

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

**MÉTODOS PARA AVALIAR A LIBERAÇÃO E O
PARASITISMO DE *Cotesia flavipes* (CAMERON, 1891)
(HYMENOPTERA: BRACONIDAE) EM CANA-DE-AÇÚCAR**

Haroldo Xavier Linhares Volpe

Engenheiro Agrônomo

2014

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

**MÉTODOS PARA AVALIAR A LIBERAÇÃO E O
PARASITISMO DE *Cotesia flavipes* (CAMERON, 1891)
(HYMENOPTERA: BRACONIDAE) EM CANA-DE-AÇÚCAR**

Haroldo Xavier Linhares Volpe

**Orientador: Prof. Dr. Sergio Antonio De Bortoli
Coorientador: Prof. Dr. Antonio Sergio Ferraudo**

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

2014

V931m Volpe, Haroldo Xavier Linhares
Métodos para avaliar a liberação e o parasitismo de *Cotesia flavipes* (Cameron, 1891) (Hymenoptera: Braconidae) em cana-de-açúcar / Haroldo Xavier Linhares Volpe. -- Jaboticabal, 2014
xvi, 72 f. : il. ; 28 cm

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 2014
Orientador: Sergio Antonio De Bortoli
Co-orientador: Antonio Sergio Ferraudo
Banca examinadora: Adeney de Freitas Bueno, Enrico De Beni Arrigoni, Ricardo Antonio Polanczyk, Alessandra Marieli Vacari
Bibliografia

1. Controle biológico aplicado. 2. Liberação massal. 3. Controle biológico natural. 4. *Saccharum* spp. 5. *Diatraea saccharalis*. I. Título. II. Jaboticabal-Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias.

CDU 595.79:632.937

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: MÉTODOS PARA AVALIAR A LIBERAÇÃO E O PARASITISMO DE *Cotesia flavipes* (CAMERON, 1891) (HYMENOPTERA: BRACONIDAE) EM CA
NA-DE-AÇÚCAR

AUTOR: HAROLDO XAVIER LINHARES VOLPE

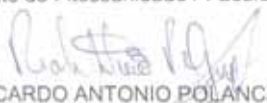
ORIENTADOR: Prof. Dr. SERGIO ANTONIO DE BORTOLI

CO-ORIENTADOR: Prof. Dr. ANTONIO SERGIO FERRAUDO

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


Prof. Dr. SERGIO ANTONIO DE BORTOLI

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


Prof. Dr. RICARDO ANTONIO POLANCZYK

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


Profa. Dra. ALESSANDRA MARIELI VACARI

Pós-Doutoranda / Departamento de Fitossanidade / Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal


Prof. Dr. ENRICO DE BENI ARRIGONI
Centro de Tecnologia Canavieira / Piracicaba/SP


Prof. Dr. ADENEY DE FREITAS BUENO
Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária / Londrina/PR

Data da realização: 18 de fevereiro de 2014.

Deixe-me ir, preciso andar,
Vou por aí a procurar
Rir pra não chorar
Deixe-me ir, preciso andar,
Vou por aí a procurar
Rir pra não chorar
Quero assistir ao sol nascer
Ver as águas dos rios correr
Ouvir os pássaros cantar
Eu quero nascer, quero viver
Deixe-me ir, preciso andar,
Vou por aí a procurar
Rir pra não chorar
Se alguém por mim perguntar
Diga que eu só vou voltar

Antônio Candeia Filho

Aos meus pais Haroldo Donizete Volpe e Luiza Helena Xavier Linhares Sigrist pelo carinho e atenção.

Ao meu irmão Rodrigo Xavier Linhares Volpe, pelo companheirismo, risadas, amizade.

Aos meus avós Odelar Leite Linhares (*in memoriam*), Nilza Xavier Linhares, Ernani Salvador Volpe (*in memoriam*) e Elzira Turione Volpe (*in memoriam*) pelo amor, carinho, apoio e sabedoria imprescindíveis para eu conquistar meus sonhos e trilhar meu caminho.

À Tarcísio Elói Picchi, Eva Tereza Pontes Picchi, Paula Cristina Picchi e Rodrigo Elói Picchi pela companhia, amor, conselhos e por me acolherem como filho e irmão.

DEDICO

À Simone Cristina Picchi, pelo imenso respeito, companheirismo e acreditar em mim, tornando meus dias agradáveis e me fazendo acreditar a cada dia que tenho condições de alcançar meus sonhos.

OFEREÇO

AGRADECIMENTOS

À UNESP Jaboticabal, por fornecer todas as condições necessárias para me tornar Engenheiro Agrônomo, mestre e doutor em Entomologia Agrícola.

Ao curso de pós-graduação em Entomologia Agrícola da FCAV/Unesp por me dar a oportunidade de desenvolver o doutorado.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (Fapesp) pela concessão da bolsa.

Aos meu orientador e amigo professor Sergio Antonio De Bortoli pela oportunidade, ensinamentos, paciência e dedicação, sempre preocupado em me preparar para enfrentar desafios, e por confiar e acreditar no meu trabalho.

Ao professor Antonio Sergio Ferraudo pela coorientação, amizade, disponibilidade imediata para sempre me auxiliar com a tese e também pelos conselhos e orientações sabias que servirão para sempre nos momentos de desespero ou dificuldades.

Aos integrantes e ex-integrantes do Laboratório de Biologia e Criação de Insetos Robson Thomaz Thuler, Alessandra Marieli Vacari, Dagmara Gomes Ramalho, Gustavo Oliveira de Magalhães, Wanderlei Dibelli e Vanessa Fabíola Pereira de Carvalho pela união, profissionalismo, agradável convivência, preocupação e ajuda imediata em tudo o que foi preciso. Essa conquista é nossa!!!

Às minhas grandes amigas Ana Carolina Pires Veiga e Valéria Lucas de Laurentis por todo o excelente convívio dentro e fora do laboratório. Vocês são muito queridas e espero poder ter retribuído toda a ajuda e momentos felizes e alegres que passamos. Torço todos os dias para que todos os seus sonhos se realizem.

Ao Roberto Marchi Goulart pela companhia nessa caminhada durante a pós-graduação, auxílio profissional e amizade. Obrigado por sua energia positiva, sempre mostrando o caminho fácil e alegre para solução de problemas e dificuldades.

Ao grande amigo Silvio Rogério Viel por todo o apoio, fornecendo junto à empresa Louis Dreyfus Commodities tudo o que estivesse ao seu alcance para que este trabalho se concretizasse.

Aos amigos Daniell Rodrigo Rodrigues Fernandes, Alexandre Carlos Menezes-Netto e Claudio Salas pela ajuda, incansáveis conversas entomológicas e cafés

filosóficos regados a vinhos e cervejas que deram e darão suporte para caminhararmos para frente e alcançarmos nossos objetivos. Já estamos colhendo os frutos. E à minha amiga Maria Carolina Macário Cordeiro, a mais nova integrante da rodinha. Obrigado pelos exemplos de vida. Sua força de vontade e a guerreira que existe dentro de você me incentivam. Obrigado!!!

Aos professores do programa de pós-graduação em Entomologia Agrícola por contribuírem para o enriquecimento de meus conhecimentos.

Ao professor Ricardo Antonio Polanczyk pela transmissão de conhecimento, ajuda indispensável para finalização do projeto e pelos conselhos e experiências de alguém com muito tempo de estrada.

À Rogério Teixeira Duarte, Lucas Trevisoli Agostini, Thiago Trevisoli Agostini e Kelly Cristina Gonçalves por nossa amizade, companheirismo e por toda a ajuda nas tardes ensolaradas de Jaboticabal, embaixo da cana e no meio do nada, auxiliando nos experimentos, além das excelentes discussões durante os cafezinhos, onde resolvíamos trabalhos, ensaios e projetos. Sem vocês não terminaria o doutorado!!! Vocês fazem parte dessa conquista!

Aos pesquisadores Nelson Wanderley Periotto e Rogéria Inês Rosa Lara, pelo apoio, ajuda na finalização desses trabalhos, pelas excelentes opiniões e também pelo companheirismo nos momentos difíceis e de divertimento.

Ao meu tio Hugo Tadeu Volpe, por me preparar para as mais diversas situações da vida, ensinando em que acreditar e a como pensar para os mais diversos fatos e por me fazer deslumbrar pela ciência, pelo inexplicável e pelo aprender.

À Sergio Roberto Sigrist e Cristina Pellizzari por toda a ajuda, força e apoio para essa conquista.

À melhor turma de Agronomia (Agro 01). Tempos de aprendizado, de ótimo convívio, de trilhar o caminho. Com certeza todos vocês me ajudaram a escolher o caminho da Entomologia. Além disso, após 7 anos de conclusão do curso, nossas vidas ganharam rumos diferentes, mas nossa amizade não se apagou. Até o nosso próximo churrasco anual de turma!!!! Mais um ano todos juntos, para que todo esse tempo junto continue nas nossas lembranças. Espero ver mais filhos, carecas e cabelos brancos nesse próximo ano.

Às meninas Letícia Tortola, Eliana Mayra Torrecillas Scaloppi, Anelise Carvalho Nepomuceno, Erika Auxiliadora Giachetto Scaloppi, Raquel Valim Labres e Lonjoré Leocádio de Lima pela amizade, companhia, agradável convívio e união, sempre torcendo para que eu cresça.

Ao Maurício Rocha Dimitrov, Victor Gasperotto Krepschi e Douglas Antonio Alvaredo Paixão pela amizade verdadeira, torcida, conselhos e preocupação na minha jornada.

À saudosa e acolhedora República "Pau da Goiaba", onde aprendi muito a conviver, dividir, divertir, rir e estudar nesses 13 anos de Jaboticabal. Agradeço imensamente os moradores, ex-moradores e o seletto grupo de agregados que fizeram de nossa casa um local acolhedor.

Ao Carlos Alberto Rochi Filho e Aritana Gil Basili pela verdadeira amizade fraternal, conselhos e direções. Vocês têm culpa e parceria nas minhas decisões profissionais. Meu muito obrigado!!!

Aos grandes amigos de São Carlos João Pedro Iannoni, Renato Vigatto, Augusto De Sousa e Silva, Ceará, Leonardo Trevelin, Fabio de Riggi, Ricardo Madiolo, Fabio Lima, Lucas Darezzo, Eduardo Darezzo, Adriana Madiolo, Débora Madiolo e Fabiana Crnkowise, que apesar de longo tempo distantes, sempre estão preocupados e prontos a ajudar.

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

HAROLDO XAVIER LINHARES VOLPE – Nascido em 11 de agosto de 1982 na cidade de Araraquara, estado de São Paulo. Formado em Agronomia pela Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias (FCAV) em Jaboticabal – SP, em junho de 2006. Durante a graduação foi estagiário no Laboratório de Biologia e Criação de Insetos - LBCI da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, UNESP, Jaboticabal, SP, no período de outubro de 2005 a julho de 2007, com orientação do Prof. Dr. Sergio Antonio De Bortoli, onde defendeu o trabalho de conclusão de curso intitulado “Especificidade hospedeira de *Trichogramma pretiosum* Riley, 1879 (Hymenoptera: Trichogrammatidae)”. Em março de 2009 ingressou no curso de Mestrado em Agronomia/Entomologia Agrícola (bolsista CNPq) na Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – UNESP, sob orientação do Prof. Dr. José Carlos Barbosa e coorientação do Prof. Dr. Sergio Antonio De Bortoli, onde defendeu a dissertação intitulada “Distribuição espacial do parasitismo de *Cotesia flavipes* (Cameron, 1891) (Hymenoptera: Braconidae) em agosto de 2009. Em agosto de 2010 ingressou no curso de doutorado em Agronomia/Entomologia Agrícola na FCAV/UNESP, sob a orientação do prof. Dr. Sergio Antonio De Bortoli e coorientação do prof. Dr. Antonio Sergio Ferraud. Durante o doutorado foi bolsista da Capes entre agosto de 2009 e março de 2011 e da Fapesp (Processo número 2011/50060-4) até julho de 2013. Desde a iniciação científica participou da Organização de Eventos Científicos e ministrou palestras no IV, V e VI Cursos de Inverno em Entomologia Agrícola. Publicou como autor/co-autor 16 (dezesesseis) trabalhos científicos em revistas indexadas, 07 (sete) capítulos de livros, 31 (trinta e um) resumos expandidos em anais de eventos científicos e 38 (trinta e oito) resumos simples em anais de eventos científicos. Participou de 09 (nove) eventos entre congressos, simpósios e similares nacionais e internacionais onde apresentou 16 (dezesesseis) trabalhos. Foi vice-representante discente junto ao Curso de Pós-Graduação em Agronomia (Entomologia Agrícola) no ano de 2011. Ministrou aulas em disciplinas da área de Entomologia Agrícola no curso de graduação em Agronomia da FCAV-UNESP e no curso de pós-graduação em Agronomia (Entomologia Agrícola).

SUMÁRIO

Página

RESUMO.....	XV
ABSTRACT	XVI
CAPÍTULO 1 – CONSIDERAÇÕES GERAIS	1
1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DE LITERATURA	3
2.1. A cultura da cana-de-açúcar	3
2.2. Broca-da-cana, <i>Diatraea saccharalis</i>	4
2.2.1. Importância econômica	4
2.2.2. Distribuição	7
2.2.3. Aspectos biológicos	7
2.3. Controle biológico de <i>Diatraea saccharalis</i> utilizando <i>Cotesia flavipes</i>	9
2.3.1. Biologia de <i>Cotesia flavipes</i>	9
2.3.2. Importância de <i>Cotesia flavipes</i>	10
2.3.3. Evolução do controle biológico de <i>Diatraea saccharalis</i> no Brasil	12
2.3.4. Liberação de <i>Cotesia flavipes</i>	14
2.3.5. Controle de qualidade em liberações inundativas.....	15
3. REFERÊNCIAS	18
CAPÍTULO 2 - MÉTODOS PARA AVALIAR O PARASITISMO DE <i>Cotesia flavipes</i> (CAMERON) EM <i>Diatraea saccharalis</i> NA CULTURA DA CANA-DE-AÇÚCAR.....	28
RESUMO.....	28

INTRODUÇÃO	29
MATERIAL E MÉTODOS	30
Infestação artificial com posturas de <i>Diatraea saccharalis</i>	30
Colmos de cana infestados com <i>Diatraea saccharalis</i>	31
Infestação natural de <i>Diatraea saccharalis</i>	32
Análise dos dados.....	33
RESULTADOS	34
DISCUSSÃO	35
AGRADECIMENTOS.....	38
REFERÊNCIAS	38
CAPÍTULO 3 - CONTROLE BIOLÓGICO NATURAL E NÚMERO DE PONTOS DE LIBERAÇÃO DE <i>Cotesia flavipes</i> (CAMERON) (HYMENOPTERA: BRACONIDAE) PARA O CONTROLE DE <i>Diatraea saccharalis</i> (F.) (LEPIDOPTERA:CRAMBIDAE) EM CANA-DE-AÇÚCAR.	48
RESUMO.....	48
INTRODUÇÃO	49
MATERIAL E MÉTODOS	50
RESULTADOS	52
DISCUSSÃO	54
CONCLUSÕES	58

AGRADECIMENTOS.....	58
REFERÊNCIAS	58
CAPÍTULO 4 – CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	71
REFERÊNCIAS	72

