordo com a idade do hospedeiro, podendo chegar a algumas dezenas (MACEDO; ARAÚJO, 2000).

Após três a quatro dias as larvas eclodem e passam por três instares, em um período de aproximadamente 12 dias (PARRA, 2000; BOTELHO; MACEDO, 2002). As larvas de terceiro instar possuem coloração branco-leitosa brilhante e medem cerca de 3 mm de comprimento, e ao final de seu desenvolvimento abandonam a lagarta hospedeira, perfurando o seu tegumento (Figura 2C) (CUEVA; AYQUIPA; MESCUA, 1980; PINTO, 2006). As lagartas parasitadas diminuem o consumo de alimento a partir do quinto dia de parasitismo (CUEVA; AYQUIPA; MESCUA, 1980), e morrem exauridas no momento em que as larvas do parasitoide deixam seu corpo (MACEDO; ARAÚJO, 2000).

As larvas empupam próximas à lagarta de *D. saccharalis*, formando casulos de fios de seda, que, em razão da proximidade, compõe uma massa de casulos (Figura 2D). Esse período dura em torno de cinco dias, e próximo à emergência dos adultos, os casulos, que inicialmente apresentavam coloração branca, adquirem tons acinzentados devido ao desenvolvimento da pupa (CUEVA; AYQUIPA; MESCUA, 1980; BOTELHO; MACEDO, 2002).

O ciclo biológico completo de *C. flavipes* é de aproximadamente 20 dias, podendo variar em função da temperatura (PINTO, 2006).

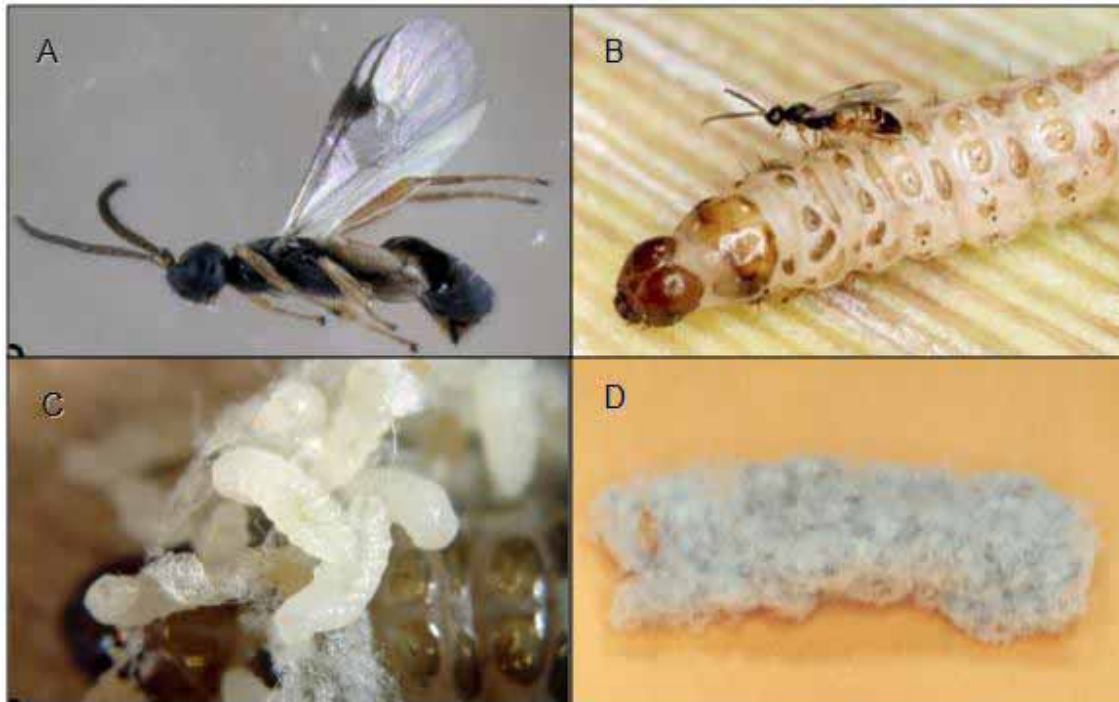


Figura 2. Estágios de desenvolvimento de *Cotesia flavipes*. (A) Adulto – Fêmea; (B) Fêmea parasitando lagarta de *Diatraea saccharalis*; (C) Larvas deixando o corpo do hospedeiro; (D) Pupas. Fotos: Negri, H. O; Costa, V. A.

2.4. Controle de qualidade em criações massais

O controle de qualidade é aplicado a organismos criados em larga escala para manter a qualidade da população, sendo a qualidade total do inimigo natural definida como a capacidade deste organismo em controlar a praga eficientemente após a liberação em campo (van LENTEREN, 2003).

Como para o controle biológico criam-se dois insetos, o hospedeiro (natural ou alternativo) e o inimigo natural, são dois os organismos que apresentam possibilidade de degeneração. Um hospedeiro de má qualidade pode produzir inimigos naturais não competitivos com os da natureza (PARRA, 1992). Desta forma, o controle de qualidade deve ser feito em ambos os insetos e envolver a produção, o processo e o produto. O controle da produção é a garantia de que a criação do inseto e as operações a ela

associadas estão sendo executadas, sendo o desempenho dessas operações controlado diretamente pelo monitoramento dos procedimentos, equipamentos e ambiente. O controle do processo refere-se ao ajuste desses procedimentos de criação por meio do monitoramento do produto inacabado, comparando-o com padrões pré-estabelecidos. O controle do produto visa assegurar que os insetos se encontram em condições apropriadas para utilização (LEPPLA; FISHER, 1989).

Os sistemas de criações dos parasitoides produzidos em escala massal devem permitir a produção de organismos com qualidade biológica similar aos insetos encontrados na natureza. Para tanto, a maioria dos laboratórios de criação massal monitora a qualidade dos inimigos naturais com base, principalmente, em parâmetros biológicos, como fecundidade, viabilidade de ovos, peso de larvas e pupas, emergência, razão sexual, mortalidade, longevidade, habilidade de voo e competitividade de cópula (CLARKE; McKENZIE, 1992).

2.4.1. Importância do controle de qualidade

Em programas de controle biológico aplicado, nos quais são produzidos milhares de artrópodos em laboratório, a qualidade do inimigo natural é fundamental para que haja sucesso no campo. Dessa forma, o principal objetivo de qualquer laboratório de criação massal é a produção de um grande número de inimigos naturais para subseqüentes liberações num programa de controle biológico, o que exige um rigoroso controle com relação ao número e, principalmente, à qualidade dos insetos liberados para a obtenção de sucesso no controle (PREZOTTI; PARRA, 2002).

Hassan (1997) relatou que devem ser levadas em conta no controle de qualidade, as características do parasitoide em laboratório (preferência hospedeira e adequação), semicampo (capacidade de busca) e campo (eficiência, adaptação, localização do hábitat e hospedeiro, aceitação e adequação do hospedeiro e sincronização com o hospedeiro).

A baixa qualidade de inimigos naturais pode comprometer todo um programa desenvolvido ao longo de muitos anos de pesquisa. O controle de qualidade surge, portanto, como uma peça fundamental em programas de criação massal, visando identificar problemas de produção, indicar sinais de deterioração da linhagem ao longo das gerações de criação e, principalmente, garantir aos usuários desse método de controle a qualidade do produto adquirido (PREZOTTI; PARRA, 2002).

2.4.2. Parâmetros avaliados no controle de qualidade de *Cotesia flavipes*

O Brasil tem tradição em laboratórios dedicados à produção de *C. flavipes*, onde de 25 a 30 pessoas produzem de 10 a 20 milhões de indivíduos de *C. flavipes*/mês/laboratório para liberações inundativas (PARRA, 2002). Entretanto poucos estudos são realizados em termos de controle de qualidade. No caso de *C. flavipes*, esse controle é realizado nas usinas de cana-de-açúcar, baseando-se no vigor e aspectos das massas (casulos), na razão sexual e na agressividade do inseto adulto (PREZOTTI; PARRA, 2002)

Hivizi et al. (2009) detalharam os testes que podem ser conduzidos para avaliação da qualidade de *C. flavipes*:

(1) Avaliação do parasitismo e fecundidade

Amostras de lagartas de *D. saccharalis* inoculadas com ovos de *C. flavipes* devem ser contadas e deixadas em condições controladas até que se observe a formação dos casulos do parasitoide sobre o corpo do hospedeiro. A taxa de parasitismo é, então, determinada calculando-se o número médio de lagartas que foram parasitadas por *C. flavipes*. Para avaliar a fecundidade de *C. flavipes*, toma-se o número médio de casulos formados em cada lagarta parasitada.

(2) Avaliação da emergência e razão sexual

Separam-se, aleatoriamente, 60 massas de casulos em dois copos. Após a emergência dos adultos, estes são mortos com gás tóxico e, então, são contados os números de machos e fêmeas obtidos.

(3) Avaliação da longevidade

Massas de casulos de *C. flavipes* devem ser individualizadas em recipientes transparentes e se observar o tempo de vida dos adultos desde a sua emergência até a morte.

(4) Atividade de voo

Utilizam-se unidades-teste para avaliação de voo de curta extensão, ou seja, para verificar se o inimigo natural ainda consegue voar (PREZOTTI; PARRA, 2002). São acondicionados grupos de casulos próximos à emergência. Os adultos emergem e percorrem o recipiente. Após a morte dos parasitoides é realizada a classificação de acordo com a região do recipiente onde foram contabilizados, sendo designados como voadores, caminhadores ou não voadores.

2.4.3. Deterioração genética em criações massais

Um dos maiores obstáculos do controle de qualidade é a detecção da perda da variabilidade genética em insetos criados massalmente. Dos mecanismos envolvidos na deterioração dessa variabilidade, a deriva genética (ou efeito fundador), o cruzamento consanguíneo e a seleção parecem ser os mais relevantes para populações criadas em laboratório (MACKAUER, 1972; BARLETT, 1984).

O processo de seleção atua continuamente durante o estabelecimento e manutenção de uma colônia. Nos primeiros estágios do estabelecimento, a seleção filtra os insetos que não conseguem se adequar às grandes mudanças, e como as características de adaptação para campo são diferentes daquelas para o laboratório, as pressões de seleção no laboratório podem produzir uma revolução genética (MAYR, 1970) e novos sistemas de genes balanceados serão selecionados (LOPEZ-FANJUL; HILL, 1973). Além de contribuir para a deterioração genética, esse processo explica a alta mortalidade de materiais recém-introduzidos (PREZOTTI; PARRA, 2002).

A deriva genética é outro importante processo aleatório que influencia a frequência gênica de uma colônia de laboratório (JOSLYN, 1984). O efeito fundador é

um exemplo extremo de deriva genética (WRIGHT, 1977). Quando parte da população selvagem (onde a migração gênica pode ocorrer e a diversidade ambiental é grande) é transferida para o laboratório, torna-se uma população “fechada” e todas as mudanças genéticas passam a ser feitas a partir da limitada variabilidade genética da população fundadora (BARTLETT, 1984). Ademais, o tamanho numérico e a origem geográfica de uma população fundadora afetam diretamente a variabilidade do “pool” genético nativo representado na população de laboratório (reserva genética) e, conseqüentemente, influencia a reserva de habilidades para responder a eventos aleatórios e à seleção (BARTLETT, 1985; van LENTEREN, 2009). Dessa forma, o potencial evolutivo da população de laboratório é essencialmente determinado quando a criação-estoque é isolada no campo (MACKAUER, 1976).

A estrutura genotípica da população também pode ser afetada por seu sistema de acasalamento. O processo de endogamia é caracterizado pela ocorrência de acasalamentos entre indivíduos aparentados ou cruzamentos consanguíneos, isso inclui cruzamentos entre irmãos, entre pais e filhos e entre primos (RALLS; FRANKHAM; BALLOU, 2007).

A prole resultante de endocruzamentos é mais propensa a herdar cópias do mesmo alelo de ambos os pais, que são idênticos, pois são derivados de um antepassado comum aos pais (FUTUYMA, 2002; RALLS; FRANKHAM; BALLOU, 2007). Portanto, a frequência de produção de descendentes homozigóticos é maior em populações endogâmicas em relação ao que se esperaria com acasalamentos ao acaso, em grandes populações (BARTLETT, 1984; CHARLESWORTH; CHARLESWORTH, 1987).

O grande problema de homozigosidade é que, no geral, os genes recessivos carregam caracteres deletérios indesejáveis (BARTLETT, 1984; CHARLESWORTH; CHARLESWORTH, 1987), que antes eram mascarados pela heterozigosidade (RALLS; FRANKHAM; BALLOU, 2007). O aumento da frequência de homozigotos para alelos recessivos é chamado de depressão endogâmica (FUTUYMA, 2002).

As conseqüências da depressão endogâmica são especialmente relevantes para os parasitoides devido ao seu uso frequente em programas de controle biológico

(HENTER, 2003). Os efeitos negativos da endogamia sobre a aptidão refletem-se, primeiramente, no declínio em todos os elementos de vigor, como peso, vitalidade, sobrevivência e longevidade (RALLS; FRANKHAM; BALLOU, 2007). E, visto que todos os caracteres tem o potencial de acumular alelos recessivos prejudiciais, os componentes de aptidão reprodutiva também são influenciados pela consanguinidade; isso inclui o número de descendentes/fêmea, capacidade de acasalamento dos machos, qualidade do esperma, taxa de eclosão de larvas e a sobrevivência juvenil (WRIGHT, 1977; SACCHERI et al., 1998; CASSEL et al., 2001)

As populações de *C. flavipes* existentes atualmente no Brasil foram fundadas a partir de um grupo de indivíduos introduzidos há quase 40 anos, sem o relato de nenhuma nova inclusão de insetos de linhagem selvagem. Embora a reprodução seja aleatória dentro dessas populações formadas nas biofábricas, todos os indivíduos são aparentados, pois suas árvores genealógicas apresentam ancestrais comuns em algum ponto (GRIFFITHS et al., 2008). Dessa forma, pode-se considerar que a população brasileira de *C. flavipes*, embora dividida em sub-populações nos laboratórios de diferentes biofábricas, seja endogâmica no sentido de que há alguma probabilidade de um gene ser homozigoto por descendência, quando alelos homozigotos são transferidos dos pais para os descendentes através de gerações (GRIFFITHS et al., 2008).

3. MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram realizados no Laboratório de Biologia e Criação de Insetos (LBCI) do Departamento de Fitossanidade da Universidade Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho” – Campus Jaboticabal, sendo os insetos mantidos em sala climatizada com temperatura de $26 \pm 1^\circ\text{C}$, umidade relativa de $70 \pm 10\%$ e fotoperíodo de 12 h de luz/12 h de escuro.

3.1. Obtenção do material

O material biológico necessário para a realização dos experimentos foi obtido no Laboratório de Entomologia da Usina São Martinho, localizada na cidade de Pradópolis-SP, constituído por lagartas de *D. saccharalis* de terceiro ínstar, dieta artificial para alimentação das lagartas e massas de casulos de *C. flavipes*.

3.2. Formação e condução do grupo endogâmico de *Cotesia flavipes*

A criação de indivíduos endogâmicos foi iniciada a partir da produção massal de larga escala do laboratório de Entomologia da Usina São Martinho. Massas de casulos foram levadas ao LBCI e, assim que emergiram, os adultos de uma mesma massa de casulos foram separados em casais. A individualização dos casais garantiu que cada fêmea fosse isolada ainda virgem com um único macho irmão, assegurando, dessa forma, que a prole apresentasse características genéticas de apenas um casal. Posteriormente as fêmeas, então inseminadas, foram utilizadas para o parasitismo de lagartas de *D. saccharalis*. Da mesma forma, os descendentes desses casais também foram forçados a copular somente com indivíduos irmãos, que posteriormente parasitaram outras lagartas. A cada geração foram formados três lotes de 50

repetições, de acordo com o tamanho das massas de casulos. O primeiro lote se destinou às avaliações da biologia, o segundo aos testes de voo, morfometria e longevidade e o terceiro à manutenção da criação do grupo endogâmico.

Os experimentos foram realizados por dez gerações do parasitoide *C. flavipes*, sendo comparados os indivíduos provenientes da produção massal da Usina São Martinho (controle) com os indivíduos da criação obtida do cruzamento entre irmãos. A cada nova geração avaliada, um novo grupo controle também foi avaliado.

3.3. Parâmetros biológicos de *Cotesia flavipes*

Para os testes de avaliação dos parâmetros biológicos, após a emergência dos adultos, foram individualizados 50 casais do grupo endogâmico. Cada casal foi acondicionado em placa de Petri de 6 cm de diâmetro por 2,5 cm de altura, sem alimento. Após 24 horas uma lagarta de terceiro ínstar de *D. saccharalis* foi oferecida a cada uma das fêmeas individualmente e, em seguida, a lagarta parasitada foi acondicionada em placa de Petri com dieta artificial, sendo identificada na placa a procedência da fêmea que realizou o parasitismo.

Cada lagarta parasitada foi considerada uma repetição, deixada em condições controladas já citadas por mais ou menos 15 dias, até a formação das pupas de *C. flavipes* sobre o corpo do hospedeiro. Os casulos de *C. flavipes* foram conservados nas placas de Petri identificadas até a emergência dos adultos.

Do grupo da Biofábrica foram tomadas 50 amostras de massas de casulos do parasitoide com data de formação igual ao do grupo endogâmico, sendo, então mantidas, a partir daí, sob as mesmas condições de temperatura, fotofase e umidade relativa para posterior avaliação do período pupal.

Os descendentes adultos obtidos de cada repetição dos dois grupos foram contados, bem como as pupas inviáveis, para determinação da porcentagem de emergência dos adultos e razão sexual baseada no número de fêmeas (n° fêmeas/ n° total de adultos emergidos).

Esse procedimento e as avaliações foram conduzidos em cada geração até a décima para os dois grupos do parasitoide.

3.4. Sobrevivência dos adultos

Para avaliação da sobrevivência dos adultos, 20 casais recém-emergidos de ambos os grupos foram individualizados a cada geração. Os indivíduos foram mantidos em tubos de ensaio de fundo chato (2 cm de diâmetro x 8 cm de altura) vedados com plástico filme, sem alimento e sem água, sendo observados a cada oito horas a partir da emergência até a morte. Os insetos foram considerados mortos quando não apresentaram nenhum tipo de movimento.

As avaliações de sobrevivência de machos e fêmeas foram conduzidas em cada geração até a décima para os dois grupos do parasitoide.

3.5. Atividade de voo

A unidade-teste utilizada para determinação da atividade de voo foi adaptada daquela proposta por Hivizi et al. (2007) citados por Hivizi et al. (2009), e consistiu de um cilindro de PVC (20 cm de altura e 15 cm de diâmetro), com o interior forrado com cartolina preta. O fundo do cilindro foi vedado com um plástico flexível preto ajustado firmemente à parede interna por meio de um disco de espuma de 3,0 cm de altura, que também serviu como suporte ao tubo de ensaio contendo uma massa de casulos do parasitoide (com até 24 h após a formação das pupas). Para garantir a vedação e evitar a fuga de insetos, as bordas do plástico que sobraram para fora do cilindro foram fixadas à parede externa por elásticos. Na face interior foi pincelado um anel de cola na cartolina, a 6,0 cm da extremidade inferior da unidade. Sobre o recipiente foi acoplada uma placa de vidro com o diâmetro do cilindro e pincelada com cola entomológica BioControle® (Figura 3). À medida que os adultos emergiram, eles foram observados

diariamente por cinco dias, para assegurar que os indivíduos já estivessem mortos no momento de abertura das gaiolas ao final do teste. Para avaliação da atividade de voo foram contabilizados os números de parasitoides encontrados no fundo do recipiente (não voadores), os presos ao anel de cola (caminhadores) e os aderidos à tampa (voadores).

A localização das pupas dentro do tubo de ensaio e a distância do anel de cola foram essenciais para evitar erros de avaliação. Como o inseto apresenta o comportamento de caminhar imediatamente após emergir do casulo, mesmo antes de finalizar o processo de distensão das asas, o posicionamento da massa de casulos dentro do tubo de ensaio proporcionou distância suficiente até o anel de cola para que isso acontecesse sem que os adultos ficassem presos à barreira durante esse período, possibilitando que os indivíduos voadores tivessem oportunidade de ultrapassar o anel de cola.

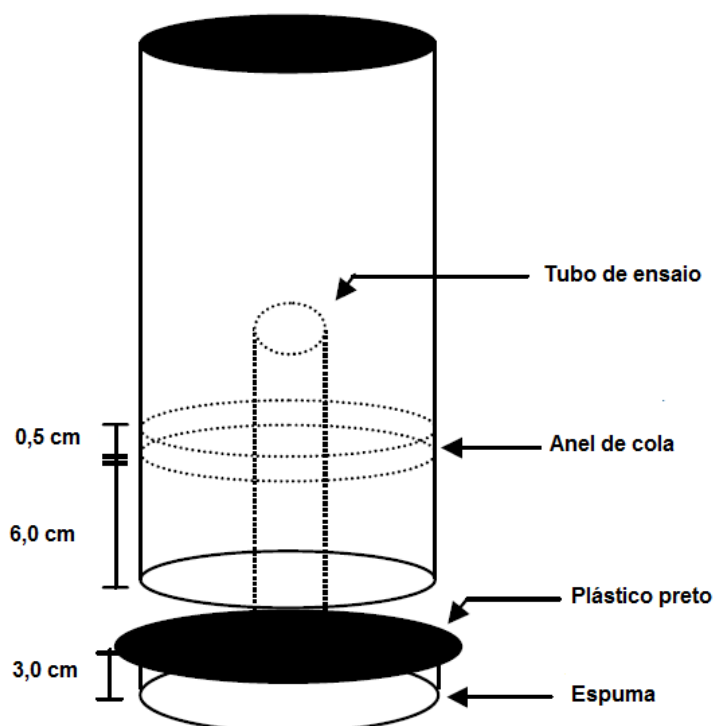


Figura 3. Modelo de recipiente para teste de atividade de voo de *Cotesia flavipes*, adaptado de Hiviziet al. (2007) citados por Hivizi et al. (2009).

Cada unidade-teste foi considerada uma repetição. Foram observadas cinco repetições para cada grupo de *C. flavipes*. As avaliações da atividade de voo dos parasitoides foram conduzidas em cada geração até a décima para os dois grupos do parasitoide.

3.6. Características morfométricas

Para verificar a ocorrência de mudanças morfológicas geradas por influência dos tratamentos, foram efetuadas medições das características morfométricas de adultos de *C. flavipes*. Foram utilizadas 10 fêmeas e 10 machos dos parasitoides, tomados ao acaso, determinando-se: comprimento do corpo, largura e comprimento da asa anterior direita e comprimento da tíbia posterior direita.

As medições foram realizadas em pontos homólogos dos insetos, com auxílio de estereomicroscópio modelo Zeiss Stemi DV4, com aumento de 12X e software MotiCam Plus, versão 2.0.

As avaliações das características morfométricas dos parasitoides foram conduzidas em cada geração até a décima para os dois grupos do parasitoide.

3.7. Capacidade de parasitismo

Para avaliação da capacidade de parasitismo foram individualizados 20 casais recém-emergidos de cada grupo. Após 8 horas de individualizados foram oferecidas as primeiras lagartas de 3º instar de *D. saccharalis* às fêmeas de *C. flavipes*, considerando este primeiro parasitismo como hora zero do ensaio. A partir daí, a cada duas horas foram oferecidas uma nova lagarta para cada fêmea, até a morte dos parasitoides. As lagartas parasitadas foram acondicionadas em placas de Petri com dieta artificial e identificação da fêmea que efetuou o parasitismo e o horário, sendo observadas até emergência das larvas do parasitoide. As massas de casulos formadas foram

conservadas nas placas de Petri até a emergência dos adultos. Os parasitoides recém-emergidos foram sacrificados por congelamento, identificados por sexo e contados. Avaliou-se o número médio de lagartas parasitadas / fêmea (porcentagem de parasitismo), o número de adultos emergidos e pupas inviáveis (porcentagem de emergência) e a razão sexual da prole de cada fêmea.

A capacidade de parasitismo foi realizada somente na décima geração do parasitoide para os dois grupos de *C. flavipes*.

3.8. Tabela de vida de fertilidade

Para elaboração de tabelas de vida de fertilidade, 20 casais recém emergidos de cada grupo foram individualizados em todos de ensaio (8 cm comprimento e 2 cm de diâmetro), sem alimento e sem água. Lagartas de terceiro ínstar do hospedeiro foram oferecidas às fêmeas de *C. flavipes* a cada 8 horas até a morte dos parasitoides. As lagartas parasitadas foram dissecadas após a formação das massas dos casulos de parasitoide, para verificar a existência de larvas remanescentes no interior da cavidade abdominal e, assim, estimar a sobrevivência durante a fase larval de *C. flavipes*.

Para a confecção de tabelas de vida de fertilidade foi avaliada a duração do período ovo-pupa, a sobrevivência em cada fase de desenvolvimento e a razão sexual dos parasitoides de cada um dos grupos.

Os parâmetros foram calculados de acordo com metodologia citada por Silveira Neto (1976), sendo: x = ponto médio de cada idade das fêmeas parentais ou valores de intervalos de idade, idade esta considerada desde a fase de ovo; lx = a expectativa de vida para idade x ; mx = fertilidade específica ou número de descendentes por fêmea produzidos na idade x . Os parâmetros de crescimento calculados foram: R_0 = taxa líquida de reprodução (ou seja, a taxa de aumento populacional a cada geração) ($\sum (mx.lx)$); T = duração média de uma geração ($(\sum mx.lx.x) / (\sum mx.lx)$); r_m = taxa intrínseca de crescimento ($\text{Log } R_0 / T * 0,04343$), e λ = taxa finita de crescimento ($\text{antilog } (r_m * 0,4343)$), definida pelo número de vezes que a população se multiplica por unidade de

tempo. Em adição a esses parâmetros, D_t , o tempo necessário para a população dobrar em número de indivíduos ($\ln(2) / r_m$), também foi determinado, de acordo com o método de Krebs (1994).

Os parâmetros de tabelas de vida de fertilidade foram estimados somente na décima geração do parasitoide para os dois grupos de *C. flavipes*.

3.9. Análise dos dados

Os dados das características biológicas (período pupal, porcentagem de adultos emergidos/massa, total de adultos emergidos/massa e razão sexual), morfométricas (comprimento do corpo, comprimento da tibia, largura da asa e comprimento da asa) e atividade de voo (porcentagem de adultos voadores, caminhadores e não voadores) e capacidade de parasitismo (parasitismo diário e acumulado) foram submetidos aos testes de Shapiro-Wilk (SHAPIRO; WILK, 1965) e Bartlett (SNEDECOR; COCHRAN, 1989), quanto à normalidade e homogeneidade de variância, respectivamente, e, quando necessário, foram realizadas transformações para atender aos requisitos da análise de variância (ANOVA). Posteriormente foi realizada a ANOVA para verificar as diferenças entre os efeitos principais (grupos e gerações) e a interação dos fatores (grupos x gerações) em esquema fatorial 2 x 10 (BARBIN, 2013). Quando ocorreu diferença significativa, o teste t de Student foi utilizado para comparações entre as populações e o teste de Tukey para comparações entre as gerações. Para todos os testes utilizou-se o software SAS (SAS INSTITUTE, 2002).

Além disso, foram elaboradas curvas utilizando-se os dados de sobrevivência na idade específica que foram comparadas de acordo com Kaplan e Meyer (1958), analisados utilizando-se o software SAS (SAS INSTITUTE, 2002).

Os parâmetros populacionais de tabela de vida de fertilidade foram estimados de acordo com o procedimento descrito por Maia et al. (2000) usando o software SAS (SAS INSTITUTE, 2002), que se baseia no método Jackknife para estimar os parâmetros, intervalos de confiança e permitir a comparação entre os tratamentos.

4. RESULTADOS

4.1. Parâmetros biológicos de *Cotesia flavipes*

O período pupal de *C. flavipes* foi significativo entre as gerações ($F_{10, 1011} = 212,63$; $P < 0,0001$) e entre os grupos ($F_{1, 1011} = 699,31$; $P < 0,0001$), no qual os adultos do grupo endogâmico apresentaram maior período pupal (6,2 dias). Além disso, ocorreu diferença na interação grupos x gerações ($F_{9, 1011} = 115,59$; $P < 0,0001$). A interação significativa indica que o período pupal de *C. flavipes* das populações estudadas varia com a geração do inseto.

A geração F1 do grupo endogâmico apresentou 3,9 dias para o período pupal, contrapondo com a geração F4, que apresentou maior duração, 7,8 dias ($F_{10, 539} = 168,07$; $P < 0,0001$). Para as massas oriundas da biofábrica o período pupal também foi significativo e variou de 3,8 dias na geração F3 a 7,0 dias na geração F8 ($F_{9, 490} = 156,90$; $P < 0,0001$) (Tabela 1).

Tabela 1. Período pupal de indivíduos de dois grupos de *Cotesia flavipes*.

Geração	Grupos	
	Endogâmico	Biofábrica
P	6,0 ± 0,00 f	-
F1	3,9 ± 0,03 h	5,0 ± 0,00 c*
F2	5,4 ± 0,15 g	6,0 ± 0,00 b*
F3	6,0 ± 0,00 f*	3,8 ± 0,05 f
F4	7,8 ± 0,09 a*	5,9 ± 0,13 b
F5	6,4 ± 0,08 cd*	4,6 ± 0,07 d
F6	6,1 ± 0,06 ef*	5,1 ± 0,10 c
F7	6,1 ± 0,07 def	5,9 ± 0,08 b
F8	7,4 ± 0,09 b*	7,0 ± 0,00 a
F9	6,6 ± 0,07 c*	5,1 ± 0,11 c
F10	6,4 ± 0,08 cde*	4,2 ± 0,11 e

¹Médias ± erro padrão; *indica diferença na linha e letras indicam diferença na coluna ($P < 0,05$).

A porcentagem de adultos emergidos de *C. flavipes* foi significativa entre as gerações ($F_{10, 1011} = 19,41$; $P < 0,0001$), mas não entre os grupos ($F_{1, 1011} = 1,24$; $P = 0,2650$), no qual a porcentagem de emergidos foi maior na geração F4 (42,1%). Além disso, ocorreu diferença na interação grupos x gerações ($F_{9, 1011} = 3,64$; $P = 0,0002$).

A porcentagem de adultos emergidos por massa de pupas no grupo da biofábrica apresentou valores que variaram de 59,5% na geração F1 (32,3 insetos/massa) a 80,8% na geração F9 (54,9 insetos/massa) ($F_{9, 470} = 13,82$; $P < 0,0001$), enquanto que no grupo endogâmico, a porcentagem de adultos emergidos variou de 38,1% na geração F4 (24,4 insetos/massa) a 81,9 na geração F2 (57,9 adultos/massa) ($F_{10, 539} = 15,59$; $P < 0,0001$) (Tabelas 2 e 3).