MÉTODOS PARA AVALIAR A LIBERAÇÃO E O PARASITISMO DE *Cotesia flavipes* (CAMERON, 1891) EM CANA-DE-AÇÚCAR

RESUMO – Métodos adequados para avaliar o parasitismo de um agente de controle biológico auxiliam na determinação de sua capacidade de busca e no desenvolvimento de técnica de liberação. O estudo da área de cobertura do parasitismo natural e após liberações inundativas auxiliam na determinação de técnica de liberação de um agente de controle biológico. O objetivo desta pesquisa foi estudar três métodos de infestação do hospedeiro para a adoção do mais viável na avaliação do parasitismo por *Cotesia flavipes* (Cameron, 1891) (Hymenoptera: Braconidae) com liberação de 6000 parasitoides em quatro pontos por hectare, além de avaliar a influência do controle biológico natural e métodos liberação de *C. flavipes* para o controle de *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794) (Lepidoptera: Crambidae). Foram testadas infestação artificial com lagartas “sentinelas” em colmos de cana, posturas fixadas na planta e infestação natural de *D. saccharalis*. Para cada método, as áreas foram amostradas antes e após a liberação de *C. flavipes*, com três repetições para cada método de infestação e 100 pontos amostrados por área. O melhor método de infestação foi usado para estudar liberações de 8 e 12 pontos por hectare, com densidade fixa de 6000 parasitoides por hectare. Contabilizou-se o número de lagartas recuperadas e parasitadas por ponto amostral para cálculo da porcentagem de parasitismo, índices de dispersão, distribuição de frequências e construção de gráficos geoestatísticos bidimensionais. Para o método usando infestação artificial com posturas de *D. saccharalis* ocorreu baixa recuperação de lagartas e não permitiu a amostragem da área para obter informações a respeito da presença ou ausência de parasitismo. A infestação com lagartas “sentinelas” e natural quantificam o parasitismo e permite coleta do hospedeiro na maioria dos pontos amostrais, o que viabiliza estudos relacionados com contabilização do parasitismo em uma área conhecida. O uso de lagartas “sentinelas” permite estudo em épocas do ano onde há baixa densidade populacional do hospedeiro, apesar de ser um método que manipula muito a área de estudo. O uso do método com infestação natural elimina questionamentos quanto à manipulação prévia da unidade experimental para a condução de experimentos e é recomendável quando a infestação do hospedeiro é suficiente para quantificação do parasitismo. A porcentagem de parasitismo, tanto para as áreas de liberação como na testemunha, foi da ordem de 30%, sendo o parasitismo agregado ou uniforme, não havendo modificação na distribuição após liberação inundativa de *C. flavipes*. A liberação de 6000 parasitoides, independentemente do método estudado, não incrementa o parasitismo em relação ao observado nas áreas sem liberação. Novos métodos de liberação devem ser estudados, por exemplo, com maior densidade de hospedeiro e avaliar liberações localizadas próximas às áreas de agregação do hospedeiro, haja vista que a porcentagem de controle mensurada pelo parasitismo natural ou após liberações massais não é satisfatória para manter o hospedeiro em nível de equilíbrio e abaixo do de dano econômico.

Palavras-Chave: Controle biológico aplicado, liberação massal, controle biológico natural, *Saccharum* spp., *Diatraea saccharalis*

METHODS TO ASSESS RELEASE AND PARASITISM BY *Cotesia flavipes* (CAMERON, 1891) IN SUGARCANE FIELD.

ABSTRACT – Suitable methods to assess the parasitism of a biological control agent assist in the determination of its search capacity and to develop release methods. The study of the cover area of the natural parasitism and after massive releases is helpful to determine an efficient release method of a natural enemy. The aim of the research was to study three methods to infest the host to adopt the more suitable to evaluate the parasitism by *Cotesia flavipes* (Cameron, 1891) (Hymenoptera: Braconidae) after releasing 6,000 parasitoids arranged in 4 release points per hectare as well as evaluating the influence of the natural biological control to control *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794) (Lepidoptera: Crambidae). Methods using sentinel larvae, egg masses fixed on sugarcane plants and natural infestation of *D. saccharalis* were tested. For each method, areas were sampled before and after releases of *C. flavipes*, with three replications for each method of host infestation and 100 points were sampled by area. The best method was used to study releases in 8 and 12 points per hectare, keeping the density of 6,000 released parasitoids per hectare. The number of recovered and parasitized larva were counted to calculate dispersion indices, distribution of frequencies and to generate bi-dimensional maps. For the method using egg masses was found a low recovery of hosts and did not allow collecting information about the presence or absence of parasitism. Infestation with sentinel larva and the use of natural infestation allow recovering the host and to quantify the parasitism to the majority sample points. The use of sentinel hosts allows studies during seasons with low density of hosts, however this method interfere on the environment. The natural infestation excludes questions about previous manipulation of the environment that can influence on the dispersal of the parasitoid and it is recommended when the density of the host is sufficient to quantify the parasitism. The percentage of the parasitism to the control and release areas were around 30% and the parasitism were uniform or aggregated. The distribution of the parasitism kept unchanged after releases of *C. flavipes*. The release of 6,000 parasitoids, independent of the method (8 or 12 points) did not increments the parasitism when compared to the control areas. New release methods should be studied, e. g. releasing a higher density of parasitoid and to evaluate releases directed to areas with aggregation of the host, considering that the percentage of control observed in this study is not sufficient to keep *D. saccharalis* under economic threshold level.

Keywords: Applied biological control, massive release, natural biological control, *Saccharum* spp., *Diatraea saccharalis*

CAPÍTULO 1 – Considerações gerais

1. Introdução

A broca-da-cana, *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794) (Lepidoptera: Crambidae), é uma das mais importantes pragas da cana-de-açúcar no Brasil, e está amplamente distribuída em todas as regiões canavieiras do país (DINARDO-MIRANDA, 2008). Seus prejuízos diretos originam-se das galerias que as lagartas fazem nos colmos, impedindo o fluxo de seiva, provocando perda de peso, redução de sacarose e açúcares redutores, além da quebra das plantas pela ação do vento. Indiretamente, os fungos *Fusarium moniliforme* (Sheld, 1904) (Hypocreales: Hypocreaceae) e/ou *Colletotrichum falcatum* (Went, 1893) (Moniliales: Moniliaceae) podem causar a podridão vermelha do colmo. Eles provocam a inversão da sacarose, diminuem a pureza do caldo, reduzem o rendimento de açúcar e de álcool e inibem a fermentação, o que prejudica os processos industriais (GUAGLIUMI, 1972/73; BOTELHO; MACEDO, 2002; STUPIELLO, 2005; DINARDO-MIRANDA, 2008). Pelos orifícios feitos pelas lagartas, ainda entram pragas secundárias, como *Metamasius hemipterus* (Linnaeus, 1765) (Coleoptera: Curculionidae), que acentuam as perdas no campo (PRECETTI; TÉRAN; SÁNCHEZ, 1988).

A baixa eficiência no controle da broca-da-cana com a utilização de produtos químicos se deve principalmente ao hábito do inseto se desenvolver protegido no interior do colmo. Tais fatores incentivam estudos sobre o seu controle por meio de métodos biológicos (PINTO; GARCIA; BOTELHO, 2006; VOLPE, 2009; WHITE; WILSON, 2012).

No Brasil são tratados cerca de 3,5 milhões de hectares de cana-de-açúcar com o parasitoide *Cotesia flavipes* (Cameron, 1891) (Hymenoptera: Braconidae) para controle da broca-da-cana, *D. saccharalis*. Nessas áreas realiza-se, pelo menos, uma liberação por ano ao longo do ciclo da cultura, dependendo da infestação em campo. Para atender essa área, é necessária a produção de 18 bilhões de parasitoides e, para suprir essa demanda, existem cerca de 80 biofábricas no Brasil (VACARI et al., 2012).

O parasitoide *C. flavipes* foi introduzido com sucesso em mais de 40 países de regiões tropicais e subtropicais para programas de controle biológico clássico de brocas de colmos da família Crambidae, principalmente dos gêneros *Chilo* e *Diatraea* (POLASZEK; WALKER, 1991). No Brasil, a vespa foi introduzida em 1976 e demonstrou eficiência no controle de *D. saccharalis* (BOTELHO, 1992; MACEDO, 2009). Macedo et al. (1983) relataram casos de 62% de parasitismo no sudeste do Brasil.

A introdução desse parasitoide no Brasil foi realizada há aproximadamente 38 anos. Desde então, foi estabelecida metodologia de liberação desse agente de controle biológico. A adoção dessa metodologia de liberação, no entanto, necessita de ser adequadamente validada. Durante esse tempo não foram publicadas pesquisas para verificar se a distribuição do parasitoide em campo continua sendo satisfatória, haja vista que *C. flavipes* é criada em laboratório por gerações sucessivas durante todo esse tempo, algo que pode ocasionar problemas devidos a fatores como consanguinidade. Do mesmo modo, características de dispersão, especialmente comportamento de voo, podem ser bastante restringidas para os insetos criados em condições de laboratório (VAN LENTEREN, 1991).

O método de liberação de agentes é negligenciado pela maioria dos “pacotes tecnológicos” desenvolvidos para programas de controle biológico. São poucas as pesquisas que visam determinar qual a melhor técnica de liberação e as adaptações que ela deve sofrer (OVERHOLT et al., 1994; PINTO; PARRA, 2002).

A dispersão de *C. flavipes* foi estudada há 34 anos por Botelho, Macedo e Mendes (1980), sendo até hoje utilizada em campo a mesma metodologia determinada por esses autores, liberação a cada 25 metros. Porém, a criação de sucessivas gerações de *C. flavipes* em laboratório pode ter levado a mudanças na sua capacidade de voo e, conseqüentemente, no seu raio de ação (VOLPE, 2009). Nota-se também, pela percepção visual nas criações de laboratório, que esses parasitoides não são tão agressivos como eram no início de sua introdução no Brasil, sendo necessário estudar sua distribuição em campo, haja vista que estudos realizados por Volpe (2009) mostraram que a distribuição desses parasitoides ocorre de forma agregada, e que a distância que os insetos alcançam para efetuar o

parasitismo em lagartas de *D. saccharalis* é de 15 metros, 10 metros inferior àquela obtida por Botelho, Macedo e Mendes (1980).

Alguns usuários que utilizam o controle biológico com o parasitoide *C. flavipes* estão mudando o método de liberação por conta própria de quatro para oito pontos e com a mesma densidade de insetos liberados (seis mil) por hectare, sem embasamento científico, alegando maior controle com esse método. Liberações em oito pontos por hectare já foram divulgadas em revistas técnicas, enfatizando melhoria no método de liberação, porém sem comprovação científica para sua proposta da utilização (POMARI et al., 2008).

É importante destacar a dificuldade para infestação artificial em campo com broca-da-cana, como por exemplo, com insetos dentro de toletes previamente cortados e perfurados em laboratório para inserção de lagartas como utilizado por Volpe (2009). Esse método de infestação é dependente de área de cana planta para colheita dos toletes, mão-de-obra para corte, perfuração e inserção das lagartas nos toletes, veículo utilitário para transporte de material ao laboratório e campo e quantidades suficientes de lagartas produzidas em laboratório. Dessa maneira, nesse trabalho foram testados outros métodos para infestação de *D. saccharalis* para realização de testes de distribuição dos parasitoides. Nesse contexto, o estudo da dispersão é fundamental no controle biológico, por fornecer informações a respeito de seu raio de ação (AKEY, 1991), o que permite determinar a distância entre os pontos de liberação e seu número por área, e consequentemente, o desenvolvimento de uma nova técnica de liberação para *C. flavipes* em cana-de-açúcar.

2. Revisão de literatura

2.1. A cultura da cana-de-açúcar

O Brasil é líder mundial na produção de cana-de-açúcar, com aproximadamente 8,8 milhões de hectares cultivados e produção em torno de 652 milhões de toneladas na safra 2013/2014 (CONAB, 2013). Ainda, segundo a Conab

(2013), a produção brasileira de açúcar e de álcool na safra 2013/2014 foi de 40 milhões de toneladas e 27 bilhões de litros, respectivamente.

O estado de São Paulo é o maior produtor com 52,2% (4.419,460 mil hectares), seguido por Minas Gerais com 8,87% (721,860 mil hectares), Goiás com 8,1% (725,910 mil hectares), Paraná com 7,3% (610,830 mil hectares), Mato Grosso do Sul com 5,70% (542,700 mil hectares), Alagoas com 5,45% (445,710 mil hectares) e Pernambuco com 3,89% (312,090 mil hectares). Nos demais Estados produtores as áreas são menores, mas com bons índices de produtividade (CONAB, 2013).

O maior aumento de área plantada na safra 2013/2014 ocorreu na região Centro-Oeste, com variação de 163 mil hectares. O estado de Goiás apresentou o maior aumento, agregando 93 mil hectares à área existente, seguido do Mato Grosso do Sul (82 mil hectares). A região Sudeste apresentou segundo lugar em expansão de áreas, com aumento de 155 mil hectares de área plantada. A região Norte apresentou o terceiro maior índice de expansão de área plantada, com aumento de 10 mil hectares plantados. Em seguida, a região Sul plantou 9 mil hectares a mais em comparação à área plantada na safra 2012/2013. Por último, a região Nordeste diminuiu a área plantada, com decréscimo de 23 mil hectares (CONAB, 2013).

A produtividade brasileira foi de 74.100 kg/ha na safra 2013/2014, com aumento de 6,8% em relação à safra 2012/2013, que foi de 69.407 kg/ha (CONAB, 2013).

2.2. Broca-da-cana, *Diatraea saccharalis*

2.2.1. Importância econômica

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

É uma das pragas mais importantes da cana-de-açúcar, sendo seus danos calculados por meio de índices de infestação (% de entrenós brocados), que são correlacionados com perdas de peso de açúcar e álcool. Esses índices de perdas são incompletos, uma vez que consideram apenas perdas de peso no campo e possíveis perdas industriais (TÉRAN, 1987).

Bergamin (1948) foi o pioneiro nos estudos com a broca-da-cana no Brasil e, posteriormente, foram realizadas muitas pesquisas com esta espécie no país, sendo que a partir de 1973 aumentaram os trabalhos relacionados com *D. saccharalis*, que tinham como objetivo conhecer seus hábitos, biologia, inimigos naturais, bem como danos e prejuízos causados à cultura. Para isso, foi fundado o IAA/PLANALSUCAR, que contava com um grupo de pesquisadores e auxiliares técnicos incumbidos de desenvolver pesquisas para atender o setor canavieiro (BOTELHO, 1992).

Segundo Myers (1932, 1935), originalmente essa espécie atacava pastos aquáticos e semi-aquáticos. Elias (1970) afirma que essa praga pode atacar 65 espécies vegetais, sendo que 30 dessas espécies são pastagens de importância econômica (JEPSON, 1954). Além da cana-de-açúcar, *D. saccharalis* também ataca milho, milheto, sorgo sacarino (INGRAM; BYNUM, 1984), trigo (BOX, 1931), sorgo granífero (RANDOLPH; TEETES; JETER JUNIOR, 1967) e arroz (VAN DINTHER; GOOSSENS, 1970), entre outros hospedeiros. No México, a broca-da-cana está limitada quase exclusivamente à cana-de-açúcar, ao milho e ao sorgo (BOX, 1956). Muitas plantas daninhas ou plantas “selvagens” podem também servir como hospedeiros, incluindo “Johnson grass”, *Sorghum halepense*, *Paspalum* sp., *Panicum* spp., *Holcus* sp. e *Adropogon* sp. (CRUZ, 2007). Este inseto ocorre em todo o território nacional e em diversos países da América do Sul, Central e do Norte (TÉRAN, 1987; VENDRAMIM; SILVA; CAMARGO, 1989).

O aumento de novas áreas para o plantio de cana-de-açúcar interfere no equilíbrio promovido pela natureza, causando pontos de desarranjos momentâneos ou prolongados, que precisam ser corrigidos para diminuir os prejuízos ocasionados pelas pragas que determinam perdas de produtividade na cultura (TÉRAN, 1987). Tal fato tornou o ambiente propício ao ataque de pragas, destacando-se *D. saccharalis* devido à frequência que ocorre, ao seu alto potencial biótico, ao clima

favorável, ao seu hábito que a protege dos inimigos naturais e pelos prejuízos causados (PINTO; GARCIA; BOTELHO, 2006).