Tabela 2. Porcentagem de adultos emergidos por massa de dois grupos de *Cotesia flavipes*.

Geração	Grupos	
	Endogâmico	Biofábrica
P	70,9 ± 0,00 abc	-
F1	71,6 ± 2,89 ab*	59,5 ± 2,96 c
F2	81,9 ± 1,99 a*	72,6 ± 2,65 ab
F3	74,8 ± 2,74 ab	73,8 ± 2,58 ab
F4	38,1 ± 3,69 d	66,9 ± 4,55 abc*
F5	69,6 ± 3,07 abc	71,7 ± 3,00 abc
F6	62,9 ± 3,18 bc	66,3 ± 2,99 bc
F7	67,2 ± 2,83 bc	72,2 ± 3,02 abc
F8	57,6 ± 3,32 c	75,5 ± 1,80 ab*
F9	75,9 ± 2,71 ab	80,8 ± 2,02 a
F10	62,9 ± 2,89 bc*	43,9 ± 3,22 d

¹Médias ± erro padrão; *indica diferença na linha e letras indicam diferença na coluna ($P < 0,05$).

Tabela 3. Total de adultos emergidos por massa de pupas de dois grupos de *Cotesia flavipes*.

Geração	Grupos	
	Endogâmico	Biofábrica
P	57,0 ± 3,35 a	-
F1	50,5 ± 3,19 ab*	32,3 ± 2,31 b
F2	57,9 ± 3,24 a	56,8 ± 3,97 a
F3	55,5 ± 3,53 a	49,9 ± 3,73 a
F4	24,4 ± 2,73 c	30,2 ± 4,16 b
F5	55,5 ± 3,86 a	57,2 ± 3,76 a
F6	43,9 ± 3,85 ab	42,5 ± 3,87 ab
F7	55,9 ± 3,64 a	54,6 ± 4,25 a
F8	37,1 ± 2,65 bc	58,3 ± 3,17 a*
F9	44,7 ± 3,12 ab	54,9 ± 2,32 a*
F10	42,7 ± 3,42 ab*	31,5 ± 2,97 b

[†]Médias ± erro padrão; *indica diferença na linha e letras indicam diferença na coluna (P < 0,05).

Os adultos emergidos foram separados por sexo, sendo observado maior número de fêmeas em todas as gerações criadas em consanguinidade ($F_{10, 539} = 5,77$; $P < 0,0001$). Nas gerações F1, F5 e F7 o número de fêmeas foi significativamente maior no grupo criado em consanguinidade quando comparado com os valores das respectivas gerações do grupo criado massalmente na biofábrica (Tabela 4). Contudo, a média geral da razão sexual foi semelhante nos dois grupos, sendo 0,7 no endogâmico ($F_{10, 539} = 5,77$; $P < 0,0001$) e 0,61 no grupo da biofábrica ($F_{9, 471} = 6,18$; $P < 0,0001$).

Tabela 4. Razão sexual de indivíduos de dois grupos de *Cotesia flavipes*.

Geração	Grupos	
	Endogâmico	Biofábrica
P	0,8 ± 0,00 a	-
F1	0,7 ± 0,02 abcd*	0,5 ± 0,05 cd
F2	0,8 ± 0,01ab	0,7 ± 0,03 ab
F3	0,7 ± 0,02 abcd	0,7 ± 0,04 abc
F4	0,7 ± 0,03 bcd	0,8 ± 0,05 a
F5	0,7 ± 0,03 bcd*	0,6 ± 0,04 bcd
F6	0,6 ± 0,04 d	0,5 ± 0,04 d
F7	0,7 ± 0,02 bcd*	0,5 ± 0,05 d
F8	0,6 ± 0,04 cd	0,5 ± 0,03 cd
F9	0,7 ± 0,03 bcd	0,6 ± 0,03 abcd
F10	0,7 ± 0,02 abc	0,7 ± 0,04 abc

¹Médias ± erro padrão; *indica diferença na linha e letras indicam diferença na coluna (P < 0,05).

4.2. Sobrevivência de adultos

Os machos endogâmicos na geração F2 sobreviveram por mais tempo (Figura 4). Após 65 horas, apenas 5% dos indivíduos do grupo da biofábrica permaneciam vivos, enquanto que no mesmo período a sobrevivência do grupo endogâmico foi de 80% (GL= 1; $X^2 = 10,5503$; P= 0,0012).

Para a sobrevivência de machos na geração F3, próximo de 50 horas, a porcentagem de indivíduos vivos no grupo da biofábrica foi de 15%, enquanto que no endogâmico, no mesmo período, cerca de 80% dos indivíduos ainda permaneciam vivos (GL= 1; $X^2 = 11,0585$; P= 0,0009). Todavia, observou-se brusca queda na porcentagem de adultos endogâmicos vivos entre 50 e 65 horas, sendo constatada a morte de 100% dos indivíduos após 65 horas, de ambos os grupos (Figura 4).

Na geração F7 a sobrevivência de indivíduos machos também foi significativa (GL= 1; $X^2 = 12,5116$; P= 0,0004); próximo de 50 horas a porcentagem de sobreviventes

foi de 80% no grupo endogâmico, enquanto que no mesmo período foi de apenas 5% para o da biofábrica (Figura 4).

Foi na geração F8 que se observou a maior diferença para a sobrevivência de machos entre os grupos (GL= 1; $X^2= 34,9683$; $P < 0,0001$). Após 40 horas 100% dos machos da biofábrica já estavam mortos, enquanto 80% dos indivíduos endogâmicos permaneciam vivos. Para o grupo endogâmico, 100% de mortalidade foi observado após 80 horas (Figura 4).

Nas gerações F1, F6, F9 e F10 não houve diferença significativa para a sobrevivência de indivíduos machos entre os grupos (Figura 4).

Com relação à sobrevivência das fêmeas ocorreu diferença na geração F2 (GL = 1; $X^2 = 6,0395$; $P = 0,0140$) (Figura 5), com queda na porcentagem de sobreviventes de 100% para 50% do grupo da biofábrica entre 25 e 35 horas, e após 90 horas foi registrada a mortalidade de todos os indivíduos. Para os endogâmicos 50% de sobreviventes foram observados com 60 horas e mortalidade de todos os indivíduos após 115 horas.

Na geração F4, enquanto a porcentagem de fêmeas vivas do grupo endogâmico foi próxima de 85% com 40 horas, para as fêmeas da biofábrica foi de 50% no mesmo período (GL = 1; $X^2 = 13,9707$; $P = 0,0002$). A mortalidade de todas as fêmeas foi observada após 55 horas, nos dois grupos (Figura 5).

Novamente a geração F8 se destacou quanto à discrepância em relação às porcentagens de sobrevivência das fêmeas entre os grupos (GL = 1; $X^2 = 34,8670$; $P < 0,0001$). Assim, enquanto 100% das fêmeas da biofábrica já estavam mortas após 40 horas, ainda havia 90% de fêmeas sobreviventes no grupo endogâmico, que só apresentou 100 % de mortalidade após 90 horas.

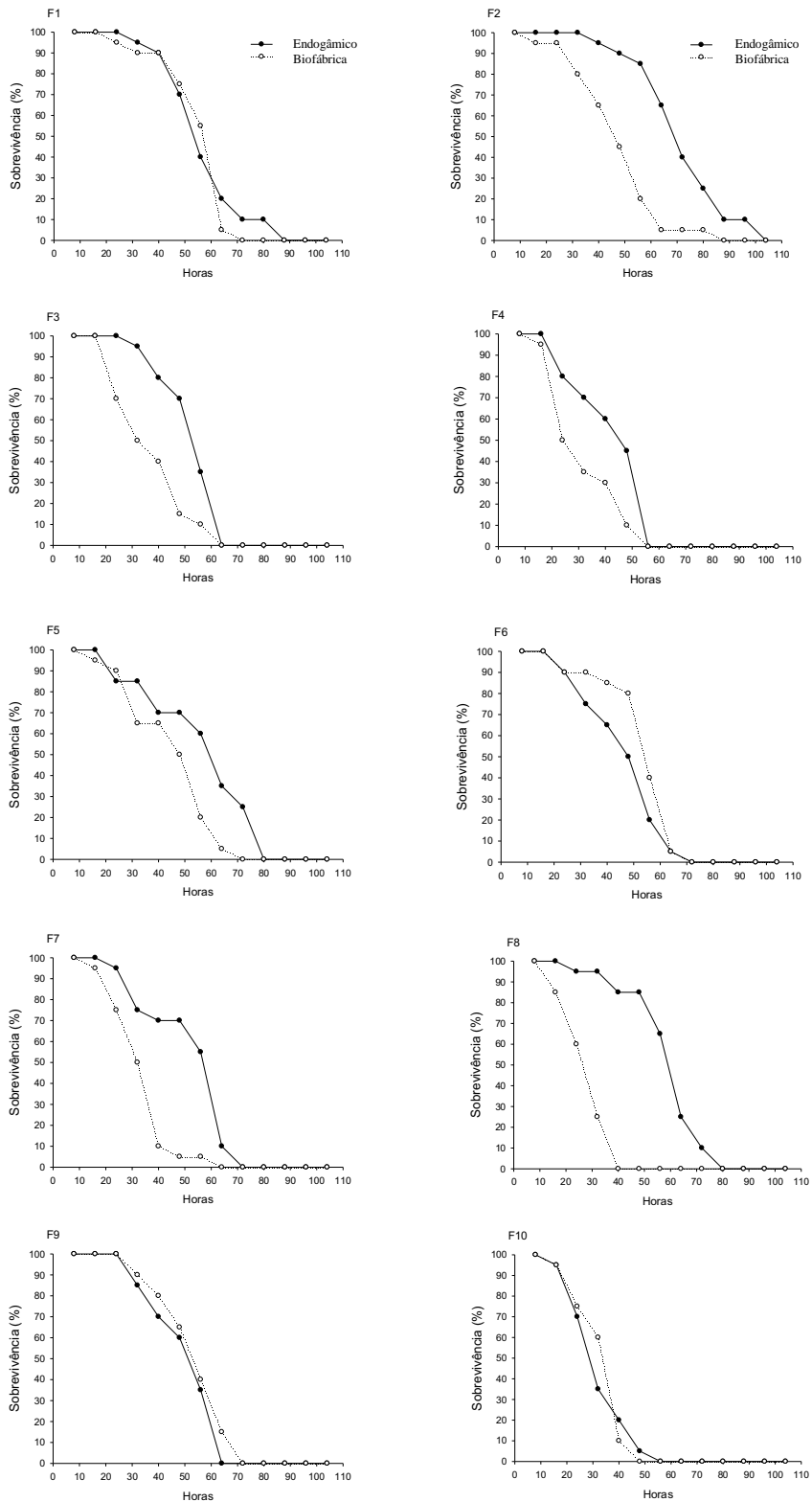


Figura 4. Sobrevivência de machos de *Cotesia flavipes* de grupos submetidos e não submetidos à endogamia.

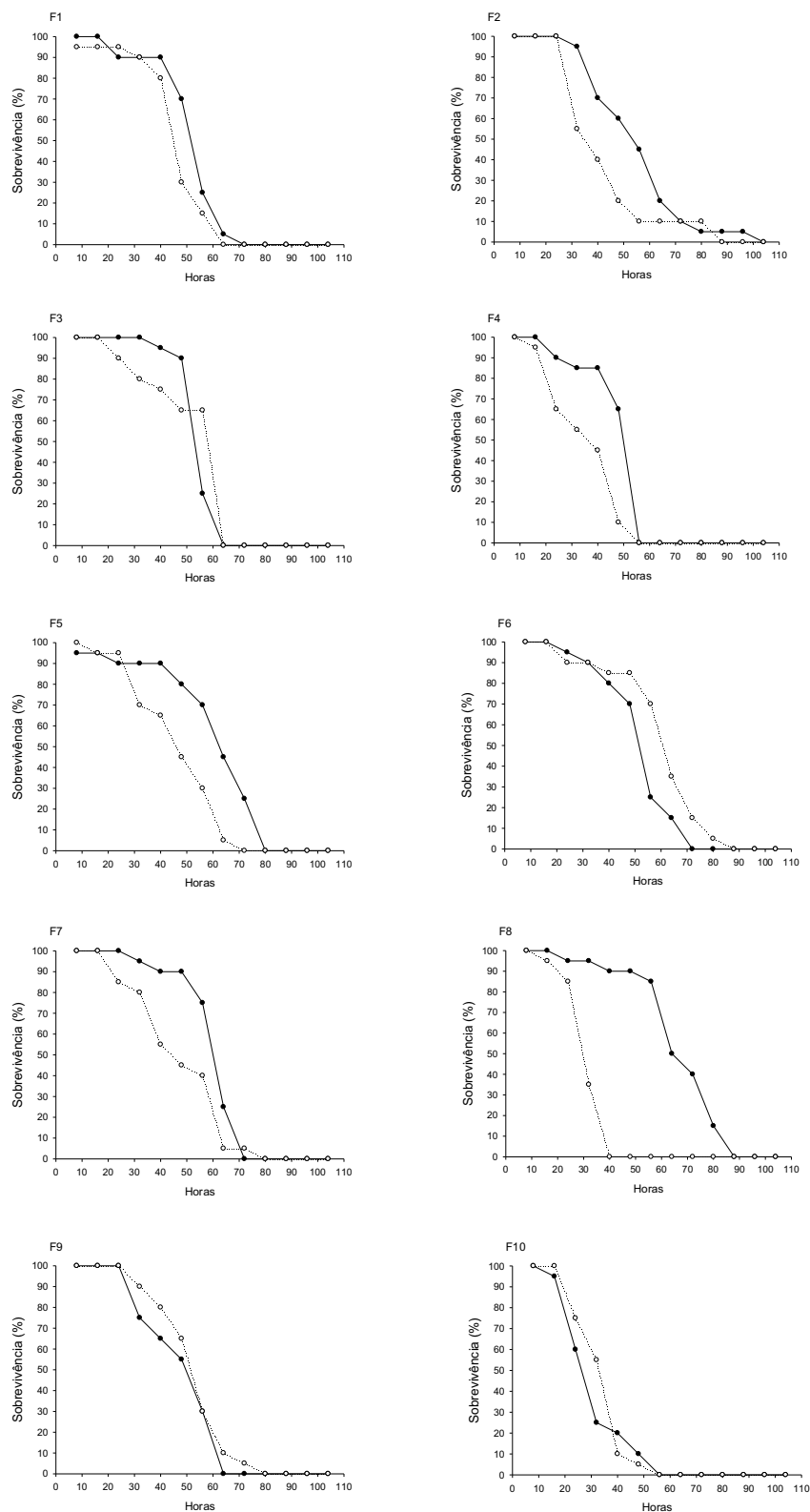


Figura 5. Sobrevivência de fêmeas de *Cotesia flavipes* de grupos submetidos e não submetidos à endogamia.