Com as injúrias provocadas pelo ato de alimentação, as lagartas causam prejuízos diretos pela abertura de galerias, ocasionando perda de peso. Normalmente quando o ataque se dá próximo à região de crescimento da planta, ocorre morte apical, sendo o sintoma facilmente reconhecido pelo amarelecimento das folhas mais novas, e denominado “coração morto” ou “olho morto”, enraizamento aéreo e brotações laterais (GARCIA; BOTELHO; MACEDO, 2009).

Os maiores danos causados pela broca-da-cana no Brasil são indiretos, devido à inversão da sacarose armazenada na planta, causada por fungos, predominantemente *F. moniliforme* e/ou *C. falcatum*, que penetram através do orifício aberto pela lagarta. Esse efeito provoca perda de consumo de energia no metabolismo de inversão e os açúcares resultantes desse desdobramento não se cristalizam no processo industrial; pode ocorrer contaminação do caldo e os fungos concorrem com as leveduras no processo de fermentação alcoólica, ocasionando perdas na produção de açúcar e de álcool (ZEHN et al., 1988).

Box (1952) constatou que para uma intensidade de infestação de 12,5% há a possibilidade de redução de 5,8% no teor de sacarose. Metcalfe (1969) relatou que para cada 1% de entrenós perfurados pode ocorrer queda de 0,5% de açúcar. Experimentos conduzidos em telados e em campo indicaram que cada 1% de intensidade de infestação pode haver perdas médias de 0,77% em peso, acrescidas de 0,25% na produção de açúcar e 0,20% na de álcool. Lembrando que perdas em campo também são representadas pelas canas quebradas e mortas que permanecem no canavial; as perdas em açúcar e álcool referem-se aos danos acarretados pelo complexo broca-podridão vermelha que ocorre nas canas danificadas que são levadas à indústria (ALMEIDA; STINGEL, 2005).

Dados do IAA/PLANALSUCAR no Brasil indicam que para cada 1% de Intensidade de Infestação (% I.I.) pode ocorrer perda em açúcar recuperável correspondente a 0,48% em kg de açúcar/tonelada de cana; 1,4% em litros de álcool/ton cana; e 0,1385% em perda de peso (t) no campo, considerando-se 0,094 ton açúcar/ton de cana, como fator oficial de conversão de ton de cana em ton de

açúcar recuperável pela indústria, para a região centro-sul (MACEDO; BOTELHO, 1988).

Benedini (2006) relatou que para uma produtividade média de 80 toneladas/ha, pode haver perdas de 640 kg de cana, 30 quilos de açúcar e 25 litros de álcool, aproximadamente. É importante salientar que esses dados são para cada 1% de infestação, sendo possível encontrar áreas com intensidades de infestação acima de 10%.

A importância econômica dos prejuízos causados pelas pragas nas diversas regiões canavieiras do mundo tem levado os pesquisadores à busca incessante de medidas de controle que possam amenizar tal situação (LIMA FILHO, 1989).

Além disso, com a obrigatoriedade da substituição do sistema de colheita manual, que utiliza queima para despalha da cana, por colheita mecanizada, há a propensão do aumento populacional de *D. saccharalis* devido ao aumento da “palhada” sobre o solo, que pode conter ovos e lagartas de primeiro ínstar da praga (MACEDO; ARAÚJO, 2000).

2.2.2. Distribuição

Originária das Américas Central e do Sul, *D. saccharalis* é a espécie mais importante do gênero e de maior distribuição, podendo ser encontrada atacando os canaviais da Argentina, Brasil, Bolívia, Colômbia, EUA, Guiana, Suriname, Guiana Francesa, Costa Rica, Cuba, Equador, México, Panamá, Peru, Haiti, Jamaica, Paraguai, República Dominicana, Venezuela e Antilhas Menores (MENDONÇA, 1996).

Mendonça (1996) cita cerca de 21 espécies de *Diatraea* consideradas pragas de cana-de-açúcar, sendo duas destas importantes no Brasil: *D. saccharalis*, de distribuição generalizada em todo o país, e *Diatraea flavipennella* (Box, 1931) (Lepidoptera: Crambidae), praga de importância nos canaviais dos Estados do Rio Grande do Norte, Paraíba, Pernambuco, Alagoas, Sergipe, Bahia e Rio de Janeiro, não ocorrendo, até então, em São Paulo.

2.2.3. Aspectos biológicos

Os ovos, no início do desenvolvimento embrionário, são de coloração amarela, passando a rósea até chegar a marrom-escuro, quando as cápsulas cefálicas dos embriões no interior dos ovos tornam-se visíveis (LIMA FILHO; LIMA, 2001). Eles são colocados em grupos ou massas (posturas), de formato embricado, assemelhando-se a um segmento de couro de cobra ou escamas de peixe (TÉLAN, 1987; BENEDINI, 2006). Botelho e Macedo (2002) relataram que um ovo cobre dois terços ou a metade do ovo adjacente que está posicionado a seguir. Os adultos realizam as posturas na folhagem da cana, tanto na bainha como nas duas faces da lâmina foliar e, ocasionalmente, nos colmos mais tenros (TÉLAN; PRECETTI; DERNEIKA, 1983). O número de ovos em cada postura varia de cinco a 50 (MACEDO et al., 1983). Um maior número de ovos é colocado em laboratório quando comparado com condições de campo, uma vez que em laboratório as condições bióticas e abióticas são mais estáveis (TÉLAN, 1987; LIMA FILHO; LIMA, 2001; BENEDINI, 2006).

A eclosão das lagartas acontece entre 4 a 9 dias após a oviposição, passando por 5 ínstaes; alimentam-se das folhas ou tecidos parenquimatosos do “palmito da cana”. Durante a fase larval *D. saccharalis* se alimenta no interior do colmo, causando danos às plantas (TÉLAN; PRECETTI; DERNEIKA, 1983). Almeida, Stingel e Arrigoni (2008) afirmaram que após a eclosão, as lagartas de primeiro ínstar raspam as folhas e, depois de passarem para segundo ínstar, se dirigem ao cartucho, penetrando na base dos entrenós, construindo galerias, permanecendo dentro da cana durante todo o período larval, que tem a duração de 40 a 60 dias.

As lagartas podem medir até 25 mm de comprimento; são de coloração amarelo-pálida e cabeça marrom. Ao final da fase larval fazem um orifício para o exterior, fechando-o com fios de seda e serragem, passando à fase de pupa (TÉLAN, 1987; MENDONÇA, 1996).

As pupas são de coloração castanha e a duração dessa fase é cerca de 9 a 14 dias. O sexo pode ser identificado na fase pupal pelo tamanho, localização e forma da abertura genital. A fêmea geralmente é maior que o macho, sendo que a

localização e forma da abertura genital na pupa distingue com segurança o sexo do inseto (MENDONÇA, 1996).

O adulto é uma mariposa de coloração amarelo-palha, com desenhos pardacentos, sendo as asas posteriores esbranquiçadas; com cerca de 25 mm de envergadura. A fêmea é maior que o macho, apresenta abdome mais volumoso e asas menos pigmentadas; os adultos vivem aproximadamente cinco dias (MENDONÇA, 1996).

A duração do estágio larval pode variar de 50 a 90 dias; o período pupal de 10 a 11 dias e a longevidade de adultos de três a sete dias (BOTELHO, 1985). No estado de São Paulo podem ocorrer quatro gerações anuais e, excepcionalmente, cinco, dependendo das condições climáticas (MÉLO; PARRA, 1988).

2.3. Controle biológico de *Diatraea saccharalis* utilizando *Cotesia flavipes*

2.3.1. Biologia de *Cotesia flavipes*

Cotesia flavipes é um endoparasitoide gregário com desenvolvimento holometabólico (MOUTIA; COURTOIS, 1952). Seu ciclo de vida é de aproximadamente 20 dias. Reproduz-se sexuadamente ou por partenogênese arrenótoca, ou seja, fêmeas fecundadas depositam ovos fertilizados que dão origem a indivíduos do sexo feminino e os ovos não fertilizados originam apenas machos (MOUTIA; COURTOIS, 1952; VETORELLI; MASCHIO; ALMEIDA, 1999).

A fêmea pode ser facilmente diferenciada do macho por ter antenas menores, e quando colocada em contato com a lagarta de *D. saccharalis* pousa e curva as antenas ao inserir seu ovipositor (RICKLEFS, 2003).

A vespa localiza o hospedeiro e realiza o parasitismo colocando de 60 a 65 ovos (MACEDO, 2000). Essa deposição se dá na hemocela das lagartas. Depois de três a quatro dias ocorre a eclosão das lagartas, que passam por três instares, em um período de quatro a doze dias (PARRA, 2000).

As lagartas de terceiro instar têm coloração branco-leitosa brilhante e 10 a 15 dias após a inoculação perfuram o tegumento da lagarta para empuparem próximo a mesma. As pupas são revestidas por casulos de coloração branca que formam uma

“massa” de coloração branca. Os adultos são pretos e têm de 2 a 3 mm de comprimento (MACEDO; ARAÚJO, 2000; PINTO; GARCIA; BOTELHO, 2006).

A produção massal de *C. flavipes* em laboratório é feita tendo a lagarta de *D. saccharalis* como único alimento necessário à sua produção. Portanto, além da multiplicação do parasitoide, faz-se necessário a criação da própria broca-da-cana (MACEDO et al., 1983). A eficiência e rentabilidade desse processo é o que mantém os laboratórios em pleno funcionamento (BENEDINI, 2006). Apesar disso, os estudos nessa área, com propósito de baratear os custos e diminuir as dificuldades de produção, não mostraram a evolução necessária, necessitando de uma avaliação real da situação do controle biológico aplicado, além da busca de novas práticas e tecnologias para produção e utilização do referido parasitoide.

2.3.2. Importância de *Cotesia flavipes*

Cotesia flavipes é originária da região indo-australiana (POLASZEK; WALKER, 1991; KIMANI-NJOGU; OVERHOLT, 1997) e foi descrita por Cameron no ano de 1891, com insetos da Poona (Índia) e redescrita por Wilkinson (1928). Mason (1982) fez a revisão taxonômica e reuniu dados da distribuição dos mais antigos exemplares do gênero, demonstrando que 30 a 40% das espécies estão nas regiões temperadas.

Cotesia flavipes foi introduzida com sucesso em mais de 40 países de regiões tropicais e subtropicais para programas de controle biológico clássico de brocas de colmos da família Crambidae, principalmente dos gêneros *Chilo* e *Diatraea* (POLASZEK; WALKER, 1991). O parasitoide foi exportado para o continente americano para controle de *D. saccharalis* em cana-de-açúcar (GIFFORD; MANN, 1967; FUCHS; HUFFMAN; SMITH JR., 1979; MBAPILA; OVERHOLT, 2001) e redistribuída para Ásia, África e Europa para controle de *Chilo partellus* (Swinhoe, 1885) (Lepidoptera: Pyralidae), *Chilo orichalcociliellus* (Strand) (Lepidoptera: Pyralidae), *Sesamia calamistis* Hampson, 1919 (Lepidoptera: Noctuidae), *Busseola fusca* (Fuller, 1901) (Lepidoptera: Noctuidae) e *Eldana saccharina* Walker, 1865 (Lepidoptera: Pyralidae), sendo esses dois últimos hospedeiros não adequados para o seu desenvolvimento (GREATHEAD, 1971; MENDONÇA; RISCO; COSTA, 1977;

MOHYUDDIN; INAYATULLAH; KING, 1981; NGI-SONG; OVERHOLT; AYERTEY, 1995; OVERHOLT et al., 1997; OVERHOLT, 1998).

Em 1966 foram introduzidos aproximadamente 2.000 casulos da Índia para Barbados, se estabelecendo a partir de 1967, constituindo-se um eficiente parasitoide de *D. saccharalis*, com parasitismo superior a 30% durante o período compreendido entre 1968 e 1969 (ALAM; BENETT; CARL, 1971).

Em 1970 foi introduzido de Trindade para Colômbia, para testes em laboratório. Posteriormente, em meados de 1975, novas introduções foram feitas de Trindade e os insetos demonstraram adaptação e capacidade de controle de *D. saccharalis*, tanto em cana-de-açúcar como em milho e sorgo (MENDONÇA, 1996).

Em dezembro de 1975 ocorreu a primeira introdução de *C. flavipes* na Venezuela, num total de 500 casulos provenientes de Trinidad (MENDONÇA, 1996). Em 1986, foi introduzido ao norte da Colômbia (Santander), conseguindo se adaptar, apresentando alta eficiência no controle de *Diatraea* spp. (FERRER, 1988).

No Brasil, as primeiras tentativas de introdução de *C. flavipes* foram feitas no Departamento de Entomologia da ESALQ-USP em Piracicaba e na COPERSUCAR em São Paulo, com a primeira remessa em 14/12/1971 (TÉRAN, 1975), limitando-se apenas a observações de laboratório e a algumas liberações isoladas, em canaviais próximos à ESALQ-USP, não sendo constatada, naquelas ocasiões, nenhuma recuperação do parasitoide nos canaviais (TÉRAN, 1975). Porém, devido a não adaptação da linhagem de *C. flavipes*, os técnicos Macedo e Mendes do PLANALSUCAR/COSUL, com a colaboração do Dr. F. Bennett do Commonwealth Institute of Biological Control, introduziram em São Paulo novas raças de *C. flavipes*, originárias da Índia e Paquistão, com maior potencialidade de adaptação em regiões mais frias e úmidas (BOTELHO, 1992). Os resultados de parasitismo a partir daí se mostraram surpreendentes, com participações muitas vezes superando a somatória dos parasitoides nativos tradicionais, *Lydella minense* Townsend, 1927 (Diptera: Tachinidae) e *Paratheresia claripalpis* Van der Wulp, 1896 (Diptera: Tachinidae) (MACEDO et al., 1984).

A rápida adaptação deste parasitoide nas diferentes regiões canavieiras do país, bem como o desenvolvimento pelo IAA/PLANALSUCAR de tecnologia para sua produção em larga escala, possibilitaram a montagem de laboratórios em unidades

industriais e associações de plantadores de cana, em vários estados produtores de cana-de-açúcar (MENDONÇA, 1996).

Porém, apenas em 1974 iniciou-se a criação massal e as liberações. Em 1978, linhagens adicionais foram trazidas da Índia e do Paquistão (MACEDO, 1978).

Dos parasitoides liberados para o controle da broca-da-cana, *C. flavipes* foi o mais eficiente (BOTELHO et al., 1983; ALMEIDA; ARRIGONI; PRECETTI, 1991), sendo o agente de controle produzido em maior número nos laboratórios do estado de São Paulo. Os laboratórios de criação massal realizam uma série de tarefas, entre as quais a produção massal dos parasitoides, os levantamentos populacionais da praga, liberações, a avaliação de parasitismo e o levantamento de intensidade de infestação (porcentagem de entrenós brocados) para avaliação dos danos causados pela broca-da-cana (COPERSUCAR, 1984; ALMEIDA; CARPANEZZI; RODRIGUES, 1988).

2.3.3. Evolução do controle biológico de *Diatraea saccharalis* no Brasil

Em função da dificuldade de se obter eficiência de controle com produtos químicos, pelo fato do inseto desenvolver-se protegido no interior dos colmos da cana-de-açúcar, pesquisadores de vários países têm se dedicado ao estudo do controle da broca-da-cana por meio de métodos biológicos (PINTO; GARCIA; BOTELHO, 2006; VOLPE, 2009; WHITE; WILSON, 2012).