4.3. Atividade de voo

Ocorreu diferença significativa para a atividade de voo entre as gerações avaliadas (caminhadores: $F_{9,76} = 8,16$; $P < 0,0001$; voadores: $F_{9,76} = 8,07$; $P < 0,0001$; não voadores: $F_{9,76} = 3,27$; $P = 0,0021$), mas não entre os grupos (caminhadores: $F_{1,76} = 2,94$; $P = 0,0903$; voadores: $F_{1,76} = 3,53$; $P = 0,0643$; não voadores: $F_{1,76} = 0,86$; $P = 0,3580$). A interação grupos x gerações foi significativa para os insetos caminhadores ($F_{8,76} = 3,47$; $P = 0,0019$), voadores ($F_{8,76} = 2,28$; $P = 0,0306$) e não significativa para os não voadores ($F_{8,76} = 0,80$; $P = 0,6067$). De forma geral, as porcentagens de insetos presentes em cada categoria foram: grupo endogâmico – 19% caminhadores, 46,5% voadores e 25,46% não voadores; grupo da biofábrica – 27% caminhadores, 39% voadores e 32,8% não voadores.

O grupo endogâmico apresentou maior porcentagem de caminhadores nas gerações F2 e F3 ($F_{10, 43} = 5,66$; $P < 0,0001$), entretanto, o da biofábrica apresentou maior porcentagem de caminhadores nas gerações F5 e F6 ($F_{8, 35} = 4,38$; $P = 0,0010$) (Tabela 5). Ao longo das gerações ocorreram variações de 2,6 a 47,5% e de 1,8 a 47,4% de insetos caminhadores para os grupos endogâmico e da biofábrica, respectivamente.

Na categoria “voadores” houve diferença significativa entre as gerações, sendo que a F10 apresentou os menores valores nos dois grupos. Comparativamente, o endogâmico foi a que apresentou maior porcentagem de insetos voadores nas gerações P, F2 e F5 ($F_{8, 36} = 8,20$; $P < 0,0001$), enquanto que o da biofábrica teve maior porcentagem de insetos voadores na geração F2 ($F_{10,44} = 4,42$; $P = 0,0003$) (Tabela 5).

Na categoria “não voadores” não ocorreu diferença significativa entre as gerações para o grupo endogâmico ($F_{10, 44} = 1,05$; $P = 0,4207$), bem como entre os grupos ($F_{1, 76} = 0,86$; $P = 0,3580$) (Tabela 5).

Na quarta geração, o material obtido da criação da biofábrica para condução dos testes de voo apresentou problemas, sendo as pupas obtidas inviáveis, não havendo, portanto, emergência de adultos de nenhuma massa de pupas.

Tabela 5. Porcentagens (média \pm EP) de adultos de *Cotesia flavipes* caminhadores, voadores e não voadores em teste de voo em condições de laboratório.

	Caminhadores			Voadores			Não voadores		
	Endogâmico	Biofábrico		Endogâmico	Biofábrico		Endogâmico	Biofábrico	
P	9,7 \pm 3,02 cd	-		63,9 \pm 6,66 a	-		26,3 \pm 5,68 a	-	
F1	15,8 \pm 5,37 bcd	25,8 \pm 5,15 abc		61,6 \pm 8,19 ab	50,9 \pm 5,10 ab		22,5 \pm 6,37 a	23,3 \pm 2,52 ab	
F2	13,4 \pm 4,88 bcd*	1,8 \pm 1,04 c		65,2 \pm 7,34 a	68,3 \pm 2,94 a		21,4 \pm 2,84 a	29,8 \pm 2,45 ab	
F3	47,5 \pm 6,37 a*	24,3 \pm 6,13 abc		29,2 \pm 8,59 bc	58,8 \pm 4,79 ab*		23,2 \pm 4,52 a	16,9 \pm 2,75 b	
F4	39,4 \pm 6,14 ab	-		31,4 \pm 6,51 abc	-		29,2 \pm 8,61 a	-	
F5	2,6 \pm 1,18 d	21,1 \pm 7,75 abc*		64,3 \pm 5,26 a*	41,7 \pm 7,19 abc		33,1 \pm 5,23 a	37,3 \pm 8,27 ab	
F6	21,1 \pm 2,37 abcd	39,6 \pm 3,55 ab*		47,6 \pm 7,09 abc	38,4 \pm 7,87 bc		31,3 \pm 5,74 a	23,7 \pm 5,79 ab	
F7	15,0 \pm 2,36 bcd	15,6 \pm 2,86 bc		56,9 \pm 6,93 abc	41,8 \pm 8,49 abc		28,1 \pm 3,80 a	42,6 \pm 6,53 ab	
F8	21,8 \pm 6,46 abcd	26,4 \pm 7,49 abc		51,6 \pm 4,61 abc	37,3 \pm 8,60 bc		26,5 \pm 2,49 a	36,3 \pm 69,01 ab	
F9	21,7 \pm 5,47 abcd	47,4 \pm 10,41 a		39,8 \pm 5,29 abc*	15,5 \pm 6,15 c		38,5 \pm 3,33 a	37,1 \pm 5,71 ab	
F10	35,3 \pm 10,2 abc	39,5 \pm 7,40 ab		25,6 \pm 10,5 c	12,1 \pm 3,18 c		39,1 \pm 10,6 a	48,3 \pm 8,3 a	

* indica diferença entre os grupos; letras diferentes na coluna indicam diferença entre as gerações.

4.4. Características morfométricas

O comprimento do corpo de *C. flavipes* foi semelhante entre as gerações ($F_{10, 189} = 1,29$; $P = 0,2364$), mas significativamente diferente entre os grupos ($F_{1, 189} = 33,02$; $P < 0,0001$), no qual os adultos do grupo endogâmico apresentaram maior tamanho (1,7 mm) do que os adultos da biofábrica (1,6 mm). Além disso, ocorreu diferença na interação grupos x gerações ($F_{9, 189} = 4,37$; $P < 0,0001$).

Os indivíduos do grupo endogâmico apresentaram o comprimento do corpo de machos maior nas gerações F2, F3 e F10, sendo até 0,3 mm maiores do que os machos da biofábrica. As fêmeas endogâmicas apresentaram o comprimento do corpo maior nas gerações F4, F6, F7 e F10. Vale ressaltar que essas diferenças não ocorreram linearmente, de forma que não é possível inferir que a endogamia influenciou o tamanho do corpo de *C. flavipes* até a décima geração do inseto (Tabela 6).

Tabela 6. Comprimento do corpo (mm) de adultos de *Cotesia flavipes* (média \pm EP) de dois grupos criados em condições de laboratório.

Geração	Machos		Fêmeas	
	Endogâmico	Biofábrica	Endogâmico	Biofábrica
F1	1,7 \pm 0,04 a	1,7 \pm 0,02 a	1,6 \pm 0,03 a	1,7 \pm 0,02 a
F2	1,8 \pm 0,03 a*	1,5 \pm 0,05 b	1,8 \pm 0,04 a	1,5 \pm 0,06 b
F3	1,7 \pm 0,04 a*	1,6 \pm 0,04 ab	1,7 \pm 0,04 a	1,6 \pm 0,06 ab
F4	1,7 \pm 0,04 a	1,7 \pm 0,04 a	1,8 \pm 0,04 a*	1,6 \pm 0,05 ab
F5	1,7 \pm 0,04 a	1,6 \pm 0,05 ab	1,6 \pm 0,04 a	1,6 \pm 0,05 ab
F6	1,8 \pm 0,04 a	1,6 \pm 0,05 ab	1,7 \pm 0,02 a*	1,6 \pm 0,03 ab
F7	1,8 \pm 0,02 a	1,5 \pm 0,04 b	1,8 \pm 0,03 a*	1,5 \pm 0,04 a
F8	1,7 \pm 0,03 a	1,7 \pm 0,03 a	1,8 \pm 0,03 a	1,7 \pm 0,02 a
F9	1,8 \pm 0,14 a	1,7 \pm 0,04 a	1,6 \pm 0,02 a	1,7 \pm 0,03 a
F10	1,8 \pm 0,02 a*	1,6 \pm 0,05 ab	1,7 \pm 0,04 a*	1,6 \pm 0,04 ab

* indica diferença entre os grupos; letras diferentes na coluna indicam diferença entre as gerações.

O comprimento da tíbia posterior de adultos de *C. flavipes* foi significativo entre as gerações ($F_{10, 189} = 0,29$; $P = 0,0311$), mas não apresentou diferença significativa entre os grupos ($F_{1, 189} = 0,29$; $P = 0,5938$). Também foi constatada diferença significativa para a interação grupos x gerações ($F_{9, 189} = 3,02$; $P = 0,0033$) (Tabela 7).

Somente algumas diferenças pontuais, com relação ao comprimento da tíbia, puderam ser observadas entre os tratamentos. O tamanho da tíbia dos machos foi 0,1 mm maior para os indivíduos do grupo da biofábrica na geração F1. Porém, nas gerações F2, F7 e F10 as medidas foram maiores para os indivíduos endogâmicos. As fêmeas apresentaram diferença no comprimento da tíbia posterior apenas na geração F7, sendo maior para as endogâmicas (Tabela 7).

Tabela 7. Comprimento da tíbia posterior (mm) de adultos de *Cotesia flavipes* (média \pm EP) de dois grupos criados em condições de laboratório.

Geração	Machos		Fêmeas	
	Endogâmico	Biofábrica	Endogâmico	Biofábrica
F1	0,4 \pm 0,01 a	0,5 \pm 0,01 a*	0,4 \pm 0,01 c	0,5 \pm 0,01 a
F2	0,5 \pm 0,01 a*	0,4 \pm 0,01 bc	0,4 \pm 0,02 abc	0,4 \pm 0,01 a
F3	0,5 \pm 0,01 a	0,5 \pm 0,01 abc	0,4 \pm 0,01 abc	0,4 \pm 0,01 a
F4	0,5 \pm 0,02 a	0,5 \pm 0,01 a	0,5 \pm 0,01 ab	0,4 \pm 0,01 a
F5	0,5 \pm 0,01 a	0,5 \pm 0,01 ab	0,4 \pm 0,01 abc	0,4 \pm 0,01 a
F6	0,5 \pm 0,01 a	0,5 \pm 0,01 ab	0,4 \pm 0,01 abc	0,4 \pm 0,01 a
F7	0,5 \pm 0,01 a*	0,4 \pm 0,01 c	0,5 \pm 0,01a*	0,4 \pm 0,01 a
F8	0,5 \pm 0,01 a	0,4 \pm 0,01 a	0,4 \pm 0,01 abc	0,4 \pm 0,01 a
F9	0,5 \pm 0,01 a	0,5 \pm 0,01 a	0,4 \pm 0,01 abc	0,4 \pm 0,01 a
F10	0,5 \pm 0,01 a*	0,4 \pm 0,01 ab	0,4 \pm 0,01 abc	0,4 \pm 0,01 a

* indica diferença entre os grupos; letras diferentes na coluna indicam diferença entre as gerações.

Com relação à largura da asa anterior direita de *C. flavipes*, verificou-se diferença significativa entre as gerações ($F_{10, 189} = 2,86$; $P = 0,0025$), entre os grupos ($F_{1, 189} = 7,50$; $P = 0,0067$), bem como na interação grupos x gerações ($F_{9, 189} = 3,87$; P

= 0,0002). A maior média para a largura da asa foi observada para o grupo endogâmico (0,50 mm) e para a geração F1 (0,53 mm).

Os indivíduos machos apresentaram maiores larguras da asa na geração F1 para o grupo da biofábrica (0,6 mm) ($F_{1,18} = 22,95$; $P < 0,0001$). Porém, nas gerações F2 ($F_{1,18} = 7,94$; $P = 0,0114$), F7 ($F_{1,18} = 165,46$; $P < 0,0001$), F8 ($F_{1,18} = 7,43$; $P = 0,0139$) e F10 ($F_{1,18} = 5,64$; $P = 0,0288$) as maiores larguras de asas foram observadas nos indivíduos endogâmicos. As fêmeas endogâmicas apresentaram maiores larguras de asa nas gerações F4 ($F_{1,18} = 4,86$; $P = 0,0408$), F7 ($F_{1,18} = 30,64$; $P < 0,0001$) e F10 ($F_{1,18} = 36,05$; $P < 0,0001$) (Tabela 8).

Tabela 8. Largura da asa anterior (mm) de adultos de *Cotesia flavipes* (média \pm EP) de dois grupos criados em condições de laboratório.

Geração	Machos		Fêmeas	
	Endogâmico	Biofábrica	Endogâmico	Biofábrica
F1	0,5 \pm 0,01 c	0,6 \pm 0,01 a*	0,5 \pm 0,04 a	0,5 \pm 0,01 a
F2	0,6 \pm 0,01 abc*	0,5 \pm 0,01 b	0,5 \pm 0,01 a	0,4 \pm 0,01 c
F3	0,5 \pm 0,01 abc	0,5 \pm 0,01 b	0,5 \pm 0,01 a	0,5 \pm 0,01 bc
F4	0,5 \pm 0,01 abc	0,5 \pm 0,01 b	0,5 \pm 0,01 a*	0,4 \pm 0,02 bc
F5	0,6 \pm 0,01 a	0,5 \pm 0,01 b	0,5 \pm 0,02 a	0,5 \pm 0,01 bc
F6	0,5 \pm 0,01 abc	0,5 \pm 0,01 ab	0,5 \pm 0,01 a	0,5 \pm 0,01 bc
F7	0,6 \pm 0,01 a*	0,5 \pm 0,01 b	0,5 \pm 0,01 a*	0,4 \pm 0,01 c
F8	0,6 \pm 0,01 ab*	0,5 \pm 0,01 ab	0,5 \pm 0,01 a	0,5 \pm 0,01 ab
F9	0,5 \pm 0,01 bc	0,5 \pm 0,01 ab	0,5 \pm 0,05 a	0,5 \pm 0,03 bc
F10	0,6 \pm 0,01 abc*	0,5 \pm 0,01 b	0,5 \pm 0,01 a*	0,4 \pm 0,01 bc

* indica diferença entre os grupos; letras diferentes na coluna indicam diferença entre as gerações.

O comprimento da asa anterior de *C. flavipes* foi significativo entre as gerações ($F_{10, 189} = 2,27$; $P = 0,0158$), mas não apresentou diferença significativa entre os grupos ($F_{1, 189} = 3,51$; $P = 0,0626$). Os maiores valores para o comprimento da asa foram observados na geração P (1,41 mm). Também ocorreu diferença significativa para a interação grupos x gerações ($F_{9, 189} = 7,97$; $P < 0,0001$).

O comprimento da asa de machos de *C. flavipes* foi maior para os indivíduos da biofábrica na geração F1 ($F_{1,18} = 5,24$; $P = 0,0344$). Porém, nas gerações F2 ($F_{1,18} = 8,68$; $P = 0,0087$), F7 ($F_{1,18} = 53,43$; $P < 0,0001$) e F10 ($F_{1,18} = 15,14$; $P = 0,0011$) asas mais longas foram observadas nos machos endogâmicos, sendo até 0,2 mm maiores. O comprimento das asas das fêmeas foram maiores para indivíduos da biofábrica nas gerações F1 ($F_{1,18} = 20,66$; $P = 0,0003$) e F9 ($F_{1,18} = 4,92$; $P = 0,0397$), e para indivíduos do grupo endogâmico nas gerações F2 ($F_{1,18} = 25,22$; $P < 0,0001$), F7 ($F_{1,18} = 5,22$; $P = 0,0347$) e F10 ($F_{1,18} = 17,77$; $P = 0,0005$) (Tabela 9).

Tabela 9. Comprimento da asa anterior (mm) de adultos (média \pm EP) de *Cotesia flavipes* de dois grupos criados em condições de laboratório.