Torna-se cada vez mais frequente a adoção de parasitoides para o controle de *D. saccharalis*, devido ao seu baixo custo de produção, fácil manipulação e eficiência. Além disso, durante a fase larval os parasitoides se alimentam da própria praga, não havendo a necessidade de elaboração de uma dieta específica para esses inimigos naturais (TÉLAN; NOVARETTI, 1980; PARRA, 2000), o que pode não ser tão interessante quando se pensa na produção massal do inseto no laboratório. O controle desta praga deve visar máxima proteção da cultura, com mínimo impacto ambiental; custos acessíveis, evitando-se incompatibilidade com outros métodos de controle e a não competição com inimigos naturais já presentes na área (TÉLAN, 1987).

É grande o complexo de parasitoides, predadores e agentes entomopatogênicos que ocorrem naturalmente controlando as diversas espécies de *Diatraea* (MENDONÇA, 1996). No entanto, mesmo que a praga seja naturalmente atacada por vários inimigos naturais, *C. flavipes* está sendo a espécie mais utilizada para seu controle, por ser mais eficiente na diminuição da população de *D. saccharalis* (MACEDO, 2000).

Vários inimigos naturais foram testados para o controle biológico da broca-da-cana, ao longo dos mais de 30 anos de pesquisa nessa área (BOTELHO, 1992; CARVALHO et al., 2008). O primeiro entrave encontrado foi a adequação da técnica de criação de *D. saccharalis*. Com os avanços na nutrição de insetos e o desenvolvimento de dietas artificiais, somados ao treinamento de técnicos, passou-se a dominar a técnica de criação, permitindo criar quantidades suficientes da broca-da-cana para utilização em produções massais de parasitoides para posteriores liberações inundativas (BOTELHO, 1992).

As pesquisas com parasitoides da broca-da-cana iniciaram-se com as espécies *Lixophaga diatraea* Townsend, 1916 (Diptera: Tachinidae), *L. minense* e *P. claripalpis*. *L. diatraea*, parasitoide nativo de Cuba e de outras ilhas do Caribe, foi empregado pioneiramente por Scaramuzza e Box, em Cuba. Posteriormente, *P. claripalpis* e *L. minense* (espécies nativas do Brasil) foram utilizadas no Peru e na Venezuela. Logo esses insetos foram levados para a Colômbia e Argentina, com a intenção de criá-los massalmente. Porém, esses esforços também estavam limitados pela falta de domínio da criação da broca-da-cana, pois a técnica original proposta por Scaramuzza e Box fazia uso só de brocas coletadas em campo (BOTELHO, 1992).

Em 1975, no Brasil, nos laboratórios da COPERSUCAR já existia uma técnica que permitia produzir esses parasitoides em quantidades suficientes para atender a demanda e com boas perspectivas de melhoria para os anos seguintes. Nesse período, o objetivo principal era de utilizar os conhecimentos preliminares para dar assistência técnica às usinas pioneiras na atividade de controle biológico (BOTELHO, 1992).

Ao mesmo tempo, em meados da década de 1970, buscava-se a importação de outros inimigos naturais, não nativos do Brasil. Segundo Botelho (1992), os

inimigos naturais importados não encontrariam fatores limitantes e manteriam controladas as pragas hospedeiras. Além disso, é preciso manter criações artificiais para liberá-los no momento que se precisar. Nessa época, os pesquisadores importaram para São Paulo, *Telenomus alecto* (Crawford, 1914) (Hymenoptera: Platygasteridae), parasitoide de ovos de *D. saccharalis*, de Campos dos Goitacazes, RJ, não conseguindo resultados positivos. Outro parasitoide que estava sendo testado era *C. flavipes*, também sem resultados positivos. Os esforços terminaram, pois havia dificuldade burocrática para a sua importação. De 1976 a 1978, novamente foram realizados trabalhos com *C. flavipes*, visando conhecê-lo melhor. Face aos resultados modestos, em condições de campo no Centro-Sul, linhagens de clima semelhante ao do Brasil foram importadas do Paquistão e Índia e introduzidas em São Paulo (BOTELHO, 1992).

Botelho (1992), no período de 1978 e 1989, realizou um trabalho na região de abrangência da COSUL – IAA/PLANALSUCAR, comparando a eficiência de vários parasitoides de *D. saccharalis*, entre eles *L. minense*, *P. claripalpis* e *C. flavipes*. Foi constatado que o uso de *C. flavipes* mostrou resultado positivo nos talhões de cana do estado de São Paulo, com uma participação de 76,64% de parasitismo total obtido no ano de 1989, o que impulsionou o programa de controle biológico elaborado pelo IAA/PLANALSUCAR. Desde então, o controle da broca-da-cana passou a ser realizado com liberações inundativas desse inseto.

2.3.4. Liberação de *Cotesia flavipes*

A liberação do parasitoide é feita sempre que a população da praga atingir 10 lagartas maiores que 1,5 cm por hora homem de coleta ou 1000 brocas/ha (PINTO, GARCIA; BOTELHO, 2006).

Os parasitoides são comercializados em copos plásticos transparentes de 100 mL com tampa, contendo 30 massas de pupas por copo, com cerca de 1500 parasitoides, ou seja, cerca de 50 adultos emergidos por massa. Esses copos são mantidos em temperatura de $27 \pm 2^{\circ}\text{C}$ e umidade relativa do ar de 80% até a emergência dos adultos. A liberação deve ser realizada após 12 horas do início da

emergência dos insetos, para que haja emergência quase total e cópula (PINTO, GARCIA; BOTELHO, 2006).

A liberação é feita a partir do vértice do talhão, caminhando-se 25 metros com o copo aberto e colocando-o na bainha da folha da cana. Em seguida, um novo copo é aberto e, após 50 m do ponto anterior, é colocado na planta; tal procedimento é realizado com base na distância de voo da vespa, que cobre pouco mais de 25 metros (BOTELHO; MACEDO; MENDES, 1980) e nas horas mais frescas do dia. Algumas usinas e produtores de cana estão adotando outros métodos de liberação, como por exemplo, aumentando o número de pontos liberados por hectare, porém mantendo a mesma quantidade de insetos por área, ou seja, liberando-se menor quantidade de insetos por copo (POMARI et al., 2008).

Para avaliar a eficiência deve-se voltar na área 10 a 15 dias após a liberação, coletar lagartas e mantê-las em recipientes plásticos (por exemplo, placas de Petri) contendo dieta, e mantê-las em sala climatizada até a confirmação do parasitismo, o que é feito por meio de avaliação visual das larvas de *C. flavipes* que emergem das lagartas (PINTO, GARCIA; BOTELHO, 2006).

O cálculo da porcentagem de parasitismo é dado pela razão entre lagartas parasitadas por pupas de *D. saccharalis* formadas, multiplicado por 100. Parasitismo superior a 20% evidencia um bom controle; abaixo desse valor é recomendado realizar nova liberação inundativa (PINTO; GARCIA; BOTELHO, 2006).

2.3.5. Controle de qualidade em liberações inundativas

A confiança na eficiência do agente utilizado é condição primordial para que um programa de controle biológico alcance sucesso e se estabeleça. Resultados insatisfatórios devido à 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 contribue 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).

A quantidade, razão sexual, fecundidade, longevidade, tamanho do adulto, capacidade de voo e desempenho em campo são critérios essenciais a serem considerados para o controle de qualidade de parasitoides (VAN LENTEREN, 2009a).

Aspectos finais do controle biológico, como a liberação de agentes, são negligenciados pela maioria dos “pacotes tecnológicos” desenvolvidos para programas de controle biológico; são poucas as pesquisas que visam determinar qual a melhor técnica de liberação e as adaptações que ela deve sofrer (PINTO; PARRA, 2002).

Em geral, quando a população é introduzida no laboratório, pode ocorrer redução da variabilidade genética em virtude da deriva genética da seleção e do cruzamento entre irmãos (“inbreeding”) nas primeiras gerações (BOLLER; CHAMBERS, 1977; BARLETT, 1984; LEPPLA; ASHLEY, 1989; LEPPLA; FISHER, 1989; LEPPLA; WILLIAMS, 1992; BIGLER, 1994). Esse fato pode ser ocasionado por falta de técnicas em criações massais que evitem pressão de seleção levando à perda de sua eficiência, por não existir competição interespecífica nas populações de laboratório. Do mesmo modo, características de dispersão, especialmente comportamento de voo, podem ser bastante restringidas em condições de laboratório (VAN LENTEREN, 1991).

Cruzamentos consanguíneos resultam na perda da variabilidade genética e podem influenciar o tamanho, a viabilidade e fertilidade da prole, a mortalidade juvenil e adulta, bem como a morfologia dos indivíduos (GONÇALVES; DI MARE, 2005), comprometendo a efetividade do inimigo natural (VAN LENTEREN, 2009b). As consequências da endogamia são especialmente relevantes para os parasitoides devido ao seu uso frequente em programas de controle biológico (HENTER, 2003). Van Lenteren (2009a) relatou que a deterioração causada pela consanguinidade compromete a efetividade do inimigo natural.

Nesse contexto, o estudo da distribuição é fundamental no controle biológico de insetos-praga por fornecer informações a respeito de seu raio de ação, o que permite o desenvolvimento de uma metodologia para determinar a distância entre os pontos de liberação e seu número por área (AKEY, 1991).

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

3. Referências

AKEY, D. H. A review of marking techniques in arthropods and an introduction to elemental marking. **Southwestern Entomologist**, Dallas, v. 14, p. 1-8, 1991.

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

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

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

ALMEIDA, L. C.; STINGEL, E. **Curso de monitoramento e controle de pragas da cana-de-açúcar**. Piracicaba: Centro de Tecnologia Canavieira, 2005. 32 p.

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

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

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

BERGAMIN, J. A broca da cana-de-açúcar. **Brasil açucareiro**, Rio de Janeiro, v. 32, n. 6, p. 105-110, 1948.

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

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

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

BOTELHO, P. S. M. **Tabela de vida ecológica e simulação da fase larval de *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794) (Lepidoptera: Pyralidae)**. 1985. 110f. Tese (Doutorado em Entomologia) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1985.

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

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

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 SUGARCANE TECHNOLOGISTS, 17., 1980, Manila. **Anais...** Manila: ISSCT, 1980. p. 1736-1745.

BOX, H. E. **Informe preliminar sobre los taladradores de la caña de azucar (*Diatraea* spp.) em Venezuela**. Maracay: Instituto Nacional Agrícola, 1952. 93 p. (Boletín técnico, 2).

BOX, H. E. The crambine genera *Diatraea* and *Xantoperme* (Lep., Pyral.). **Bulletin of Entomological Research**, London, v. 22, p. 1-50, 1931.

BOX, H. E. The new species and records of *Diatraea guilding* and *Zea diatraea* Box from Mexico, Central and South America (Lepid., Pyral.). **Bulletin of Entomological Research**, London, v. 47, p. 755-776, 1956.

CARVALHO, J. S.; VOLPE, H. X. L.; VIEL, S. R.; GOULART, R. M.; VACARI, A. M.; ROSSATO JUNIOR, J. A. S.; DE BORTOLI, S. A. Pragas da cana-de-açúcar: descrição, dano e controle. In: ARAUJO, E. S.; VACARI, A. M.; CARVALHO, J. S.; GOULART, R. M.; CAMPOS, A. P.; VOLPE, H. X. L. (Eds.). **Tópicos em Entomologia Agrícola**. 1. ed. Ribeirão Preto: Maxicolor Gráfica e Editora, 2008. p. 57-75.

CONAB. Companhia Nacional de Abastecimento. Acompanhamento da safra brasileira: cana-de-açúcar, safra 2013/2014, segundo levantamento, agosto/2013 – Brasília: Conab 2013. Disponível em: <http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/13_08_08_09_39_29_boletim_cana_portugues_-_abril_2013_1o_lev.pdf>. Acesso em: 05 mar. 2014.

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

CRUZ, I. A broca da cana-de-açúcar, *Diatraea saccharalis*, em milho, no Brasil. Sete Lagoas: EMBRAPA-CNPMS, 2007. 39 p. (EMBRAPA-CNPMS. Circular técnica, 90).

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

ELIAS, L. A. **Maize resistance to stalk borer in *Zea diatraea* Box and *Diatraea* (Lepidoptera: Pyralidae) at five localities in Mexico**. 1970. 172 f. Tese (doutorado) - Kansas State University, Manhattan, 1970.

FERRER, F. Sistema computadorizado para analisar datos de evaluaciones de la *Diatraea* spp. em los centrales azucareros. In: JORNADA INTERNACIONAL DE LUCHA BIOLÓGICA EN EL CULTIVO DE LA CAÑA DE AZÚCAR, 2., 1988. La Habana. **Resumos...** La Habana, 1988. p. 6.

FUCHS, T. W.; HUFFMAN, F. R.; SMITH JR, J. W. Introduction and establishment of *Apanteles flavipes* (Hym.: Braconidae) on *Diatraea saccharalis* (Lep.: Pyralidae) in Texas. **Entomophaga**, Paris, v. 24, n. 2, p. 109-114, 1979.

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: UFLA, 2009. 429 p.

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

GONÇALVES, R. R.; DI MARE, R. A. Biologia da traça das crucíferas, *Plutella xylostella* Linnaeus (Lepdoptera, Yponomeutidae), sob condições controladas de temperatura, e parasitoides associados. Parte III. Estudo sobre a biologia de *Apanteles piceotrichosus* (Blanchard) (Hymenoptera, Braconidae): análise do efeito de endocruzamento. **Revista Brasileira de Zoologia**, Curitiba, v. 22, n. 3, p. 806-809, 2005.

GREATHEAD, D. J. **A review of biological control in the Ethiopian region**. Farnham Royal: Commonwealth Institute of Biological Control, Commonwealth Agricultural Bureaux, 1971. 162 p. (Technical Communication, 5).

GUAGLIUMI, P. **Pragas da cana-de-açúcar**: Nordeste do Brasil. Rio de Janeiro: IAA, 1972/73. 622 p. (Coleção Canavieira, 10).

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

INGRAM, K. W.; BYNUM, E. K. **The sugarcane borer**. Washington: USDA, 1984. 17 p. (USDA. Farmer's Bulletin).

JEPSON, W. F. **A critical review of the world literature on the lepidopterous stalk borers of tropical graminaceous crops**. London: Commonwealth Institute of Entomology, 1954. 127 p.

KIMANI-NJOGU, S. W.; OVERHOLT, W. A. Biosystematics of the *C. flavipes* complex (Hym.: Braconidae), parasitoids of gramineous stemborers. **International Journal of Tropical Insect Science**, Cambridge, v. 17, n. 1, p. 119-130, 1997.

LEPPLA, N. C.; ASHLEY, T. R. Quality control in insect mass production: a review and a model. **Bulletin of Entomological Society of America**, Lanham, v. 35, n. 4, p. 33-43, 1989.

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

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

LIMA FILHO, M. **Quantificação de *Apanteles flavipes* (Cameron, 1891) em cana-de-açúcar para controle de *Diatraea* spp.** 1989. 107 f. Dissertação (Mestrado em Entomologia) Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1989.

LIMA FILHO, M; LIMA, J. O. G. Massas de ovos de *Diatraea saccharalis* (Fabr.) (Lepidoptera: Pyralidae) em cana-de-açúcar: número de ovos e porcentagem de parasitismo por *Trichogramma* spp. (Hymenoptera: Trichogrammatidae) em condições naturais. **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 30, n. 3, p. 483-488, 2001.

MACEDO, N. Método de criação do parasitoide *Cotesia flavipes* (Cameron, 1981). In: BUENO, V. H. P. (Ed.). **Controle biológico de pragas: produção massal e controle de qualidade**. Lavras: UFLA, 2000. p. 161-166.

MACEDO, N. Método de criação do parasitoide *Cotesia flavipes* (Cameron, 1981). In: BUENO, V. H. P. (Ed.). **Controle biológico de pragas: produção massal e controle de qualidade**. Lavras: Editora UFLA, 2009. 430p.