	Machos		Fêmeas	
	Endogâmico	Biofábrica	Endogâmico	Biofábrica
F1	1,4 \pm 0,02 a	1,5 \pm 0,02 a*	1,3 \pm 0,03 bc	1,5 \pm 0,02 a*
F2	1,5 \pm 0,02 a*	1,3 \pm 0,03 bc	1,4 \pm 0,02 a*	1,2 \pm 0,02 c
F3	1,4 \pm 0,05 a	1,4 \pm 0,03 abc	1,3 \pm 0,02 abc	1,4 \pm 0,03 abc
F4	1,4 \pm 0,02 a	1,4 \pm 0,02 abc	1,4 \pm 0,03 abc	1,3 \pm 0,04 bc
F5	1,4 \pm 0,03 a	1,4 \pm 0,03 abc	1,4 \pm 0,02 ab	1,3 \pm 0,04 bc
F6	1,4 \pm 0,03 a	1,4 \pm 0,03 abc	1,3 \pm 0,02 bc	1,4 \pm 0,01 abc
F7	1,4 \pm 0,01 a*	1,3 \pm 0,02 c	1,4 \pm 0,02 abc*	1,3 \pm 0,02 bc
F8	1,4 \pm 0,03 a	1,4 \pm 0,01 ab	1,4 \pm 0,02 abc	1,4 \pm 0,02 ab
F9	1,4 \pm 0,03 a	1,4 \pm 0,02 abc	1,2 \pm 0,02 c	1,3 \pm 0,01 bc*
F10	1,4 \pm 0,02 a*	1,3 \pm 0,03 bc	1,4 \pm 0,01 ab*	1,3 \pm 0,02 bc

* indica diferença entre os grupos; letras diferentes na coluna indicam diferença entre as gerações.

4.5. Capacidade de parasitismo

O número de lagartas parasitadas não variou significativamente entre as populações. Observou-se média de parasitismo de aproximadamente 0,2 lagartas por fêmea por hora em ambos os tratamentos. Entretanto, as fêmeas endocruzadas apresentaram picos de parasitismo com 2, 4 e 14 horas, quando as médias de parasitismo subiram para 0,4 lagartas parasitadas por fêmea (Figura 6). As fêmeas da

biofábrica apresentaram o mesmo aumento no número médio de lagartas parasitadas, porém com 6 e 8 horas (Figura 6). Para ambos os tratamentos, o último registro de parasitismo se deu com 22 horas do início do ensaio.

O parasitismo acumulado calculado para os tratamentos demonstrou que, fêmeas oriundas da população da biofábrica parasitaram em média duas lagartas durante a vida, enquanto que nas endogâmicas essa média variou de 2 a 3 lagartas por fêmea (Figura 6).

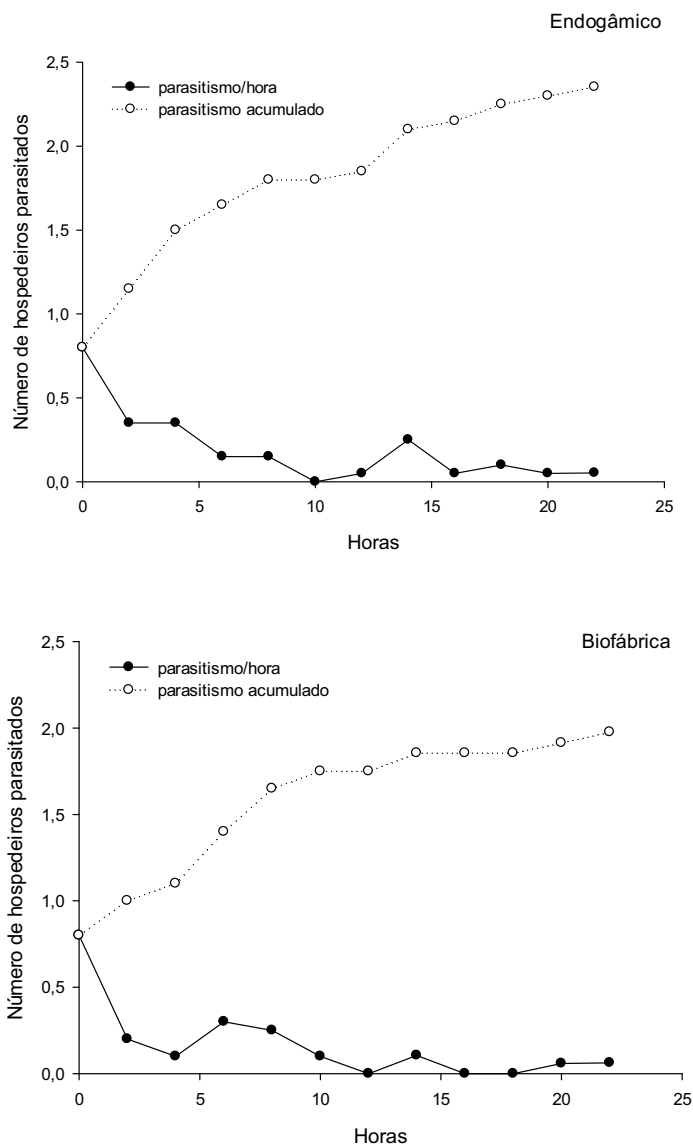


Figura 6. Parasitismo realizado por fêmeas de *Cotesia flavipes* de dois grupos criados em condições de laboratório.

4.6. Tabela de vida de fertilidade

A fase adulta das fêmeas de *Cotesia flavipes* do grupo endogâmico iniciou-se com 408 horas, período este considerado desde o início do desenvolvimento do inseto. A primeira oviposição aconteceu com 416 horas, quando foram oferecidas as primeiras lagartas de *D. saccharalis* para o parasitismo. Nessa idade (x), havia 65% de indivíduos sobreviventes no grupo (lx) e foram observados, em média, 18 descendentes fêmeas produzidos por fêmea (mx) (Figura 7). Entretanto, logo nas próximas horas ocorreu drástica queda da produção de descendentes. Com 430 horas, ocorreu mais um pico de produção de descendentes, sendo esse número reduzido a cinco por fêmea.

Em relação à população da biofábrica, o início da vida adulta se deu com 432 horas do início do ciclo biológico do inseto, sendo a primeira postura realizada com 440 horas, quando foram oferecidos os primeiros hospedeiros. Nessa idade, a porcentagem de sobrevivência das fêmeas foi próxima de 43%, porém a produção de descendentes atingiu 20 indivíduos fêmeas por fêmea. Nas horas subsequentes, ocorreu brusca queda de produção de descendentes, e apenas mais dois picos foram observados, sendo um com 448 horas (8 descendentes fêmeas/fêmea) e um último com 454 horas (2 descendentes fêmeas/fêmea) (Figura 7).

A taxa líquida de reprodução (R_0), que mostra o número de vezes que a população aumenta a cada geração, foi significativamente maior para o grupo endogâmico, indicando que as fêmeas oriundas deste tratamento produziram maior número médio de descendentes fêmeas do que as fêmeas oriundas da biofábrica (32,7 e 17,9, respectivamente) (Tabela 10).

De maneira oposta, os outros parâmetros de crescimento não apresentaram diferença significativa. Os valores obtidos para a taxa intrínseca de aumento populacional (r_m) e a razão finita de aumento (λ) foram muito próximos para os dois grupos analisados (1,010 para o endogâmico e 1,001 para a da biofábrica). Assim como, também, o tempo médio de duração de uma geração (T) e o tempo necessário

para a população dobrar em número de indivíduos (Dt) que não apresentaram diferenças significativas (Tabela 10).

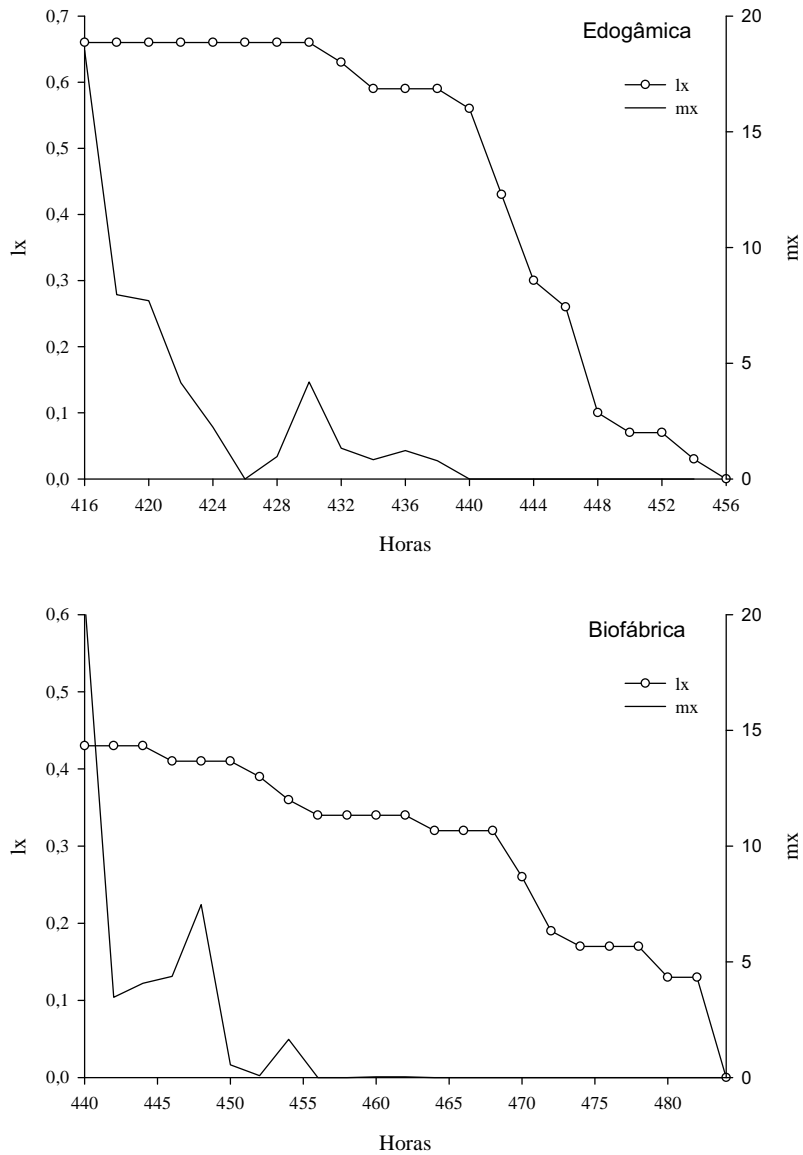


Figura 7. Número médio de descendentes por fêmea (mx) e taxa de sobrevivência (lx) de dois grupos de *Cotesia flavipes*

Tabela 10. Parâmetros de tabela de vida de fertilidade (média \pm IC) de *Cotesia flavipes* após a criação de dois grupos do parasitoide por dez gerações em laboratório.

Parâmetros (em horas)	Grupos	
	Endogâmico	Biofábrica
R_0	32,7 \pm 5,18*	17,9 \pm 3,33
r_m	0,010 \pm 0,0004	0,008 \pm 0,0005
λ	1,010 \pm 0,0004	1,001 \pm 0,0005
T	350,6 \pm 1,24	369,3 \pm 1,19
Dt	69,6 \pm 3,05	88,6 \pm 5,62

*indica diferença pelo test t de Student ($P < 0,05$).

R_0 = taxa líquida de reprodução

r_m = taxa intrínseca de crescimento

λ = taxa finite de crescimento

T= duração media de uma geração

Dt= tempo necessário para a população dobrar em número de indivíduos

5. DISCUSSÃO

A severidade com que os efeitos da endogamia se revelam numa população está muito relacionada ao tipo de reprodução de uma espécie (HENTER, 2003). Em grupos haplodiploides, como os hymenópteros, os efeitos da perda de variabilidade genética através de cruzamentos consanguíneos parecem ser mais brandos devido à composição genética dos gêneros (HENTER, 2003). Como nesse grupo as fêmeas são heterozigotas para o locus responsável pela determinação sexual e os machos são hemizigotos para o mesmo locus, a carga genética recessiva escondida na heterozigosidade da fêmea é completamente expressa pelo macho. Dessa forma, os alelos recessivos deletérios expressos pelos machos podem ser submetidos à seleção do ambiente e eliminados da população, diminuindo assim os efeitos deletérios da endogamia (CROZIER, 1985; WERREN, 1993; ANTOLIN, 1999).

Henter (2003) reuniu 45 estudos de 25 espécies diferentes entre diploides e haplodiploides, e, em uma meta-análise, comparou a diferença dos efeitos da endogamia nesses dois grupos. Os resultados demonstraram que os efeitos da depressão endogâmica são mais severos na fecundidade e na sobrevivência dos adultos das espécies diploides do que nas espécies haplodiploides. Werren (1993) sugere que em condições ecológicas que imponham a ocorrência de cruzamentos consanguíneos, como baixa densidade populacional, espécies haplodiploides tem maior probabilidade de sobreviver à transição da exogamia para a endogamia do que espécies diploides.

Além da vantagem oferecida pela haplodiploidia na eliminação de alelos deletérios, os hymenópteros apresentam ampla variedade no sistema de acasalamento, variando de cruzamentos restritos entre irmãos a cruzamentos aleatórios entre os indivíduos da população (GODFRAY; COOK, 1997). Em populações naturalmente endogâmicas é esperado um baixo nível de depressão genética por endogamia, uma vez que a ampla expressão dos alelos deletérios permite a eliminação desses genes da população (HENTER, 2003).

A distribuição do hospedeiro e o hábito larval do parasitoide têm grande influência na frequência com que a endogamia pode ocorrer naturalmente. Segundo Godfray (1994) e Henter (2003), espera-se que em espécies de parasitoides gregários ocorra maior frequência de cruzamentos consanguíneos do que espécies solitárias. Um bom exemplo é visto em *Cotesia glomerata* (Linnaeus, 1758) (Hymenoptera: Braconidae), cujo hospedeiro natural (*Pieris brassicae* (Linnaeus, 1758) (Lepidoptera: Pieridae)) apresenta distribuição isolada, porém a ocorrência de endocruzamentos não é rara para este parasitoide (TAGAWA; KITANO, 1981). Os machos dessa espécie tipicamente emergem antes das fêmeas e cerca de 70% de todos os machos permanecem próximos do local de emergência (GU; DORN, 2003), esperando para acasalar com suas irmãs (ELIAS; DORN; MAZZI, 2010). Arakaki e Gahana (1986) observaram que *C. flavipes* também apresenta altas taxas de cruzamentos consanguíneos logo após sua emergência e Niyibigira, Overholt e Stauthamer (2004a) sugeriram que esse comportamento acontece regularmente na espécie.

A distribuição agregada do hospedeiro permite que uma única fêmea deposite múltiplas posturas em diferentes hospedeiros, pois a proximidade deles favorece condições para a ocorrência de cruzamentos entre parasitoides aparentados (MA et al., 2013). Além disso, os custos e riscos pela procura de um parceiro a longa distância podem ser evitados ao se acasalar com parceiros próximos ao local de emergência (STAHLHUT; COWAN, 2004). Em estudos iniciais com *C. flavipes*, no Peru, foi observado que o número médio de oviposições que uma fêmea conseguiria realizar em laboratório foi próximo de cinco (CUEVA; AYQUIPA; MESCUA, 1980). Esse valor foi próximo do encontrado por Campos-Farinha e Chaud-Netto (2000), que observaram que fêmeas de *C. flavipes* foram capazes de parasitar entre quatro e nove lagartas de *D. saccharalis*, dependendo do tamanho do hospedeiro. Outros autores observaram que a capacidade de parasitismo desse inseto varia entre duas e três lagartas hospedeiras por fêmea (WIEDENMANN; SMITH; DARNELL, 1992; POTTING et al., 1997; LV et al., 2011). Os resultados obtidos nessa pesquisa são próximos aos observados pelos autores citados, de forma que é possível inferir que a capacidade de parasitismo de *C. flavipes* não foi diminuída após 10 gerações em endogamia.

Entretanto, a relação hábito gregário e endogamia não é uma regra. Como em parasitoides gregários o desenvolvimento da prole acontece dentro de um mesmo hospedeiro, cruzamentos não consanguíneos podem ocorrer em condições de superparasitismo (ELIAS; DORN; MAZZI, 2010). Sabe-se que *C. glomerata* apresenta superparasitismo co-específico (GU; WANG; DORN, 2003; DORN, BECKAGE, 2007) e o mesmo comportamento foi observado para *C. flavipes* por Campos-Farinha, Chaud-Netto e Gobbi (2000). Os autores verificaram que fêmeas adultas de *C. flavipes* aceitaram parasitar lagartas de *D. saccharalis* previamente parasitadas por outra fêmea, realizando, assim, o superparasitismo. A deposição de ovos num hospedeiro já parasitado por outra fêmea cria a possibilidade de ocorrência de exocruzamentos (ELIAS; DORN; MAZZI, 2010).

Outra condição que possibilita a ocorrência de exocruzamentos é o hábito poligâmico da fêmea. Pelo menos 2/3 das espécies de parasitas gregários listados por Ridley (1993) apresentam fêmeas que aceitam cópula com mais de um macho. Isso pode facilmente ocorrer numa criação regular de *C. flavipes* em laboratórios de biofábricas, onde aproximadamente 15 massas de casulos, oriundas de fêmeas diferentes, são acondicionadas juntas até o momento de liberação dos adultos em campo (CANO; SANTOS; PINTO, 2006). Uma progênie gerada com cargas genéticas diferentes oferece a possibilidade de variação mesmo que haja cruzamentos entre irmãos.

Entretanto, espécies gregárias que apresentam altas frequências de endogamia em campo ainda assim podem sofrer efeitos da depressão endogâmica, como no caso de *Trichogramma pretiosum* (Riley, 1871) (Hymenoptera: Trichogrammatidae) (KAZMER; LUCK, 1995; ANTOLIN, 1999). Isso porque, embora os alelos recessivos deletérios possam ser eliminados eficientemente pelos machos haploides, alelos que carreguem características deletérias leves ou que apresentem caráter de dominância parcial são mais difíceis de serem retirados da população e podem ser a causa da permanência da depressão endogâmica em insetos haplodiploides (CHARLESWORTH; MORGAN; CHARLESWORTH, 1991).

Os efeitos da depressão endogâmica podem se refletir nos parâmetros utilizados na avaliação de controle de qualidade de parasitoides, como longevidade, capacidade de voo e tamanho do adulto (van LENTEREN, 2009). Mas seus efeitos podem ser mensurados principalmente pelas características limitadas às fêmeas, como a fecundidade, procura pelo hospedeiro e determinação da razão sexual da prole (ANTOLIN, 1999; HENTER, 2003).

No presente trabalho não houve diferença significativa nas características morfológicas entre os indivíduos dos grupos endogâmicos e exogâmicos, ou ao longo das gerações endogâmicas que pudessem ser interpretadas como efeito da depressão endogâmica. Outro estudo revelou que a morfologia de adultos de *C. glomerata* também não foi afetada pela depressão endogâmica após quatro gerações de cruzamentos consanguíneos. Tanto fêmeas quanto machos não apresentaram diminuição no tamanho médio da tibia posterior (ZHOU; GU; DORN, 2007). Em *Bombus terrestris* (Linnaeus, 1758) (Hymenoptera: Aphidae), comparações entre grupos endogâmicos e exogâmicos não apresentaram efeitos significativos da endogamia no tamanho do corpo das operárias (GERLOFF; OTTMER; SCHMID-HEMPEL, 2003). Henter (2003) também não encontrou efeitos negativos da endogamia no tamanho de *Uscana semifumipennis* (Girault, 1911) (Hymenoptera: Chalcidoidea). Segundo essa autora, comparando com as características da história de vida, os traços morfológicos parecem sofrer menos os efeitos da depressão endogâmica. Uma possível explicação é que a variação genética responsável pela expressão das características morfológicas é, em sua maioria, aditiva e não dominante, na qual a depressão endogâmica atua com mais intensidade (DEROSE; ROFF, 1999).

De forma geral, os resultados obtidos nesse trabalho referentes às características biológicas comuns a ambos os sexos são próximos aos encontrados em outros estudos. O período pupal das duas populações avaliadas foi semelhante ao observado por Hernández (2010) (5,4 dias) e Zhou, Gu e Dorn (2007), que não encontraram diferenças significativas no tempo de desenvolvimento de *C. glomerata* entre um grupo endogâmico e outro exogâmico. Em estudos conduzidos no Texas, Wiedenmann e Smith (1995) esperavam encontrar efeitos da depressão endogâmica

em uma população de *C. flavipes* criada por mais de quatro anos em laboratório, sem nenhuma nova introdução de indivíduos selvagens. Porém, quando os resultados foram comparados com dados de outros dois grupos, criados há menos tempo em laboratório e oriundos de outras regiões (um grupo de outra região do Texas e outro da Tailândia), as diferenças foram mínimas. Em relação à capacidade de voo, Hivizi et al. (2006) constataram maior número de insetos voadores (51%) quando comparados aos caminheiros (23%) e não voadores (26%), em criação massal de *C. flavipes* no Mato Grosso, valores próximos aos obtidos nesse trabalho, mesmo no grupo criado estritamente em endogamia (48% voadores, 22% caminheiros, 29% não voadores).

Quanto às características expressas somente pelas fêmeas, Henter (2003) observou que somente após cinco gerações em endogamia, a vespa solitária *U. semifumipennis* apresentou diminuição na fecundidade e na razão sexual da prole como consequência da depressão endogâmica. Zhou, Gu e Dorn (2007) avaliaram o efeito da depressão endogâmica em *C. glomerata* e observaram que logo na geração F1 do grupo endogâmico, a produção de machos foi significativamente maior (43%) do que no grupo exogâmico (28%), e na quarta geração a porcentagem de machos da progênie já excedia 70%. Outro Braconidae avaliado em endogamia foi *Asobara tabida* (Nees, 1834) (Hymenoptera: Braconidae), no qual o tamanho da prole e a proporção de fêmeas foram maiores no grupo endogâmico quando comparado com o exogâmico (MA et al., 2013), de forma semelhante ao que se observa nos resultados desse trabalho, onde a proporção de fêmeas foi maior no grupo endogâmico em todas as gerações quando comparados ao grupo da biofábrica.

O aumento da proporção de machos leva a uma diminuição na taxa de crescimento populacional, com consequente potencial de extinção para a população (STOUTHAMER; LUCK; WERREN, 1992), podendo esse ser considerado o mais grave efeito da depressão endogâmica.

A produção de machos pode aumentar significativamente após sucessivos acasalamentos consanguíneos como consequência da ação da endogamia sob o mecanismo de determinação sexual da espécie. Existem quatro modelos diferentes de determinação sexual que foram propostos para o grupo Hymenoptera (ZHOU; GU;

DORN, 2006). O mais comum e conhecido como determinação complementar do sexo (CSD – Complementary sex-determination) (STOUTHAMER; LUCK; WERREN, 1992), apresenta duas variações de acordo com o número de loci envolvidos. Quando um único locus é responsável pela determinação do sexo, o mecanismo é denominado de sl-CSD (do inglês single locus) (WITHING, 1943). Quando o sexo é determinado a partir de múltiplos loci é chamado de ml-CSD (do inglês multiple locus) (SNELL, 1935; CROZIER, 1971).

O sl-CSD ocorre em quase todas as superfamílias de Hymenoptera, com exceção de Chalcidoidea (COOK; CROZIER, 1995), levando a acreditar que este tipo de determinação sexual seja o mecanismo ancestral dentro do grupo (BULL, 1981). Sob sl-CSD, o sexo de um indivíduo é determinado pela composição alélica no loco sexual. Indivíduos haploides apresentam somente um alelo no locus e são sempre machos, enquanto que indivíduos diploides apresentam dois alelos e podem ser fêmeas, quando as duas cópias dos alelos forem diferentes no locus, ou podem ser machos, quando a cópia dos alelos for igual (STOUTHAMER; LUCK; WERREN, 1992). Se o mecanismo sl-CSD se aplica a uma espécie, de um cruzamento consanguíneo, onde macho e fêmea compartilham um alelo sexual, a proporção de machos na progênie será maior porque 50% dos ovos fertilizados se tornarão machos diploides (STOUTHAMER; LUCK; WERREN, 1992). Em geral, machos diploides possuem baixa viabilidade (WHITING, 1943; PETERS; METTUS, 1980; ZHOU; GU; DORN, 2006), inabilidade para acasalar (SMITH; WALLACE, 1971) e/ou são estéreis (EL AGOZE et al., 1994), pois o espermatozoide é incapaz de penetrar no óvulo (MACBRIDE, 1946). Ocasionalmente alguns conseguem realizar a fertilização, mas produzem fêmeas triploides estéreis (TORVIK, 1931). Dessa forma, a ocorrência de machos diploides compromete a produção de fêmeas na geração seguinte, aumentando a proporção de machos a cada geração e diminuindo o número de descendentes.

Estudos empíricos não suportam a hipótese de que sl-CSD seja o único mecanismo de determinação sexual dentro do gênero *Cotesia* (STOUTHAMER; LUCK; WERREN, 1992; NIYIBIGIRA; OVERHOLT; STOUTHAMER, 2004a e b), que inclui cerca de 100 espécies em todo o mundo (MICHEL-SALZAT; WHITFIELD, 2004). Até

2006 a única espécie do gênero *Cotesia* a ter seu mecanismo de reprodução determinado como sl-CSD foi *C. glomerata* (ZHOU; GU; DORN, 2007). Populações de campo de *Cotesia sesamiae* (Cameron, 1906) e *Cotesia rubecula* (Mason, 1981) (Hymenoptera: Braconidae) não apresentaram evidências de sl-CSD (STOUTHAMER; LUCK; WERREN, 1992; NYIBIGIRA; OVERHOLT; STOUTHAMER, 2004a).

Espécies sl-CSD costumam apresentar mecanismos para evitar a ocorrência de acasalamentos entre parentes (COOK; CROZIER, 1995). Comportamentos pós-emergência dos adultos foram observados para *C. glomerata* e *Bracon hebetor* (Say, 1836) (Hymenoptera: Braconidae) com essa finalidade. Mais de 50% das fêmeas de *C. glomerata* e 30% dos machos foram observados deixando seu local de nascimento antes de acasalarem (GU; DORN, 2003). Quanto a *B. hebetor*, tanto os machos quanto as fêmeas não são receptivos ao acasalamento durante as duas primeiras horas após a emergência (ANTOLIN; STRAND, 1992).

Entretanto, sob o sistema ml-CSD, para que um indivíduo diploide se desenvolva como macho é preciso que ele seja homozigoto numa série de loci. Dessa forma, é necessário que haja muitas gerações em endogamia para que se tenha uma considerável produção de machos diploides (NIYIBIGIRA; OVERHOLT; STOUTHAMER, 2004a). Crozier (1977) sugere que em espécies com ml-CSD a ocorrência de machos diploides permanece rara mesmo em endogamia, já que ocasionais cruzamentos exogâmicos seriam suficientes para restaurar a heteroziguidade em algum(ns) dos loci sexuais.

O gênero *Cotesia* aparentemente apresenta uma variedade de soluções para o problema que surge com a produção de machos diploides: (1) tendo machos diploides reprodutivamente funcionais, como *C. glomerata* (ELIAS; MAZZI; DORN, 2009); (2) apresentar o mecanismo ml-CSD, reduzindo a frequência de machos diploides, como em *C. vestalis* (Haliday, 1834) (Hymenoptera: Braconidae) (de BOER et al., 2008) e *C. rubecula* (de BOER et al., 2012); (3) ou não exibir o mecanismo CSD, e assim evitar completamente a produção de machos diploides, como em *C. flavipes* (NIYIBIGIRA; OVERHOLT; STOUTHAMER, 2004a).

Niyibigira, Overholt e Stauthamer (2004a) não encontraram aumento nas proporções de machos ou qualquer outro indício de depressão endogâmica mesmo após 25 gerações de *C. flavipes* criadas em cruzamentos consanguíneos, sugerindo que essa espécie apresente outro tipo de mecanismo de determinação sexual, destacando o “Imprinting” como o mais provável. Nesse tipo de mecanismo, o locus sexual (X) vincula-se a um produto ativo no óvulo ou no zigoto. Durante o processo de meiose, a mãe transfere seu locus sexual com uma marca. Em ovos não fertilizados essa marca não permite que o locus se vincule ao produto ativo, tornando-o inativo, e essa marca é apagada nos machos durante o desenvolvimento embrionário. Sem essa marcação, o alelo paterno é capaz de sintetizar o produto ativo. Logo, em ovos fertilizados o locus sexual recebe um alelo marcado proveniente da mãe e um alelo não marcado proveniente do pai, ativando o vínculo do locus X com o produto ativo, de forma que o zigoto se desenvolverá como fêmea (POIRIÉ; PERIQUET; BEUKEBOOM, 1992). A ausência do mecanismo CSD em *C. flavipes* implica que o parasitoide pode ser criado por várias gerações em consanguinidade sem apresentar as consequências negativas do aumento da proporção de machos devido à produção de machos diploides (NIYIBIGIRA; OVERHOLT; STAUTHAMER, 2004a).

Embora tenham sido observadas algumas diferenças significativas entre os grupos e ao longo das gerações nesta pesquisa, esses resultados não são suficientes para indicar efeitos deletérios decorrentes do processo de endogamia.

Após quarenta anos do início do programa de controle biológico com *C. flavipes* no Brasil, ainda se tem pouca literatura a respeito da biologia e atuação desse parasitoide em campo. Os resultados obtidos demonstram a situação atual da performance desse inseto em laboratório, porém sua atividade e comportamento foram pouco documentados tanto durante sua introdução no país quanto ao longo dos anos de liberação. Dessa forma, não é possível inferir que seu desempenho tenha sido afetado de forma drástica como consequência da metodologia de criação adotada pelos laboratórios de produção massal.

As características inerentes à espécie, como o tipo de determinação sexual, hábito gregário e comportamento pós-emergência levam a acreditar que, de fato, esse

parasitoide consegue evitar os efeitos deletérios da endogamia. Entretanto, os estudos que suportam os resultados dessa pesquisa foram realizados com linhagens diferentes daquelas introduzidas no Brasil, de forma a apresentar diferenças em importantes características biológicas do inseto.

Esse trabalho evidencia a necessidade de se realizar novos estudos buscando averiguar se realmente houve perda na variabilidade genética da linhagem introduzida, através de análises moleculares. Estudos com maior número de gerações estritamente consanguíneas também devem ser realizados no intuito de comprovar a ausência de efeitos deletérios. Experimentos de campo devem ser considerados para avaliar a real eficiência desse parasitoide ou a provável “domesticação”. Os estudos de Volpe (2009) demonstram perda de 26,5% na capacidade de dispersão de *C. flavipes* em relação aos indivíduos introduzidos inicialmente (BOTELHO; MACEDO; MENDES, 1980). Comparação entre a biologia de parasitoides provenientes de diferentes localidades do Brasil é outra pesquisa que pode ser conduzida para averiguar se houve uma melhor adaptação dessa linhagem em determinada região do país.