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

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

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

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

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

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

MBAPILA, J. C.; OVERHOLT, W. A. Comparative development, longevity and population growth of exotic and native parasitoids of lepidopteran cereal stemborers in Kenya. **Bulletin of Entomological Research**, London, v. 91, n. 5, p. 347-353, 2001.

MÉLO, A. B. P.; PARRA, J. R. P. Exigências térmicas e estimativa do número de gerações anuais da broca da cana-de-açúcar em quatro localidades canavieiras de São Paulo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 23, n. 7, p. 691-696. 1988.

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

MENDONÇA, A. F.; RISCO, B. S. H.; COSTA, J. M. B. Introduction and rearing of *Apanteles flavipes* Cameron (Hym.: Braconidae) in Brazil. In: CONGRESS OF THE INTERNATIONAL SOCIETY OF SUGAR CANE TECHNOLOGISTS, 16., São Paulo: **Proceedings...** São Paulo: ISSCT., 1977. p. 703-710,

METCALFE, J. R. The estimation of loss caused by sugar cane moth borers. In: _____ (Ed.). **Pest of sugarcane**. Amsterdã: Elsevier Publishing Company, 1969. p. 61-75.

MOHYUDDIN, A. I.; INAYATULLAH, C.; KING, E. G. Host selection and strain occurrence in *Apanteles flavipes* (Cameron) (Hymenoptera: Braconidae) and its

bearing on biocontrol of graminaceous stem-borers (Lepidoptera: Pyralidae). **Bulletin of Entomological Research**, London, v. 71, n. 4, p. 575-581, 1981.

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

MYERS, J. G. The ecological distribution of some south american grass and sugarcane borers (*Diatraea* spp., Lep., Pyralidae). **Bulletin of Entomological Research**, London, v. 26, p. 335-342, 1935.

MYERS, J. G. The original habitat and hosts of three major sugarcane pests of tropical america (*Diatraea*, *Castnia* and *Tomaspis*). **Bulletin of Entomological Research**, London, v. 23, p. 257-271, 1932.

NGI-SONG, A. J.; OVERHOLT, W. A.; AYERTEY, J. A. Suitability of african gramineous stemborers for development of *Cotesia flavipes* and *C. sesamiae* (Hymenoptera: Braconidae). **Environmental Entomology**, Salt Lake City, v. 24, n. 4, p. 978–984, 1995.

OVERHOLT, W. A. African cereal stem borers: economic importance, taxonomy, natural enemies and control. In: POLASZEK, A. (Ed.). **Biological control**. Wallingford: CAB International, 1998. p. 349-362.

OVERHOLT, W. A.; NGI-SONG, A. J.; OMWEGA, C. O.; KIMANI-NJOGU, S. W.; MBAPILA, J.; SALLAM, M. N.; OFOMATA, V. A review of the introduction and establishment of *Cotesia flavipes* Cameron (Hymenoptera: Braconidae) in East Africa for biological control of cereal stemborers. **Insect Science and its Application**, Cambridge, v. 17, n. 1, p. 79-88, 1997.

OVERHOLT, W. A.; OCHIENG, J. O.; LAMMERS, P. M.; OGEDAH, K. Rearing and field release methods for *Cotesia flavipes* Cameron (Hymenoptera: Braconidae), a parasitoid of tropical gramineous stemborers. **Insect Science and Its Application**, Cambridge, v. 15, p. 253–259, 1994.

PARRA, J. R. P. A biologia de insetos e o manejo de pragas: da criação em laboratório à 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. cap. 4, p. 59-68.

PINTO, A. de S.; PARRA, J. R. P. Liberação de inimigos naturais. In: PARRA, J. R. P.; BOTELHO, P. S. M.; CORREA-FERREIRA, B. S.; BENTO, J. M. S. (Eds.). **Controle biológico no Brasil: parasitoides e predadores**. São Paulo: Manole, 2002. p. 325- 342.

PINTO, A. S.; GARCIA, J. F.; BOTELHO, B. S. M. Controle biológico da 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: edição própria, 2006. 287 p.

POLASZEK, A.; WALKER, A. K. The *Cotesia flavipes* species-complex: parasitoids of cereal stem borers in the tropics. **Redia**, Florença, v. 74, n. 3, p. 335-341, 1991.

POMARI, A. F.; MIHSFELDT, L. H.; SISMEIRO, M. N.; BALDINI, V.; PINTO, A. S. Dispersão de *Cotesia flavipes* em cana-de-açúcar, no município de Bandeirantes-Paraná. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENTOMOLOGIA, 22., 2008, Uberlândia. **Anais...** Uberlândia: Sociedade Brasileira de Entomologia, 2008. 1 CD-ROM.

PRECETTI, A. A. C. M.; TERÁN, F. O.; SÁNCHEZ, A. G. **Alterações nas características tecnológicas de algumas variedades de cana-de-açúcar, devidas ao dano da broca *Diatraea saccharalis***. São Paulo: Copersucar, 1988. p. 3-8. (Boletim Técnico Copersucar, 41).

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. p. 295-311.

PRUNA, P. M. **Revisión de la literatura del borer de la caña de azucar, *Diatraea saccharalis* (Fabricius)**. La Habana: Academia de Ciencias de Cuba, 1969. 66 p. (Série Biologia, 5).

RANDOLPH, N. M.; TEETES, G. L.; JETER JUNIOR, B. E. Insecticide sprays and granules for control of the sugarcane borer on grain sorghum. **Journal of Economic Entomology**, College Park, v. 60, p. 762-765, 1967.

RICKLEFS, R. E. **A economia da natureza**. 5. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2003. p. 211-213; 305-306.

RISCADO, G. M. **Eficiência comparada de *Apanteles flavipes* (Cameron, 1891) no controle de *Diatraea* spp. no Rio de Janeiro**. 1982. 77 f. Dissertação (Mestrado em Entomologia) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1982.

STUPIELLO, J. P. **O complexo broca-podridão vermelha**. STAB - Açúcar, Álcool e Subprodutos, Piracicaba, v. 24, p. 14, 2005.

TÉRAN, F. O. Controle Biológico da broca da cana-de-açúcar nas usinas cooperadas. In: SEMINÁRIO COPERSUCAR DA AGROINDÚSTRIA AÇUCAREIRA, 3, 1975, Águas de Lindóia. **Anais...** Águas de Lindóia: SCAA, 1975. p. 245-252.

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

TÉRAN, F. O.; NOVARETTI, W. R. T. **Manejo integrado da broca da cana-de-açúcar nas usinas cooperadas**. São Paulo: Copersucar, 1980. (Boletim Técnico Copersucar, 11).

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

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**, Dordrecht, v. 63, n. 2, p. 102-106, 2012.

VAN DINTHER, J. B. M.; GOOSSENS, P. A. Rearing of *Diatraea saccharalis* on diets in Surinam. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, Amsterdã, v. 13, n. 3, p. 320-326, 1970.

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

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

VAN LENTEREN, J. C. Quality control of natural enemies: hope or illusion? In: BIGLER, F. (Ed.). In: WORKSHOP OF THE IOBC GLOBAL WORKING GROUP "QUALITY CONTROL OF MASS REARED ARTHROPODS", 27., 1991, Wageningen. **Proceedings...** Wageningen: OILB/IOBC, 1991. p. 1-14.

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.

VETORELLI, M. P.; MASCHIO, L. R.; ALMEIDA, J. C. B. Dados parciais sobre as diferenças entre a razão sexual da prole de *Cotesia flavipes* Cameron, 1981 (Hymenoptera, Braconidae) em condições laboratoriais. In: ANAIS DO SIMPÓSIO DE PESQUISA: BIOLÓGICAS. **Anais eletrônicos...** 1999. Disponível em <<http://www.unirpnet.com.br/Pesquisa/Anais/bio.html>>. Acesso em: 01 ago. 2009.

VOLPE, H. X. L. **Distribuição espacial do parasitismo de *Cotesia flavipes* (Cameron, 1891) (Hymenoptera: Braconidae) em cana-de-açúcar**. 2009. 67 f. Dissertação (Mestrado em Entomologia Agrícola) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Jaboticabal, 2009.

WHITE, W. H.; WILSON, L. T. Feasibility of using an alternative larval host and host plants to establish *Cotesia flavipes* (Hymenoptera: Braconidae) in the temperate Louisiana sugarcane ecosystem. **Environmental Entomology**, Salt Lake City, v. 41, n. 2, p. 275-281, 2012.

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

ZEHN, Y. Z.; XING, Y. D.; XU, M.; HAN, S. Y.; LIN, G. T.; LIN, Z. P.; CHEN, Y. F. Study of toxigenic fungi and their mycotoxins in mildewed sugar cane. **Proceedings of Japanese Association of Mycotoxicology, Mycotoxins and Phycotoxins**. Tokyo: Japanese Association of Mycotoxicology, supplement, IUPAC “88 and ICPP”, 1988.

CAPÍTULO 2 - Métodos para avaliar o parasitismo de *Cotesia flavipes* (Cameron) em *Diatraea saccharalis* na cultura da cana-de-açúcar.

Métodos para avaliar o parasitismo por *C. flavipes*

Palavras chave: Controle de qualidade, Controle biológico, Liberação massal, Saccharum officinarum, Diatraea saccharalis.

Resumo

Métodos adequados para avaliar o parasitismo em campo de um agente de controle biológico auxiliam na determinação da sua capacidade de busca e técnicas de liberação. O objetivo desta pesquisa foi estudar três métodos de infestação de *Diatraea saccharalis* em cana-de-açúcar para a adoção do mais viável para que possa ser utilizado em estudos do parasitismo por *Cotesia flavipes* (Cameron) (Hymenoptera: Braconidae) em campo. Para tal foram liberados 6.000 parasitoides em quatro pontos por hectare. Foram testados três métodos: o primeiro utilizando infestação artificial com lagartas “sentinelas” em colmos de cana, o segundo utilizando posturas fixadas em plantas e o terceiro utilizando lagartas que ocorrem naturalmente na área. Para cada método, as áreas foram amostradas antes e após a liberação de *C. flavipes*, com três repetições para cada método de infestação e 100 pontos amostrados por área. Contabilizou-se o número de lagartas recuperadas e parasitadas por ponto amostral para cálculo da porcentagem de parasitismo e construção de gráficos geoestatísticos bidimensionais. Para o método usando infestação artificial com posturas de *D. saccharalis* ocorreu baixa recuperação de lagartas o que não permitiu a amostragem da área. A infestação com lagartas “sentinelas” e a infestação natural quantificam o parasitismo e permite a coleta dos hospedeiros na maioria dos pontos amostrais, o que viabiliza estudos relacionados com contabilização do parasitismo em campo. O método utilizando lagartas “sentinelas” permite estudos em épocas do ano onde há baixa densidade populacional do hospedeiro. Já o uso da infestação natural é recomendável quando a intensidade de infestação do hospedeiro for de aproximadamente 10%.

Introdução

Cotesia flavipes (Cameron, 1891) (Hymenoptera: Braconidae) é um parasitoide gregário originário da região Indo-australiana (Polaszek & Walker, 1991) e foi introduzido com sucesso em mais de 40 países de regiões tropicais e subtropicais para programas de controle biológico clássico de brocas de colmos da família Crambidae, principalmente dos gêneros *Chilo* e *Diatraea* (Overholt et al., 1994). No Brasil, o parasitoide foi introduzido em 1976 e demonstrou grande eficiência no controle da broca-da-cana, *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794) (Lepidoptera: Crambidae) (Botelho, 1992; Garcia et al., 2009).

Ao longo desses anos, o parasitoide foi criado massalmente por meio de cruzamento entre irmãos e sem a introdução de indivíduos “selvagens” (Volpe, 2009). Esse procedimento potencializa o efeito negativo acarretado pela consaguinidade podendo produzir mudanças no seu comportamento de voo, uma vez que ele é bastante restringido em condições de laboratório (Van Lenteren, 1991) e, conseqüentemente, em seu raio de ação.

A liberação desse parasitoide em canaviais brasileiros baseia-se no método desenvolvido por Botelho et al. (1980), com pontos espaçados a cada 50 metros.

Pomari et al. (2008), usando lagartas “sentinelas” distribuídas em raio concêntrico à partir do ponto de liberação, constataram que o pico de parasitismo de *C. flavipes* ocorreu aproximadamente a 18 metros do ponto de liberação, sugerindo a adoção de 8 pontos de liberação por hectare e 750 adultos liberados por ponto, totalizando 6.000 parasitoides/ha.

Atualmente no Brasil são tratados cerca de 3,5 milhões de hectares de cana-de-açúcar com *C. flavipes* para controle de *D. saccharalis*. Nessas áreas realizam-se, pelo menos, uma liberação por ano, dependendo do nível de infestação. Para atender essa área, é necessária a produção de 18 bilhões de parasitoides e, para suprir essa demanda, existem cerca de 80 biofábricas no Brasil (Vacari et al., 2012).

Frente à falta de informação a respeito da eficiência de *C. flavipes* em canaviais brasileiros, ausência de estudos que quantificam a contribuição do parasitismo natural e levantamento de informações de distribuição que contribuam com modificações na densidade de insetos liberados e distância entre os pontos de

liberação, foram testados métodos de infestação do hospedeiro, com o intuito de precisar e facilitar esses estudos em campo.

O objetivo desta pesquisa, portanto, foi estudar três métodos de infestação do hospedeiro para a adoção na avaliação do parasitismo de *D. saccharalis* por *C. flavipes* em cana-de-açúcar.

Material e Métodos

Infestação artificial com posturas de *Diatraea saccharalis*

O experimento foi conduzido durante a safra 2011/2012, na cidade de Taquaritinga, São Paulo, Brasil, em cana planta variedade CTC 20, sete meses após plantio. Para esse método, utilizaram-se seis áreas de um hectare previamente amostradas e sem infestação de *D. saccharalis*, para evitar o confundimento com lagartas oriundas de infestação natural.

Áreas de 1 ha foram demarcadas e divididas em 100 sub-unidades de 10 x 10 m (Figura 1) (Sallam et al., 2001), com fita sinalizadora amarela e preta e georreferenciadas com auxílio de GPS Garmin Etrex HCX; cada área foi considerada uma repetição.

A infestação foi realizada no centro de cada sub-unidade e em uma planta onde foram fixadas, com o auxílio de um alfinete, duas posturas de *D. saccharalis* contendo aproximadamente 30 ovos próximos à eclosão das lagartas. Uma postura foi fixada na terceira folha contando a partir do cartucho da planta e a outra presa ao colmo próximo a inserção com a terceira folha.

Três áreas foram utilizadas para avaliar o efeito do parasitismo natural (área sem liberação) e nas demais foram realizadas liberações inundativas dois dias antes da recuperação dos hospedeiros.

Após a emergência dos adultos do parasitoide, esperou-se oito horas para que ocorresse a cópula e, em seguida, os parasitoides foram liberados no campo.

A liberação dos parasitoides foi realizada em quatro pontos de cada área, sendo eles separados 50 metros entre si e 25 metros da borda da área (Figura 1), de tal forma que em cada ponto foi colocada uma embalagem contendo os parasitoides emergidos. Cada embalagem continha aproximadamente 1.500 parasitoides, totalizando 6.000 vespas liberadas por hectare. A distância entre os pontos de

liberação foi baseada no raio de voo da vespa, que foi determinado por Botelho et al. (1980), sendo aproximadamente 34,38 metros.

Após 15 dias, período de tempo suficiente para que as lagartas atingissem o terceiro ínstar, as plantas infestadas, bem como as plantas vizinhas (localizadas na mesma touceira) foram cortadas longitudinalmente para a recuperação das lagartas.