Por fim, com base nos resultados, sugere-se que o controle de qualidade seja padronizado e realizado periodicamente nos laboratório de criações massais de *C. flavipes*, a fim de se manter um registro que possibilite o acompanhamento e o desenvolvimento dos insetos criados no país.

6. CONCLUSÃO

Os efeitos degenerativos consequentes da endogamia não são expressos na biologia, capacidade de voo e parâmetros referentes às taxas de crescimento populacionais após 10 gerações consecutivas de cruzamentos estritamente consanguíneos de *C. flavipes*.

7. REFERÊNCIAS

ANDRADE, E. T.; CARVALHO, S. R. G.; SOUZA, L. F. Programa do Proálcool e o etanol no Brasil. **Engevista**, Niterói, v. 22, n. 2, p. 127-136, 2009.

ANTOLIN, M. F. A genetic perspective on mating systems and sex ratios of parasitoid wasps. **Researches on Population Ecology**, Kudan-kita, v. 41, n. 1, p. 29–37, 1999.

ANTOLIN, M. F.; STRAND, M. R. Mating system of *Bracon hebetor* (Hymenoptera: Braconidae). **Ecological Entomology**, Chichester, v. 17, n. 1, p. 1–7, 1992.

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

BARBIN, D. **Planejamento e análise estatística de experimentos agrônomicos**. Londrina: Mecenias, 2013, 214 p.

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

BARTLETT, A. C. Guidelines for diversity in laboratory colony establishment and maintenance. In: SING, O. P.; MOORE, R. F. (Eds.). **Handbook of insect rearing**. Amsterdam: Elsevier, 1985. v. 1, p. 7-17.

BENEDINI, M. S. Controle Biológico de pragas na cana-de-açúcar. In: MARQUES, M. O.; MUTTON, M. A.; AZANIA, A. A. P. M.; TASSO JR, L. C.; NOGUEIRA, G. A.; VALE, D. W. (Eds.). **Tópicos em tecnologia sucroalcooleira**. Jaboticabal: Multipress Ltda, 2006. p. 101-120.

de BOER, J. G.; ODE, P. J.; RENDAHL, A. K.; VET, L. E. M.; WHITFIELD, J. B. Experimental support for multiple-locus complementary sex determination in the parasitoid *Cotesia vestalis*. **Genetics**, San Francisco, v. 180, n. 3, p. 1525–1535, 2008.

de BOER, J. G.; KUIJPER, B.; HEIMPEL, G. E.; BEUKEBOOM, L. W. Sex determination meltdown upon biological control introduction of the parasitoid *Cotesia rubecula*. **Evolutionary Applications**, Hoboken, v. 5, n. 5, p. 444–454, 2012.

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

BOTELHO, P. S. M.; MACEDO, N.; MENDES, A. C. Aspects of the population dynamics of *Apanteles flavipes* (Cameron) and support capacity of its host *Diatraea saccharalis* (Fabr.). In: Congress of the International Society of Sugar Cane Technologists, 17, 1980, Manila. **Proceedings ISSCT**. Manila: Front Cover, 1980. v. 2. p.1736-1745.

BOTELHO, S. M.; MACEDO, N. *Cotesia flavipes* para o controle de *Diatraea saccharalis*. In: PARRA, J. R; BOTELHO, P. S; CORRÊA-FERREIRA, B. S.; BENTO, J. M. S. (Eds.). **Controle Biológico no Brasil – Parasitóide e Predadores**. São Paulo: Editora Manole, 2002. p. 409-425.

BOTELHO, P. S. M.; PARRA, J. R. P.; CHAGAS NETO, J. F.; OLIVEIRA, C. P. B. Associação do parasitóide de ovos *Trichogramma galloi* Zucchi (Hymenoptera: Trichogrammatidae) e do parasitóide larval *Cotesia flavipes* (Cam.) (Hymenoptera: Braconidae) no controle de *Diatraea saccharalis* (Fabr.) (Lepidoptera: Crambidae) em cana-de-açúcar. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Londrina, v. 28, n. 3, p. 491-496, 1999.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Cana-de-açúcar**. Brasília, [2013?]. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br/vegetal/culturas/cana-de-acucar>>. Acesso em: 07 fev. 2014.

BRASIL/ AGROFIT. Sistema de agrotóxicos fitossanitários. Coordenação geral de agrotóxicos e afins. Disponível em: <http://extranet.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons>. Acesso em 10 mai. 2014

BULL, J. J. Coevolution of haplo-diploidy and sex determination in the Hymenoptera. **Evolution**, Oxford, v. 35, n. 3, p. 568–580, 1981.

CAMPOS-FARINHA, A. E.; CHAUD-NETTO, J.; GOBBI, N. Biologia reprodutiva de *Cotesia flavipes* (Cameron) (Hymenoptera: Braconidae). IV. Discriminação entre lagartas parasitadas e não parasitadas de *Diatraea saccharalis* Fabricius (Lepidoptera: Pyralidae), tempo de desenvolvimento e razão sexual dos parasitóides. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 67, n. 2, p. 229-234, 2000.

CAMPOS-FARINHA, A. E.; CHAUD-NETTO, J. Biologia reprodutiva de *Cotesia flavipes* (Cameron) (Hymenoptera: Braconidae). V. Avaliação do número de posturas, prole e razão sexual do parasitóide 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.

CANAOESTE. **Pragas da cana**. Sertãozinho, 06 jun. 2013. Disponível em: <<http://www.canaoeste.com.br/conteudo/pragas-na-cana>>. Acesso em 07 fev. 2014.

CANO, M. A. V.; SANTOS, E. M.; PINTO, A.S. Produção de *Cotesia flavipes* para o controle da broca-da-cana. In: PINTO, A. S. (Eds.). **Controle de pragas da cana-de-açúcar**. Sertãozinho: Biocontrol, 2006, 64 p. (Boletim Técnico Biocontrol, n. 1).

CASSEL, A.; WINDIG, J.; NYLIN, S.; WIKLUND, C. Effects of population size and food stress on fitness – related characters in the Scare Heath, a rare butterfly in Western Europe. **Conservation biology**, Hoboken, v. 15, n. 6, p. 1667-1673, 2001.

CHARLESWORTH, D.; CHARLESWORTH, B. Inbreeding depression and its evolutionary consequences. **Annual Review of Ecology and Systematics**, Palo Alto, v. 18, n. 1, p. 237–268, 1987.

CHARLESWORTH, B.; MORGAN, M. T.; CHARLESWORTH, D. Multilocus models of inbreeding depression with synergistic selection and partial self-fertilization. **Genetical Research**, Cambridge, v. 57, n. 2, p.177–194, 1991.

CLARKE, G. M.; MACKENZIE, L. J. Fluctuating asymmetry as a quality control indicator for insect mass rearing processes. **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v. 85, n. 6, p. 2045-2050, 1992.

CONAB. **Companhia Nacional de Abastecimento**. Acompanhamento de safra brasileira: cana-de-açúcar. Safra 2014/2015. Primeiro levantamento, abril/2014 - Companhia Nacional de Abastecimento. – Brasília : Conab 2014. Disponível em: <http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/14_04_15_15_44_37_boletim_cana_portugues_-_1o_lev_-_14.pdf>. Acessado em: 20 mai de 2014.

COOK, J. M.; CROZIER, R. H. Sex determination and population biology in the Hymenoptera. **Trends in Ecology & Evolution**, Oxford, v. 10, n. 7, p. 281–286, 1995.

CROZIER, R. H. Heterozygosity and sex determination in haplo-diploidy. **The American Naturalist**, Chicago, v. 105, n. 945, p. 399–412, 1971.

CROZIER, R. H. Evolutionary genetics of the Hymenoptera. **Annual Review of Entomology**, Palo Alto, v. 22, p. 263–288, 1977.

CROZIER, R. H. Adaptive consequences of male haploidy. In: HELLE, W.; SABELIS, M. W. (Eds.). **Spider Mites: Their Biology, Natural Enemies and Control**. v. 1A. Amsterdam: Elsevier Science Publishers, 1985. p. 201–222.

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

DINARDO-MIRANDA, L. L.. Pragas. In: DINARDO-MIRANDA, L. L.; VASCONCELOS, A. C. M.; LANDELL, M. G. A. (Eds.). **Cana-de-açúcar**. Campinas: Instituto Agronômico, 2008. p. 349-404.

DEROSE, M. A.; ROFF, D. A. A comparison of inbreeding depression in life-history and morphological traits in animals. **Evolution**, Oxford, v. 53, n. 4, p.1288–1292, 1999.

DORN, S.; BECKAGE, N. E. Superparasitism in gregarious hymenopteran parasitoids: ecological, behavioural and physiological perspectives. **Physiological Entomology**, Chichester, v. 32, n. 3, p. 199–211, 2007.

EL AGOZE, M.; DREZEN, J. M.; RENAULT, S.; PERIQUET, G. Analysis of the reproductive potential of diploid males in the wasp *Diadromus pulchellus* (Hymenoptera: Ichneumonidae). **Bulletin of Entomological Research**, London, v. 84, n. 2, p. 213–218, 1994.

ELIAS, J.; MAZZI, D.; DORN, S. No need to discriminate? Reproductive diploid males in a parasitoid with complementary sex determination. **PLoS ONE**, San Francisco, v. 4, n. 6, 1-7, 2009.

ELIAS, J.; DORN, S.; MAZZI, D. Inbreeding in a natural population of the gregarious parasitoid wasp *Cotesia glomerata*. **Molecular Ecology**, Oxford, v. 19, n. 11, p. 2336–2345, 2010.

FIGUEIREDO, P. Breve histórico da cana-de-açúcar e do papel do Instituto Agrônomo no seu estabelecimento no Brasil. In: DINARDO-MIRANDA, L. L.; VASCONCELOS, A. C. M.; LANDELL, M. G. A. (Eds.). **Cana-de-açúcar**. Campinas: Instituto Agrônomo, 2008. p. 31-44.

FUTUYMA, D. J. **Biologia evolutiva**. Ribeirão Preto: Funpec, 2002. p. 127-133.

GALLO, D.; NAKANO, O.; SILVEIRA NETO, S.; CARVALHO, R. P. L.; BATISTA, G. C.; 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. (Eds.). **Entomologia Agrícola**. Piracicaba: FEALQ, 2002. p. 450-462.

GARCIA, J. F.; BOTELHO, P. S. M.; MACEDO, L. P. M. Criação do parasitoide *Cotesia flavipes* em laboratório. In: BUENO, V. H. P. (Ed.). **Controle Biológico de Pragas: Produção Massal e Controle de Qualidade**. Lavras: Editora UFLA, 2009. p. 199-220.

GAULD, I. D.; HANSON, P. E. La biología de los himenópteros. In: HANSON, P. E.; GAULD, I. D. (Eds.). **Hymenoptera de la region Neotropical**. Florida: The American Entomological Institute, 2006. p. 19-22.

GERLOFF, C.U.; OTTMER, B.K.; SCHMID-HEMPEL, P. Effects of inbreeding on immune response and body size in a social insect, *Bombus terrestris*. **Functional Ecology**, Oxford, v. 17, n. 5, p. 582–589. 2003.

GODFRAY, H. C. J. Parasitoid natural history. In: _____. (Ed.). **Parasitoids Behavioral and Evolutionary Ecology**. Princeton: Princeton University Press, 1994. p. 7-10.

GODFRAY, H. C. J.; COOK, J. M. Mating systems of parasitoid wasps. In: CHOE, J. C.; CRESPI, B. (Eds.). **The evolution of mating systems in insects and arachnids**. Cambridge: Cambridge University Press, 1997. p. 211-225.

GRIFFITHS, A. J. F.; WESSLER, S. R.; LEWONTIN, R. C.; CARROLL, S. B. **Introdução à genética**. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan, 2008. p. 528-530.

GU, H. N.; DORN, S. Mating system and sex allocation in the gregarious parasitoid *Cotesia glomerata*. **Animal Behaviour**, London, v. 66, n. 2, p. 259–264. 2003.

GU, H. N.; WANG, Q.; DORN, S. Superparasitism in *Cotesia glomerata*: response of hosts and consequences for parasitoids. **Ecological Entomology**, West Sussex, v. 28, n. 4, p. 422–431. 2003.

HASSAN, S. A. Seleção de espécies de *Trichogramma* para o uso em programas de controle biológico. In: PARRA, J.R.P.; ZUCCHI, R.A. (Eds.), **Trichogramma e o controle biológico aplicado**. Piracicaba: FEALQ, 1997. p. 183-205.

HENTER, H. J. Inbreeding depression and hapodiploidy: experimental measures in a parasitoid and comparisons across diploid and hapodiploid insect taxa. **Evolution**, Oxford, v. 57, n. 8, p. 1793-1803, 2003.

HERNÁNDEZ, D. Estudio de algunos aspectos biológicos de *Cotesia flavipes* Cameron (Hymenoptera: Braconidae) parasitoide de *Diatraea saccharalis* Fabricius (Lepidoptera: Crambidae). **Entomotropica**, Maracay, v.25, n.2, p.69-81. 2010.

HIVIZI, C. L.; BUENO, V. H. P.; SILVA, A. C.; CARVALHO, L. M.; BOTELHO, P. S. M.; GARCIA, L. F. Controle de qualidade do parasitoide *Cotesia flavipes* (Cameron) (Hymenoptera: Braconidae) produzido sob sistema de criação massal. In: XXI CONGRESSO BRASILEIRO DE ENTOMOLOGIA, 2006, Recife. **Resumos**. Recife: UFPe, 2006. Disponível em <<http://seb.org.br/eventos/CBE/XXICBE/resumos/resumos/R0323-1.html>>. Acesso em: 03 jan. 2014.

HIVIZI, C. L.; BUENO, V. H. P.; SILVA, A. C.; CARVALHO, L. M. Controle de qualidade do parasitoide *Cotesia flavipes*. In: BUENO, V. H. P. (Ed.). **Controle Biológico de Pragas: Produção Massal e Controle de Qualidade**. Lavras: Editora UFLA, 2009. p. 371-380.

JOSLYN, D. J. Maintenance of genetic variability in reared insects. In: KING, E.G.; LEPPLA, N.C. (Eds.). **Advances and challenges in insect rearing**. Washington: USDA, Agricultural Research Service, 1984. p. 20-29.

KAPLAN, E. L.; MEYER, P. Nonparametric estimation from imcomplete observations. **Journal of the American Statistical Association**, Alexandria, v. 53, n. 282, p. 457-481, 1958.

KAZMER, D. J.; LUCK, R. F. Field tests of the size-fitness hypothesis in the egg parasitoid *Trichogramma pretiosum*. **Ecology**, Ithaca, v. 76, n. 2, p. 412–425, 1995.

KREBS, C. J. **Ecology: the experimental analysis of distribution and abundance**. New York: Harper Collins, v.3, 1994. 800p.

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. 1-5, p. 452-461, 1989.

LÓPEZ-FANJUL, C.; HILL, W. G. Genetic differences between populations of *Drosophila melanogaster* for quantitative trait: II. Wild and laboratory populations. **Genetical Research**, Cambridge, v. 22, n. 1, p. 60-78, 1973.