Nas áreas de liberação, os parasitoides foram liberados dois dias antes da retirada das lagartas da área, baseado na longevidade do parasitoide de dois dias (Potting et al., 1997a), ou seja, no décimo terceiro dia após a infestação com as posturas.

As lagartas foram acondicionadas em placas de Petri (6 x 2 cm) previamente identificadas com o número correspondente à sub-unidade da qual elas foram retiradas e levadas ao laboratório para verificação do parasitismo.

As placas foram mantidas em sala climatizada, com temperatura de $25 \pm 1^\circ\text{C}$, umidade relativa de $70 \pm 10\%$ e fotoperíodo de 12L:12E, até a formação de pupas do parasitoide, para avaliação do número de lagartas recuperadas e parasitadas em cada ponto amostral.

Colmos de cana infestados com *Diatraea saccharalis*

O experimento foi conduzido durante a safra 2011/2012 em plantio comercial de cana-de-açúcar variedade CTC 5, seis meses após plantio, em Jaboticabal, São Paulo, Brasil.

Para o levantamento dos dados de parasitismo de *C. flavipes*, duas áreas de 1 hectare foram demarcadas e divididas em 100 sub-unidades de 10×10 m (Figura 1) (Sallam et al., 2001) e georreferenciados com auxílio de GPS Garmin Etrex HCX; cada área foi considerada uma repetição.

Primeiramente as duas áreas foram infestadas com lagartas para levantamento dos dados do parasitismo natural (testemunha, sem liberação de parasitoides). Após a retirada das lagartas da primeira infestação, novas lagartas foram introduzidas e em seguida os parasitoides foram liberados, o que permitiu o levantamento dos dados de parasitismo de *C. flavipes* após liberação inundativa.

A infestação da área com lagartas foi realizada no interior de toletes de cana cortados com o auxílio de serra circular e facão mantendo-se um internódio inteiro e

metade dos dois internódios adjacentes, segundo método desenvolvido por Wiedenmann & Smith Jr. (2006), com internódios de milho, também conhecido como lagartas “sentinelas”. Na metade inferior do entrenó foi realizado um corte em bissel para facilitar a fixação no solo. Cada entrenó foi perfurado com furadeira elétrica acoplada com broca de 5/32 polegadas, sendo colocada em cada orifício uma lagarta de 1,5 cm de comprimento. Após 24 h da infestação em campo, período suficiente para a produção de excrementos pela lagarta e que contribui para a atração do parasitoide (Van Leerdam et al., 1985; Potting et al., 1997a).

Para a infestação, no centro de cada sub-unidade (10 × 10 m), foram fixados no solo dez entrenós dispostos equidistantemente à distância de 20 cm, colocando-se os entrenós de modo que as lagartas ficassem com a cabeça voltada para cima, com o objetivo de manter o hábito natural da praga no campo, totalizando 1.000 entrenós infestados com lagartas para cada área amostral.

A origem das massas de pupas, o tempo de exposição do parasitoide ao hospedeiro e o método de liberação foram semelhantes aos utilizados para o método de infestação com posturas (Figura 1).

As lagartas introduzidas nos entrenós ficaram expostas ao parasitismo no campo por 2 dias, período que condiz com a longevidade dos parasitoides (Potting et al., 1997a). Após esse período, os 10 entrenós provenientes de cada ponto amostral foram retirados e acondicionados em sacos plásticos previamente identificados para transporte ao laboratório, onde foram cortados longitudinalmente. As lagartas recuperadas foram acondicionadas em placas de Petri de 6 x 2 cm contendo dieta artificial de realimentação e identificadas com o número correspondente à sub-unidade de onde foi retirada.

As placas foram mantidas em sala climatizada, com temperatura de $25 \pm 1^\circ\text{C}$, umidade relativa de $70 \pm 10\%$ e fotoperíodo de 12L:12E, até a formação de pupas do parasitoide, para avaliação do número de lagartas recuperadas e parasitadas em cada ponto amostral.

Infestação natural de *Diatraea saccharalis*

O experimento foi conduzido durante a safra 2011/2012, na cidade de Guariba, São Paulo, Brasil, em cana variedade CTC 5, sete meses após o plantio.

Para o levantamento dos dados de parasitismo de *C. flavipes*, seis áreas de um hectare foram demarcadas com fita sinalizadora amarela e preta (fita zebrada) e divididas em 100 sub-unidades de 10 × 10 m (Sallam et al., 2001). Três áreas foram utilizadas para levantamento dos dados do parasitismo natural (testemunha) e as demais para levantamento dos dados de parasitismo de *C. flavipes* liberados, totalizando três repetições para parasitismo natural de *C. flavipes* e três repetições para liberação inundativa do parasitoide.

Em cada um dos pontos amostrais (Figura 1), um metro linear de plantas de cana foi despalhado para verificar orifícios realizados pelas lagartas e, quando constatado, a cana foi cortada longitudinalmente para coleta do hospedeiro.

Nas áreas de liberação os parasitoides foram liberados de acordo com o método descrito para a infestação artificial com toletes, sendo as lagartas retiradas da área dois dias após a liberação inundativa.

As lagartas recuperadas de cada ponto das diferentes áreas foram acondicionadas em placa de Petri de 6 x 2 cm e identificadas com o ponto amostrado.

As placas foram mantidas em sala climatizada, com temperatura de $25 \pm 1^\circ\text{C}$, umidade relativa de $70 \pm 10\%$ e fotoperíodo de 12L:12E, até a formação das pupas do parasitoide, para avaliação do número de lagartas recuperadas e parasitadas em cada ponto amostral.

Para esse experimento, a área de avaliação do parasitismo natural foi diferente da área utilizada para liberações, uma vez que as áreas amostrais foram destruídas para dissecação das plantas à procura das lagartas nos pontos amostrais.

Análise dos dados

A contagem de lagartas recuperadas e parasitadas obtidas a partir das áreas experimentais foi utilizada para cálculo da porcentagem de lagartas parasitadas e elaboração dos gráficos bidimensionais, correlacionando o ponto amostral georreferenciado com o número de lagartas parasitadas para aquele ponto, utilizando o Software MapInfo®.

Resultados

Pelo método de infestação com posturas obteve-se baixa recuperação do hospedeiro e, conseqüentemente, não permitiu inferir adequadamente a respeito do parasitismo realizado por *C. flavipes*. Apesar dos baixos números de lagartas parasitadas obtidos para as áreas testemunha (R3) e de liberações (R2 e R3), a porcentagem de parasitismo foi de 15, 60 e 25%, respectivamente, e é explicado pela baixa coleta de lagartas, o que explica a porcentagem alta de parasitismo. Além disso, houve baixo número de pontos com recuperação de lagartas, o que não permitiu o estudo do parasitismo de *C. flavipes* dentro de uma área conhecida (Tabela 1). A baixa recuperação de lagartas no método de infestação com posturas impossibilitou também a construção de gráficos bidimensionais para esse método.

Os métodos de infestação com lagartas “sentinelas” e infestação natural do hospedeiro possibilitaram recuperação suficiente de lagartas de *D. saccharalis* e ambos quantificaram o parasitismo realizado por *C. flavipes*. Na maioria dos pontos amostrados ocorreu recuperação de lagartas, o que permitiu a realização de estudos que quantificam o parasitismo dentro de uma área conhecida (Tabela 1).

Para o método com o uso de lagartas “sentinelas”, nas áreas sem liberação de *C. flavipes*, foi constatado parasitismo apenas de uma lagarta no ponto amostral 46 na repetição 1 (Figura 2A) e parasitismo nulo na repetição 2 (Figura 2B).

Na área de liberação 1 (Figura 2C) foi possível observar duas grandes manchas de áreas parasitadas, sendo que a média do parasitismo ficou próximo de 0,25 lagartas parasitadas a cada 20 metros de raio, exceto algumas manchas com média de parasitismo próximo a 2,97. Na faixa central da unidade experimental não houve parasitismo. A área de liberação 2 (Figura 2D) foi menos eficiente em relação à repetição 1, com 4 manchas de 20 metros de raio com parasitismo médio de 2 lagartas.

Com base nas Figuras 3A, B e C foi verificado que os hospedeiros se distribuíram e cobriram toda a área amostral de um hectare. Da mesma maneira foi possível verificar o parasitismo por toda a área de estudo (Figuras 3D, E e F).

Haja vista que a constatação do parasitismo foi dependente da coleta do hospedeiro, para as áreas de liberação usando o método de infestação natural do hospedeiro também foi possível coletar hospedeiros em toda a unidade experimental

(Figuras 4A, B e C), o que permitiu estudar o efeito do parasitismo na área (Figuras 4D, E e F).

Discussão

Não há trabalhos na literatura que correlacionam o efeito da infestação natural e artificial do hospedeiro com estudos de parasitismo e eficiência de *C. flavipes*. Na literatura há relatos de estudos com *C. flavipes* e infestação natural de *Chilo partellus* (Swinhoe, 1885) (Lepidoptera: Crambidae) em áreas de milho no Quênia (Sallam et al., 2001); complexo de brocas do milho no Quênia (Zhou et al., 2001); *D. saccharalis* em cana-de-açúcar no Brasil (Rossi & Fowler, 2003a; Rossi & Fowler, 2003b; Rossi, 2003); para *C. partellus* na Louisiana (Schexnayder Jr. et al., 2001); *Sesamia calamistis* (Hampson, 1910) (Lepidoptera: Noctuidae) e *Busseola fusca* (Fuller, 1901) (Lepidoptera: Noctuidae) na Etiópia (Getu et al., 2003); infestação natural e com complementação de hospedeiros infestados artificialmente com *D. saccharalis* nas áreas de baixa infestação na Louisiana (White et al., 2004); infestação com lagartas “sentinelas” de *D. saccharalis* em toletes de milho para avaliação de taxas de parasitismo (Wiedenmann & Smith Jr., 2006) e com *Cotesia urabae* Austin & Allen, 1989 (Hymenoptera: Braconidae) usando lagartas “sentinelas” de *Uraba lugens* Walker, 1863 (Lepidoptera: Nolidae) em eucalipto (Avila et al., 2013).

Para verificar a área de cobertura do parasitoide foram utilizados dados de parasitismo pelo fato de não existir um método de coleta direta do parasitoide sem que haja influência de voláteis introduzidos artificialmente. Ngumbi et al. (2005) desenvolveram armadilha adesiva para coleta de *C. flavipes* com voláteis para atração do parasitoide. Apesar de a armadilha ser eficiente na coleta direta do parasitoide, os voláteis emitidos podem modificar o comportamento de dispersão e a área de cobertura, o que torna a coleta direta do parasitoide inviável.

A baixa recuperação de lagartas das unidades amostrais com infestação com posturas pode ser atribuída à quantidade de ovos insuficiente para a infestação das plantas. Provavelmente, a densidade de adultos de *D. saccharalis* na área, número de ovos e posturas é superior à feita artificialmente neste trabalho, o que permite alta

densidade de infestação natural de lagartas, mesmo após o impacto da resistência do ambiente.

A grande densidade de inimigos naturais encontrados em praticamente todas as plantas infestadas com posturas também explica a baixa recuperação de lagartas. Foi observada a presença de várias espécies, dentre elas: alguns Araneae, Coccinellidae, Sthaphilinidae, *Orius* sp., formigas predadoras e crisopídeos, e em alguns pontos foi observado que o papel sulfite que continha a postura estava raspado, provavelmente pela ação de algum inseto mastigador.

No entanto, não existem trabalhos que forneçam embasamento teórico do número de ovos e posturas de *D. saccharalis* em campo, quantidade de adultos e viabilidade desses ovos para serem utilizados como referência para viabilizar a infestação com posturas. Além disso, a adoção de um número maior de posturas para a infestação da área inviabiliza o método, por necessitar de uma criação estoque suficiente para atender a demanda de ovos necessária para uma infestação eficiente a campo e também por ser trabalhoso o preparo e fixação das posturas no campo em grandes quantidades.

O método de infestação com lagartas “sentinelas”, proposto por Wiedenmann & Smith Jr. (2006), foi também utilizado por White et al (2004), Pomari et al. (2008), Mihsfeldt et al. (2008) e Volpe (2009) para estudos com *C. flavipes* em cana tendo como hospedeiro *D. saccharalis*. Apresenta vantagens em relação ao uso da infestação natural no fato de permitir estudos com o parasitoide em áreas com ausência ou baixa infestação do hospedeiro ou em épocas do ano onde sua densidade populacional é baixa.

Como desvantagem em relação ao uso da infestação natural, ressalta-se a possível influência na manipulação dos colmos e distribuição artificial do hospedeiro na área, o que não condiz com condições naturais. Dessa maneira, apenas o método de infestação natural entre os testados permite extrair dados de comportamento do parasitoide e mensurar parasitismo em situações não manipuladas.

O “frass” (excremento) úmido e a secreção produzida pelas glândulas salivares das lagartas comprovadamente atraem o parasitoide para a fonte de estímulo (Van Leerdam et al., 1985; Potting et al., 1997a). Wiedenman & Smith Jr.

(2006) relataram que o uso de internódios ou a planta inteira de milho infestados com *D. saccharalis* foram igualmente preferidos pelo parasitoide em condições de laboratório em testes de olfatometria. Isto evidencia que a atração a curta distância está condicionada a estímulos produzidos pelo hospedeiro por meio do “frass” e da secreção produzida pelas glândulas salivares (Obonyo et al., 2010).

No entanto, a orientação de parasitoides e predadores para planta sob herbivoria está geralmente relacionada não só com o herbívoro, mas também com a fonte de sinais químicos emitidos pela planta. Essa interação foi compreendida após Price et al. (1980) revisarem as interações entre herbívoros e seus inimigos naturais e verificarem ser variável entre diferentes espécies de plantas.

A comunicação entre o primeiro (planta) e o terceiro (carnívoro) níveis tróficos é resultado do problema da confiabilidade-detectabilidade enfrentado pelos inimigos naturais à procura de seus herbívoros. Dessa maneira, os sinais emitidos pelos herbívoros são fortes indicadores da presença do hospedeiro e de alta confiabilidade, porém são de difícil detectabilidade pelos inimigos naturais a longas distâncias da fonte de estímulo químico (Vet & Dicke, 1992). Tal informação concorda com Obonyo et al. (2010), que relataram que o “frass” atrai *C. flavipes* a curtas distâncias. Isso se deve à pequena biomassa do herbívoro quando comparada à biomassa das plantas onde estão presentes os herbívoros. Já os voláteis emitidos pelas plantas são de baixa confiabilidade em relação à presença do hospedeiro, porém possuem biomassa relativa muito maior do que a dos herbívoros e, portanto, são facilmente detectáveis (Vet & Dicke, 1992).

A manipulação da planta, cortando-as em toletes, diminui a sua biomassa e pode subestimar o impacto do parasitismo devido à supressão de pistas químicas emitidas pela planta na localização do hospedeiro pelo parasitoide. O parasitoide é atraído também por terpenóides emitidos pela planta (Ngumbi et al., 2005), plantas infestadas independente da variedade de cana utilizada (Mesquita et al., 2011), levando-se em consideração a relação entre a densidade de hospedeiro por planta e a quantidade de “frass” produzida (Ngi-Song et al., 1996; Ngi-Song & Overholt, 1997; Potting et al., 1997b).

Dessa maneira, a manipulação dos colmos de cana e o número fixo de hospedeiros por ponto amostral pode influenciar ou tornar os estudos de parasitismo

questionáveis, fator eliminado com a não manipulação da unidade experimental em estudos com o uso da infestação natural.

Frente ao exposto para os três métodos de infestação e aos resultados insatisfatórios com infestação com posturas, o uso da infestação com lagartas “sentinelas” permite estudo em épocas do ano onde há baixa densidade populacional do hospedeiro, apesar de ser um método que manipula bastante a área de estudo. Já o método com infestação natural elimina questionamentos quanto à manipulação prévia da unidade experimental para a condução de experimentos, sendo recomendado quando a infestação do hospedeiro é suficiente para a quantificação do parasitismo.