LV, J.; WILSON, L. T.; BEUZELIM, J. M.; WHITE, W. H.; REAGAN, T. E. Impact of *Cotesia flavipes* (Hymenoptera: Braconidae) as an augmentative biocontrol agent for the sugarcane borer (Lepidoptera: Crambidae) on rice. **Biological Control**, Maryland Heights, v. 56, n. 2, p. 159-169, 2011.

MA, W.; KUIJPER, B.; DE BOER, J. G.; VAN DE ZANDE, L.; BEUKEBOOM, L. W.; WERTHEIM, B.; PANNEBAKKER, B. A. Absence of complementary sex determination in the parasitoid wasp genus *Asobara* (Hymenoptera: Braconidae). **Plos One**, San Francisco, v. 8, n. 4, p. 1-9, 2013.

MACBRIDE, D. H. Failure of sperm of *Habrobracon* diploid males to penetrate the eggs. **Genetics**, Bethesda, v.31, n. 2, p. 224, 1946.

MACEDO, N. New strains of *Apanteles flavipes* was imported to increase its adaptive potential in the southern region of Brazil. **Entomology Newsletter**, Araras, v. 4, n. 1, p. 11-12, 1978.

MACEDO, N. **Controle biológico da broca *Diatraea saccharalis* e outras pragas da cana-de-açúcar.** 2004. Disponível em: <<http://www.proex.ufscar.br/textos/controlbio.doc>>. Acesso em: 07 fev. 2014.

MACEDO, N. Método de criação do parasitóide *Cotesia flavipes* (Cameron, 1981). In: Bueno, V. H. P. (Ed.). **Controle biológico de pragas: produção massal e controle de qualidade.** UFLA, Lavras, 2009. p. 161-172.

MACEDO, N.; ARAUJO, J. R. **Controle biológico da broca da cana-de-açúcar.** IAA/Planalsucar: Piracicaba, 2000. 24p.

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.

MACHADO, F. B. P. Brasil, a doce terra. UDOP - União dos produtores de energia. 2014. Disponível em: <<http://www.udop.com.br/index.php?item=noticias&cod=26351#nc>>. Acesso em 07 fev. 2014.

MACKAUER, M. Genetic aspects of insect production. **Entomophaga**, Dordrecht, v. 17, n. 1, p. 27-48, 1972.

MACKAUER, M. Genetic problems in the production of biological control agents. **Annual Review of Entomology**, Palo Alto, v. 21, p. 369-385, 1976.

MAIA, A. H. N.; LUIZ, A. J. B.; CAMPANHOLA, C. Statistical inference on associated fertility life table parameters using jackknife technique: computational aspects. **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v. 93, n. 2, p. 511-518, 2000.

MARCONATO, J. R. **Aspectos biológicos de *Diatraea saccharalis* (Fabr., 1794) (Lep., Pyralidae) em meio artificial contendo diferentes genótipos de sorgo e milho na forma de colmos secos e triturados**. 1988. 76 f. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 1988.

MAYR, E. Storage and protection of genetic variation. In: _____. (Ed.). **Populations, Species, and Evolution: An Abridgment of Animal Species and Evolution**. Cambridge: Harvard University, 1970. p.136-161.

MENDONÇA, A. F.; MORENO, J. A.; RISCO, S. H.; ROCHA, I. C. B. Broca comum da cana-de-açúcar. In: MENDONÇA, A. F. (Ed.). **Pragas da cana-de-açúcar**. Maceió: Insetos & Cia, 1996. p. 49-82.

MICHEL-SALZAT, A.; WHITFIELD, J. B. Preliminary evolutionary relationships within the parasitoid wasp genus *Cotesia* (Hymenoptera: Braconidae: Microgastrinae): combined analyses of four genes. **Systematic Entomology**, Chichester, v. 29, n. 3, p. 371–382, 2004.

MIRANDA, J. R. **História da cana-de-açúcar**. Campinas: Komedi, 2008. p. 20-70.

MOUTIA, L. A.; COURTOIS, C. M. Parasites of the moth-borers of sugar-cane in Mauritius. **Bulletin of Entomological Research**, London, v. 43, n. 2, p. 325-335, 1952.

NAVA, D. E.; PINTO, A. S.; SILVA, S. D. A. **Controle biológico da broca da cana-de-açúcar**. Pelotas: Embrapa: CPACT, 2009. 28 p. (Embrapa-CPACT. Documentos, 287).

NIYIBIGIRA, E. I.; OVERHOLT, W. A.; STOUTHAMER, R. *Cotesia flavipes* Cameron (Hymenoptera: Braconidae) does not exhibit complementary sex determination. (ii) Evidence from laboratory experiments. **Applied Entomology and Zoology**, Kudan-kita, v. 39, n. 4, p. 717–725, 2004a.

NIYIBIGIRA, E. I.; OVERHOLT, W. A.; STOUTHAMER, R. *Cotesia flavipes* Cameron and *Cotesia sesamiae* (Cameron) (Hymenoptera: Braconidae) do not exhibit complementary sex determination: evidence from field population **Applied Entomology and Zoology**, Kudan-kita, v. 39, n. 4, p. 705-715, 2004b.

PARRA, J. R. P. Situação atual e perspectivas do controle biológico, através de liberações inundativas, no Brasil. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 27, p. 271-279, 1992.

PARRA, J. R. P. A biologia de insetos e o manejo de pragas: da criação em laboratório a aplicação em campo. In: GUEDES, J. C.; COSTA, I. D.; CASTIGLIONI, E. (Eds.). **Bases técnicas do manejo de insetos**. Santa Maria: Universidade Federal de Santa Maria, 2000. p. 59-68.

PETTERS, R. M.; METTUS, R. V. Decreased diploid male viability in the parasitic wasp *Bracon hebetor*. **Journal of Heredity**, Oxford, v. 71, n. 5, p. 353-356, 1980.

PINTO, A. S. O controle biológico de pragas da cana. In: PINTO, A. S. (Ed.). **Controle de pragas da cana-de-açúcar**. Sertãozinho: Biocontrol, 2006, 64 p. (Boletim Técnico Biocontrol, n. 1).

PINTO, A. S.; GARCIA, J. F.; BOTELHO, B. S. M. Controle biológico na cana-de-açúcar. In: PINTO, A. S.; NAVA, D. E.; ROSSI, M. M.; MALERBO-SOUZA, D. T. (Eds.). **Controle Biológico de Pragas na Prática**. Piracicaba, 2006. p 65-74.

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

POIRIÉ, M.; PERIQUET, G.; BEUKEBOOM, L. W. Arrhenotoky, the hymenopteran way of determining sex. **Seminars in Cell & Developmental Biology**, Londres, v. 3, p. 357-361. 1992.

POLANCZYK, R. A.; ALMEIDA, L. C.; PADULLA, L.; ALVEZ, S. B. Pragas de cana-de-açúcar x métodos alternativos de controle. **Revista Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento**, Uberlândia, n. 33, p. 14-17. 2004.

POTTING, R. P. J. **Hunting for hiding hosts: the behavior ecology of the stemborer parasitoid *Cotesia flavipes***. 1996. 125 f. Tese (Doutorado em Agronomia) - Wageningen Agricultural University. Holanda, 1996.

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. (Eds.). **Controle biológico no Brasil** -, parasitoides e predadores. São Paulo: Manole, 2002. Cap. 17, p. 295-308.

POTTING, R. P.; OVERHOLT, W. A.; DANSO, F. O.; TAKASU, K. Foraging behavior and life history of the stemborer parasitoid *Cotesia flavipes* (Hymenoptera: Braconidae). **Journal of Insect Behavior**, New York, v. 10, n. 1, p. 13-29, 1997.

RALLS, K.; FRANKHAM, R.; BALLOU, J. D. Inbreeding and outbreeding. In: LEVIN, S. A. (Ed.). **Encyclopedia of Biodiversity**. Oxford: Elsevier Ltd., 2007. p. 1-9

RIDLEY, M. Clutch size and mating frequency in parasitic Hymenoptera. **The American Naturalist**, Chicago, v. 142, n. 5, p. 893–910, 1993.

RISCADO, G. M. **Eficiência comparada de *Apanteles flavipes* (Cameron, 1891) no controle de *Diatraea* spp. no Rio de Janeiro**. 1982. 77f. Dissertação (Mestrado em Entomologia), ESALQ/USP, Piracicaba. 1982.

SACCHERI, I.; KUUSSAARI, M.; KANKARE, M.; VIKMAN, P.; FORTELIUS, W.; HANSKI, I. Inbreeding and extinction in a butterfly metapopulation. **Nature**, London, v. 392, p. 491-494, 1998.

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

SHARKEY, M. J.; FERNÁNDEZ, F. Biología y diversidad de Hymenoptera. In: FERNÁNDEZ, F.; SHARKEY, M. J. (Eds.). **Introducción a los Hymenoptera de la Región Neotropical**. Bogotá: Guadalupe, 2006. Cap.5, p. 96-97.

SHAPIRO, S. S.; WILK, M. B. An analysis of variance test for normality (complete samples). **Biometrika**, Oxford, v. 52, n. 3/4, p. 591-611, 1965.

SILVEIRA NETO, S.; NAKANO, O.; BALDIN, D.; VILLANOVA, N. A. **Manual de ecología dos insetos**. São Paulo: Agronômica Ceres, 1976. 419p.

SMITH, S. G.; WALLACE, D. R. Allelic sex determination in a lower hymenopteran, *Neodiprion nigroscutum* Midd. **Canadian Journal of Genetics and Cytology**, Ottawa, v. 13, n. 3, p. 617–621, 1971.

SNEDECOR, G. W.; COCHRAN, W. G. **Statistical methods**. Eighth Edition, Iowa State University Press, 1989, 503 p.

SNELL, G. D. The determination of sex in *Habrobracon*. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, Boston, v. 21, n. 7, p. 446-453, 1935.

SOUSA-SILVA, C. R.; SGRILLO, R. B.; OLIVEIRA, A. R.; PACHECO, J. M. Uso do P-32 no estudo de predadores de *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794) (Lepidoptera: Pyralidae). **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Londrina, v. 21, n.1, p. 133-138, 1992.

STAHLHUT, J. K.; COWAN, D. P. Single-locus complementary sex determination in the inbreeding wasp *Euodynerus foraminatus* Saussure (Hymenoptera: Vespidae). **Heredity**, London, v. 92, n. 3, p. 189–196, 2004.

STOUTHAMER, R.; LUCK, R. F.; WERREN, J. H. Genetics of sex determination and the improvement of biological control using parasitoids. **Environmental Entomology**, Lanham, v. 21, n. 3, p. 427–435, 1992.

TAGAWA, J.; KITANO, H. Mating behaviour of the braconid wasp, *Apanteles glomeratus* L. (Hymenoptera: Braconidae) in the field. **Applied Entomology and Zoology**, Kudankita, v. 16, n. 4, p. 345–350, 1981.

TERÁN, F. O. Pragas da cana-de-açúcar. In: TERÁN, F. O. (Ed.). **Cana de açúcar, cultivo e utilização**. v. 2. Campinas: Fundação Cargil, 1987. p. 601-628.

TORVIK, M. M. Genetic evidence for diploidism of biparental males in *Habrobracon*. **Biological Bulletin**, Woods Hole, v. 61, n. 2, p. 139-156, 1931.

UNICA. União da Agroindústria Canavieira de São Paulo. **A indústria da cana-de-açúcar: Etanol, açúcar e bioeletricidade**. 2009. Disponível em: <<http://www.portalunica.com.br>>. Acesso em: 07 fev. 2014.

UNICA. União da Agroindústria Canavieira de São Paulo. **Coletiva de encerramento de safra 2014/2014 e projeções da safra 2014/2015**. 2014. Disponível em: <<http://www.unica.com.br/documentos/apresentacoes/>>. Acesso em: 07 mai. 2014.

VACARI, A. M.; DE BORTOLI, S. A.; BORBA, D. F.; MARTINS, M. I. E. G. Quality of *Cotesia flavipes* (Hymenoptera: Braconidae) reared at different host densities and the estimated cost of its commercial production. **Biological Control**, Maryland Heights, v. 63, n. 2, p. 102-106, 2012.

VAN LENTEREN, J. C. Need for quality control of mass-produced biological control agents. In: _____. (Ed.). **Quality control and production of biological control agents: theory and testing procedure**. Wallingford: CAB, 2003. p. 1-18.

VAN LENTEREN, J. C. Controle de qualidade de agente de controle biológico produzidos massalmente. In: BUENO, V. H. P. (Ed.). **Controle Biológico de Pragas: Produção Massal e Controle de Qualidade**. Lavras: Editora UFLA, 2009. p. 311-338.

VEIGA, A. C. P.; VACARI, A. M.; VOLPE, H. X. L.; LAURENTIS, V. L.; DE BORTOLI, S. A. Quality control of *Cotesia flavipes* (Cameron) (Hymenoptera: Braconidae) from different Brazilian biofactories. **Biocontrol Science and Technology**, Alberta, v.23, n.6. p. 665-673, 2013.

VENDRAMIM, J. D.; SILVA, F. C.; CAMARGO, A. P. Avaliação das dimensões da região danificada pelo complexo broca-podridões em seis cultivares de cana-de-açúcar. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Londrina, v.18, n. 1, p. 105-118, 1989.

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.

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 “Julio de Mesquita Filho”. Jaboticabal. 2009.

WAAK, R. S.; NEVES, M. F. Competitividade do sistema agroindustrial da cana-de-açúcar. In: FARINA, E. M. M. Q.; ZYLBERSZTAJN, D. (Eds.). **Competitividade no agribusiness brasileiro**. São Paulo: PENSA/FIA/FEA/USP, v. 5, 1998. p. 1-185.

WERREN, J. H. The evolution of inbreeding in haplodiploid organisms. In: THORNHILL, N. W. (Ed.). **The Natural History of Inbreeding and Outbreeding**. Chicago: University of Chicago Press, 1993. p. 42–59.

WIEDENMANN, R. N.; SMITH, J. W. JR. Parasitization of *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Pyralidae) by *Cotesia chilonis* and *C. flavipes* (Hymenoptera: Braconidae). **Environmental Entomology**, Lanham, v. 24, n. 4, p. 950-961, 1995.

WHITING, P.W. Multiple alleles in complementary sex determination of *Habrobracon*. **Genetics**, Bethesda, v. 28, n. 5, p. 365–382, 1943.

WIEDENMANN R.; SMITH J.; DARNELL P. O. Laboratory rearing and biology of the parasite *Cotesia flavipes* (Hymenoptera: Braconidae) using *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Pyralidae) as a host. **Environmental Entomology**, Lanham, v. 21, n. 5, p. 1160-1167, 1992.

WILKINSON, D. S. A revision of the Indo-Australian species of the genus *Apanteles* (Hym.: Braconidae). Part I. **Bulletin of Entomological Research**, Cambridge, v. 19, n. 1, p. 79-105, 1928.

WRIGHT, S. W. Experimental stochastic distribution of gene frequencies. In: _____. (Ed.). **Evolution and the genetics of populations**: experimental results and evolutionary deductions. Chicago: University of Chicago Press, v. 3, 1977. p. 346-366.

ZHOU, Y.; GU, H. N.; DORN, S. Single-locus sex determination in the parasitoid wasp *Cotesia glomerata* (Hymenoptera: Braconidae). **Heredity**, London, v. 96, n. 6, p. 487–492, 2006.

ZHOU, Y.; GU, H.; DORN, S. Effects of inbreeding on fitness components of *Cotesia glomerata*, a parasitoid wasp with single-locus complementary sex determination (sl-CSD). **Biological Control**, Maryland Heights, v. 40, n. 2, p. 273–279, 2007.