Agradecimentos

À Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP – Processo número 2011/50060-4) pela concessão de bolsa de estudo.

À Usina São Carlos e Usina Santa Elisa – Grupo Louis Dreifus, Jaboticabal, SP, por disponibilizar áreas para instalação de experimento e equipe técnica para escolha de talhões e amostragem.

Ao Laboratório de Entomologia da Usina São Martinho, Pradópolis, SP, por conceder parte do material experimental.

Referências

- Avila GA, Berndt LA & Holwell GI (2013) Dispersal behavior of the parasitic wasp *Cotesia urabae* (Hymenoptera: Braconidae): a recently introduced biocontrol agent for the control of *Uraba lugens* (Lepidoptera: Nolidae) in New Zealand. *Biological Control* 66: 166-172.
- Botelho PSM (1992) Quinze anos de controle biológico da *Diatraea saccharalis* utilizando parasitoides. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 27: 255–262.
- Botelho PSM, Macedo N & Mendes AC (1980) Aspects of the population dynamics of *Apanteles flavipes* (Cameron) and support capacity of its host *Diatraea saccharalis* (Fabr.). In: Proc 17th Congress of the International Society of Sugar Cane Technologists, Manila, Philippines, pp. 1736–1745.

- Garcia JF, Botelho PS & Macedo LPM (2009) Criação do parasitoide *Cotesia flavipes* em laboratório. Controle biológico de pragas: produção massal e controle de qualidade (ed. by VHP Bueno). Editora UFLA, Lavras, MG, Brazil, pp. 199-220.
- Getu E, Overholt WA, Kairu E & Omwega CO (2003) Evidence of the establishment of *Cotesia flavipes* (Hymenoptera: Braconidae), a parasitoid of cereal stemborers, and its host range expansion in Ethiopia. Bulletin of Entomological Research 93: 125–129.
- Mesquita FLT, Mendonça AL, da Silva CE, Correia AM de O, Sales DFM, Cabral Júnior CR & do Nascimento R (2011) Influence of *Sacchararum officinarum* (Poales: Poaceae) variety on the reproductive behavior of *Diatraea flavipenella* (Lepidoptera: Crambidae) and on the attraction of the parasitoid *Cotesia flavipes* (Hymenoptera: Braconidae). Florida Entomologist 94: 420–427.
- Mihsfeldt LH, Pomari AF, Souza TA, Sismeiro MNS, Camícia RF da M & Pinto AS (2008) Dispersão de *Cotesia flavipes* em cana-de-açúcar (cana-planta), no município de Bandeirantes-Paraná.. In: 22th Congresso Brasileiro de Entomologia, Uberlândia, Brazil. (CD-ROM).
- Ngi-Song AJ & Overholt WA (1997) Host location and acceptance by *Cotesia flavipes* Cameron and *C. sesamiae* (Cameron) (Hymenoptera: Braconidae), parasitoids of african gramineous stemborers: role of frass and other host cues. Biological Control 9: 136-142.
- Ngi-Song AJ, Overholt WA & Njagi PGN (1996) Volatile infochemicals used in host and host habitat location by *Cotesia flavipes* Cameron and *Cotesia sesamiae* (Cameron) (Hymenoptera: Braconidae), larval parasitoids of stemborers on gramineae. Journal of Chemical Ecology 22: 307-323.
- Ngumbi EN, Ngi-Song AJ, Njagi ENM, Torto R, Wadhams LJ, Birkett MA, Pickett JA, Overholt WA & Torto B (2005) Responses of the stem borer larval endoparasitoid *Cotesia flavipes* (Hymenoptera: Braconidae) to plant derived synomones: laboratory and field cage experiments. Biocontrol Science and Technology 15: 271-279.
- Obonyo M, Schulthess F, Ru BL, van den Berg J, Silvain JF & Calatayud PA (2010) Importance of contact chemical cues in host recognition and acceptance by the

- braconid larval endoparasitoids *Cotesia sesamiae* and *Cotesia flavipes*. *Biological Control* 54: 270-275.
- Overholt WA, Ochieng JO, Lammers PM & Ogedah K (1994) Rearing and field release methods for *Cotesia flavipes* Cameron (Hymenoptera: Braconidae), a parasitoid of tropical gramineous stemborers. *Insect Science and Its Application* 15: 253–259.
- Polaszek A & Walker AK (1991) The *Cotesia flavipes* species-complex: parasitoids of cereal stem borers in the tropics. *Redia* 74: 335-341.
- Pomari AF, Mihsfeldt LH, Sismeiro MN, Baldini V & Pinto AS (2008) Dispersão de *Cotesia flavipes* em cana-de-açúcar, no município de Bandeirantes-Paraná. In: Congresso Brasileiro de Entomologia, 22., 2008, Uberlândia. Anais Uberlândia: UFU: Embrapa Milho e Sorgo: UFV, 2008. 1 CD-ROM.
- Potting RPJ, Overholt WA, Danso FO & Takasu K (1997a) Foraging behavior and life history of the stemborer parasitoid *Cotesia flavipes* (Hymenoptera: Braconidae). *Journal of Insect Behavior* 10: 13-29.
- Potting RPJ, Snellen HM & Vet LEM (1997b) Fitness consequences of superparasitism and mechanism of host discrimination in the stemborer parasitoid *Cotesia flavipes*. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 82: 341–348.
- Price PW, Bouton CE, Gross P, Mcpherson BA, Thompson JN & Weis AE (1980) Interactions among three trophic levels: influence of plants on interactions between insect herbivores and natural enemies. *Annual Review of Ecology and Systematics* 11: 41-65.
- Rossi MN (2003) Possible causes of spatial variability in *Diatraea saccharalis* Fabr. (Lep., Crambidae) and its parasitoid populations in sugarcane fields in Brazil. *Journal of Applied Entomology* 127: 494–500.
- Rossi MN & Fowler HG (2003a) Temporal patterns of parasitism in *Diatraea saccharalis* Fabr. (Lep., Crambidae) populations at different spatial scales in sugarcane fields in Brazil. *Journal of Applied Entomology* 127: 501–508.
- Rossi MN & Fowler HG (2003b) The sugarcane borer *Diatraea saccharalis* (Fabr.) (Lep., Crambidae) and its parasitoids: a synchrony approach to spatial and temporal dynamics. *Journal of Applied Entomology* 127: 200–208.

- Sallam MN, Overholt WA & Kairu E (2001) Dispersal of the exotic parasitoid *Cotesia flavipes* in a new ecosystem. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 98: 211–217.
- Schexnayder Jr. HP, Reagan TE & Ring DR (2001) Sampling for the sugarcane borer (Lepidoptera: Crambidae) on sugarcane in Louisiana. *Journal of Economic Entomology* 94: 766-771.
- Vacari AM, De Bortoli SA, Borba DF & Martins MIEG (2012) Quality of *Cotesia flavipes* (Hymenoptera: Braconidae) reared at different host densities and the estimated cost of its commercial production. *Biological Control* 63: 102-106.
- Van Leerdam MB, Smith Jr. JW & Fuchs TW (1985) Frass-mediated, host-finding behavior of *Cotesia flavipes*, a braconid parasite of *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Pyralidae). *Annals of the Entomological Society of America* 78: 647-650.
- Van Lenteren JC (1991) Quality control of natural enemies: hope or illusion? Quality control of mass reared arthropods (ed. by F BIGLER). In: 5th Proceedings of the Workshop of the IOBC global working group (OILB/IOBC). Wageningen, The Netherlands, pp. 1-14.
- Vet LEM & Dicke M (1992) Ecology of infochemical use by natural enemies in a tritrophic context. *Annual Review of Entomology* 37: 141-172.
- Volpe HXL (2009) Distribuição espacial do parasitismo de *Cotesia flavipes* (Cameron, 1891) (Hymenoptera: Braconidae) em cana-de-açúcar. Dissertation (Master in Agricultural Entomology), Faculdade de Ciências Agrárias e veterinárias de Jaboticabal, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, SP, 67 p.
- White WH, Reagan TE, Smith Jr. JW & Salazar JA (2004) Refuge releases of *Cotesia flavipes* (Hymenoptera: Braconidae) into the Louisiana sugarcane ecosystem. *Environmental Entomology* 33: 627-632.
- Wiedenmann RN & Smith Jr. JW (2006) Use of ablated stalks to assess field rates of parasitism of *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae) by *Cotesia flavipes* (Hymenoptera: Braconidae). *Biocontrol Science and Technology* 16: 37–48.

Zhou G, Baumgärtner J & Overholt WA (2001) Impact assessment of an exotic parasitoid on stemborer (Lepidoptera) population dynamics in Kenya. *Ecological Applications* 11: 1554–1562.

Tabela 1. Pontos amostrados, pontos com lagartas recuperadas, lagartas recuperadas e parasitadas e porcentagem de parasitismo de *Cotesia flavipes* em três métodos de infestação com *Diatraea saccharalis* em áreas de cana-de-açúcar.

Método de infestação	Área	Pontos amostrados	Pontos com lagartas recuperadas	Lagartas recuperadas	Lagartas parasitadas	Parasitismo (%)
Posturas	T-R1	100	7	11	0	0,00
	T-R2	100	5	5	0	0,00
	T-R3	100	16	20	3	15,00
	L-R1	100	3	3	0	0,00
	L-R2	100	5	5	3	60,00
	L-R3	100	4	4	1	25,00
Lagartas “sentinelas”	T-R1	100	93	273	1	0,36
	T-R2	100	94	294	0	0,00
	L-R1	100	98	439	24	5,47
	L-R2	100	95	498	5	1,00
Infestação Natural	T-R1	100	61	114	42	36,84
	T-R2	100	69	121	42	34,71
	T-R3	100	76	185	61	32,97
	L-R1	100	81	157	51	32,48
	L-R2	100	79	119	45	37,81
	L-R3	100	86	139	51	36,69

T-R1: Testemunha, repetição 1; T-R2: Testemunha, repetição 2; T-R3: Testemunha, repetição 3; L-R1: Liberação, repetição 1; L-R2: Liberação, repetição 2; L-R3: Liberação, repetição 3.

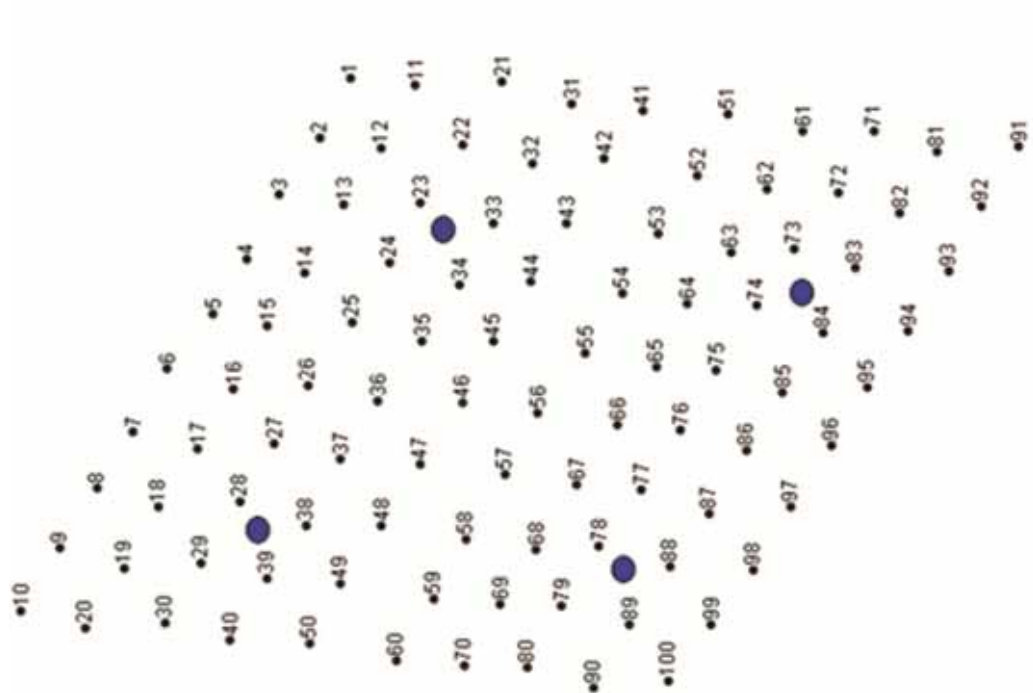


Figura 1. Área amostral de cana subdividida em 100 sub-unidades, mostrando os pontos de liberação de *Cotesia flavipes* e pontos amostrais (● pontos de coleta) e (● pontos de liberação).

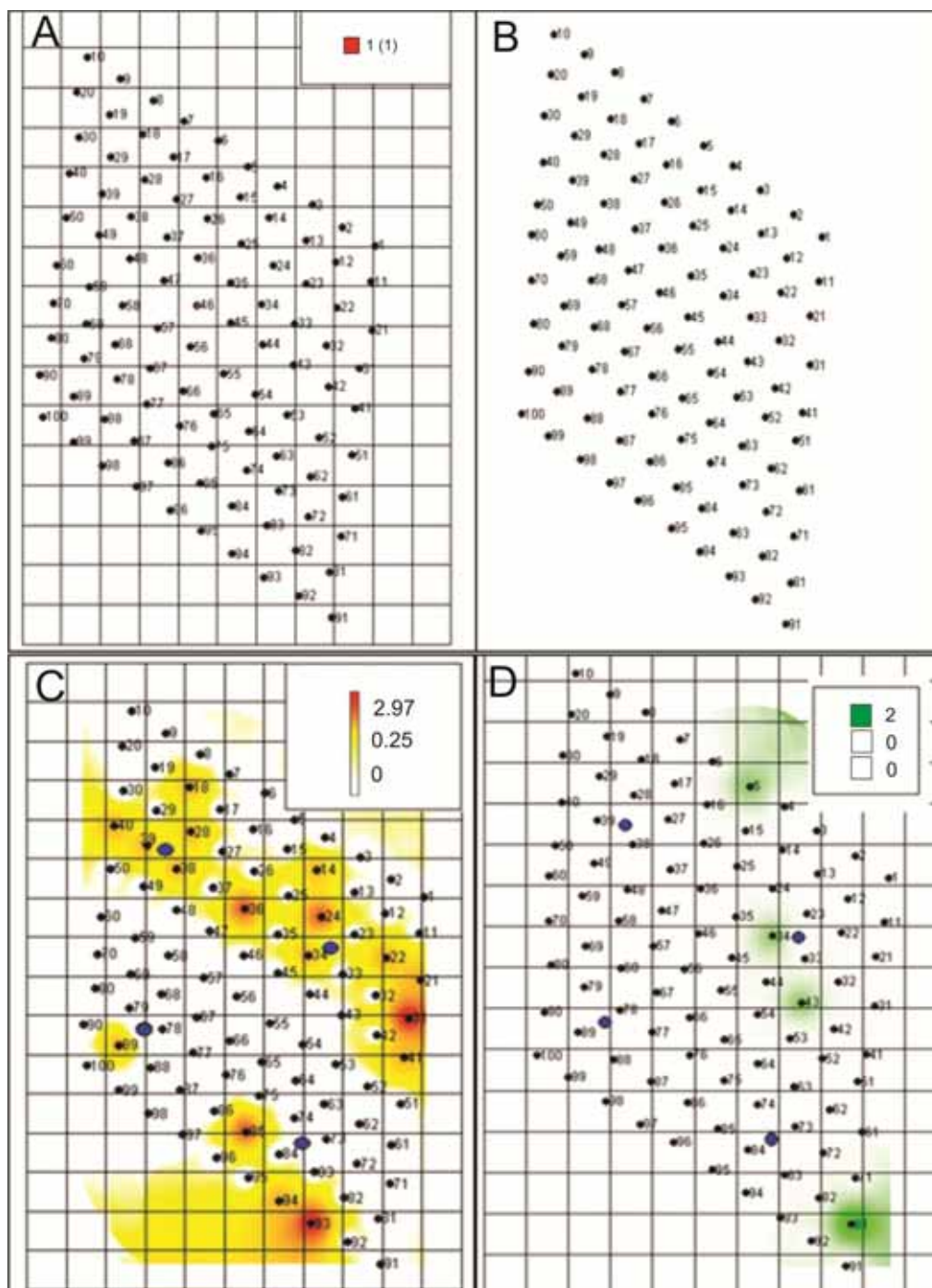


Figura 2. Mapas bidimensionais do número de lagartas parasitadas por *Cotesia flavipes* com infestação artificial do hospedeiro em toletes de cana. A) área sem liberação de *C. flavipes* – repetição 1; B) área sem liberação de *C. flavipes* – repetição 2; C) liberação em quatro pontos por hectare (pontos em azul) – repetição 1; e D) liberação em quatro pontos por hectare (pontos em azul) – repetição 2 (Jaboticabal, São Paulo, Brasil).

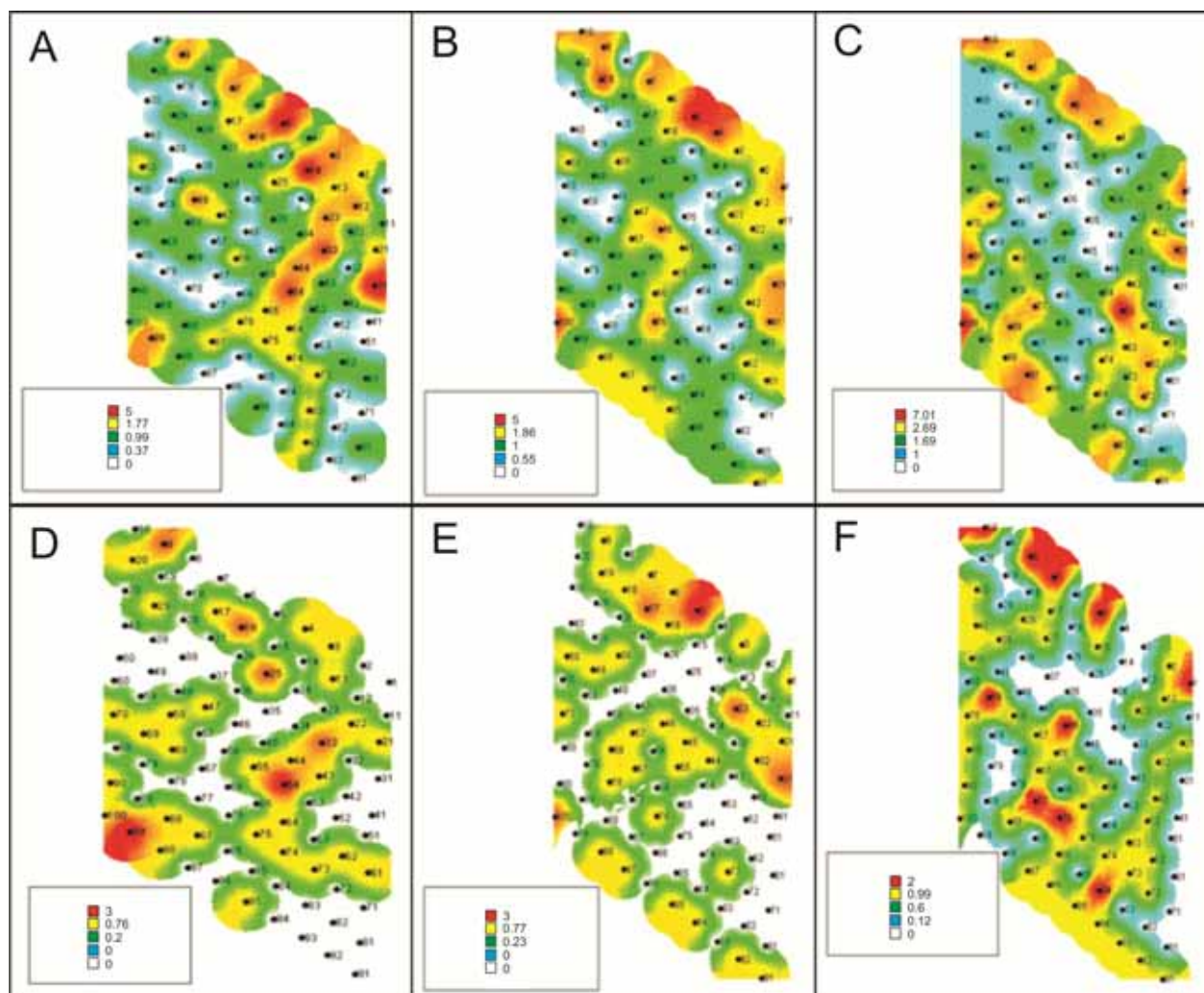


Figura 3. Mapas bidimensionais do número lagartas recuperadas (A - C) e parasitadas (D - F) por *Cotesia flavipes* nas áreas testemunha (sem liberação de *Cotesia flavipes*) com o uso da infestação natural do hospedeiro. A) lagartas recuperadas – repetição 1; B) número de lagartas recuperadas – repetição 2; C) número de lagartas recuperadas – repetição 3; D) número de lagartas parasitadas (parasitismo natural) – repetição 1; E) número de lagartas parasitadas (parasitismo natural) – repetição 2; e F) número de lagartas parasitadas (parasitismo natural) – repetição 3 (Guariba, São Paulo, Brasil).



Figura 4. Mapas bidimensionais do número de lagartas recuperadas (A – C) e número de lagartas parasitadas (D – F) por *Cotesia flavipes* nas áreas de liberação em quatro pontos por hectare (pontos em azul) com o uso de infestação natural do hospedeiro. A) número de lagartas recuperadas – repetição 1; B) número de lagartas recuperadas –repetição 2; C) número de lagartas recuperadas –repetição 3; D) número de lagartas parasitadas – repetição 1; E) número de lagartas parasitadas – repetição 2; e F) número de lagartas parasitadas – repetição 3 (Guariba, São Paulo, Brasil).

Capítulo 3 - Controle biológico natural e número de pontos de liberação de *Cotesia flavipes* (Cameron) (Hymenoptera: Braconidae) para o controle de *Diatraea saccharalis* (F.) (Lepidoptera: Crambidae) em cana-de-açúcar.

Controle biológico natural e pontos de liberação de *C. flavipes*

Palavras chave: Controle biológico aplicado, liberação massal, estabelecimento de parasitoide, controle de qualidade, Saccharum officinarum.

Resumo

O estudo da área de cobertura do parasitismo natural e após liberações inundativas auxiliam na determinação de técnica de liberação de um agente de controle biológico. O objetivo do trabalho foi avaliar a influência do controle biológico natural e métodos liberação de *Cotesia flavipes* (Cameron) (Hymenoptera: Braconidae) para o controle de *Diatraea saccharalis* (F.) (Lepidoptera: Crambidae) em cana-de-açúcar. Foram testados métodos utilizando liberação de 8 e 12 pontos por hectare, com densidade fixa de 6000 parasitoides por hectare e com o uso de infestação natural de *D. saccharalis*. As áreas foram amostradas antes e após a liberação de *C. flavipes*, com três repetições para cada método de liberação e 100 pontos amostrados por área. Contabilizou-se o número de lagartas recuperadas e parasitadas por ponto amostral para cálculo da porcentagem de parasitismo, índices de dispersão, distribuição de frequências e construção de gráficos geoestatísticos bidimensionais. A porcentagem de parasitismo, tanto para as áreas de liberação como testemunha, foi da ordem de 30% e o parasitismo foi agregado ou uniforme, não havendo modificações na distribuição após liberação inundativa de *C. flavipes*. A liberação de 6000 parasitoides, independentemente do método de liberação estudado não incrementa o parasitismo em relação ao observado nas áreas sem liberação. Novos métodos devem ser estudados, liberando-se maior densidade de parasitoides, além de avaliar liberações localizadas próximas às áreas de agregação do hospedeiro, haja vista que a porcentagem de controle mensurada pelo

parasitismo natural ou após liberações massais não é satisfatória para manter o hospedeiro em nível de equilíbrio.

Introdução

A liberação de inimigos naturais é negligenciada pela maioria dos programas de controle biológico. São poucas as pesquisas que visam determinar qual a melhor técnica de liberação e as adaptações que ela deve sofrer (Overholt et al., 1994a; Pinto & Parra, 2002).

Além disso, apesar de inimigos naturais terem sido devidamente avaliados antes do uso comercial cerca de 20 anos atrás, hoje algumas espécies são vendidas sem a realização de testes que demonstrem sua real eficiência no campo (Van Lenteren, 2003).

É importante salientar que no Brasil há diferenças na produção massal de *Cotesia flavipes* (Cameron, 1891) (Hymenoptera: Braconidae) entre biofábricas, podendo-se ressaltar modificações nos componentes usados na dieta artificial empregada na alimentação do hospedeiro *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794) (Lepidoptera: Crambidae) com o objetivo de diminuir o custo de produção, porém sem critérios científicos (Veiga et al., 2013).

Van Lenteren & Tommasini (2003) relataram que mudanças na dieta artificial e otimização do espaço utilizado na criação podem acarretar em sérios problemas na qualidade final do parasitoide. Esse fato é comum em laboratórios brasileiros, que modificam dietas para utilizarem ingredientes mais baratos (Veiga et al., 2013), além de aumentarem a densidade de lagartas parasitadas por recipiente de criação (Vacari et al., 2012).

O impacto dessas modificações é ilustrado por Veiga et al. (2013) que mostraram diferenças biológicas e morfométricas em *C. flavipes* provenientes de diferentes laboratórios brasileiros de produção massal, provavelmente correlacionadas com diferenças nas técnicas de criação massal. Tais diferenças podem estar relacionadas também com a agressividade e capacidade de mobilidade e dispersão desses insetos.

Estudos de distribuição são essenciais e vitais para se entender a área de cobertura de um parasitoide após a liberação em uma geração (Castillo et al., 2006),

estando intimamente relacionadas com controle de qualidade em técnicas de criação massal e com o número de gerações em laboratório.

Sallam et al. (2001) observaram que *C. flavipes* parasita *Chilo partellus* Swinhoe, 1885 (Lepidoptera:Crambidae) em milho a distâncias de até 64 metros do ponto de liberação. Em contrapartida, no Brasil, a dispersão de *C. flavipes* foi estudada há 34 anos por Botelho et al. (1980) para o controle de *D. saccharalis* em cana-de-açúcar. Os autores constataram parasitismo médio à distância de 34,38m do ponto de liberação. Essa distância é ainda hoje utilizada como base para liberações inundativas do parasitoide em canaviais comerciais de todo o Brasil. Os 6000 parasitoides são distribuídos em 4 pontos espaçados 50 metros entre si, considerando seu raio de ação de 25 metros. O raio é menor em relação ao observado por Botelho et al. (1980), pois adota-se uma margem de segurança durante a liberação, sendo ela de aproximadamente 10 metros em relação ao observado por estes autores.

No entanto, Volpe et al. (2014), em estudos de distribuição de *C. flavipes* utilizando o método de liberação preconizado por Botelho et al. (1980), observaram parasitismo a 15 metros do ponto de liberação, aproximadamente 10 metros inferior àquela mensurada por Botelho et al. (1980) constatando áreas com parasitismo médio próximo a zero ou nulo entre os pontos de liberação, em uma área experimental de 1 hectare de cana-de-açúcar.

Frente ao exposto, o objetivo deste trabalho foi avaliar a influência do controle biológico natural e de métodos de liberação de *C. flavipes* para o controle de *D. saccharalis*.

Material e Métodos

O experimento foi conduzido durante a safra 2012/2013, na cidade de Jaboticabal, SP, em cana planta variedade CTC 20, plantio em 21/09/2012. Para testar novos métodos de liberação de *C. flavipes* utilizou-se nove áreas de um hectare previamente amostradas e com infestação de 10% de *D. saccharalis*, divididas em 100 sub-unidades georreferenciadas de 10 x 10 m (Sallam et al., 2001) e demarcadas com fita sinalizadora amarela e preta. Três áreas foram utilizadas para avaliar o efeito do parasitismo natural (área sem liberação-testemunha), três

para liberação de oito pontos por hectare e as demais foram realizadas liberações inundativas em 12 pontos (Figura 1).

Os tratamentos (testemunha, liberações em 8 e em 12 pontos por hectare) foram instalados no mesmo talhão e delineados em faixas, sendo a faixa central ocupada pelas três áreas testemunha e separando as áreas de liberação para que não ocorresse migração dos parasitoides liberados nas áreas de 8 pontos para as áreas de 12 pontos e vice-versa. Tomou-se o cuidado de avaliar primeiramente a área testemunha, anteriormente às liberações nas áreas com 8 e 12 pontos por hectare (Figura 1), evitando possível influência do parasitismo realizado pelos insetos liberados nos diferentes tratamentos.

Para os dois métodos de liberação foram mantidos a mesma densidade de parasitoides liberados por hectare, porém distribuindo-os de diferentes maneiras. Para o método com oito pontos de liberação por hectare foram utilizados 750 parasitoides por recipiente e para 12 pontos por hectare, 500.

Com oito pontos por hectare foi liberado na linha um copo a 12,5 metros do carreador e a partir desse ponto, as liberações foram espaçadas de 25 metros, totalizando quatro copos liberados na mesma linha, em uma distância total de 100 metros (comprimento da área). Nas entrelinhas foram liberados copos a cada 50 metros, totalizando duas linhas de liberação em 100 metros (Figura 2).

Para 12 pontos por hectare foi liberado na linha um copo a 13 metros do carreador e a partir desse ponto foram espaçados de 25 metros, totalizando quatro copos liberados na linha em uma distância de 100 metros (comprimento da área). Nas entrelinhas foram liberados copos a cada 33 metros, totalizando três linhas de liberação em 100 metros. Desse modo, foram liberados quatro copos em cada linha, com três linhas de liberação em um hectare (Figura 3).

Após a emergência dos adultos de *C. flavipes*, esperou-se no mínimo oito horas para que ocorresse a cópula e em seguida os parasitoides foram liberados a campo, sempre pela manhã, entre 8 e 9 horas.

Nas áreas experimentais, os parasitoides foram liberados dois dias antes da retirada das lagartas dado este baseado na longevidade do parasitoide de dois dias (Potting et al., 1997).

Para coleta do hospedeiro, em cada um dos pontos amostrais, um metro linear de plantas de cana foi despalhado para verificar orifícios realizados pelas lagartas e, quando constatados, a cana foi cortada longitudinalmente.

As lagartas recuperadas de cada ponto das diferentes áreas foram acondicionadas em placa de Petri de 6 x 2 cm e identificadas com o ponto amostrado. As placas foram mantidas em sala climatizada, com temperatura de $25 \pm 1^\circ\text{C}$, umidade relativa de $70 \pm 10\%$ e fotoperíodo de 12L:12E, até a formação de pupa do parasitoide, para avaliação do número de lagartas recuperadas e parasitadas em cada ponto amostral.

A contagem de lagartas recuperadas e parasitadas obtidas a partir das áreas experimentais foi utilizada para cálculo da porcentagem de lagartas parasitadas, índices de dispersão (razão variância/média, Índice de Morisita e Coeficiente de Green) e distribuição de frequências (Poisson e binomial negativa). Também foram elaborados gráficos bidimensionais, correlacionando o ponto amostral georreferenciado com o número de lagartas parasitadas para aquele ponto, utilizando o Software MapInfo®.

Resultados

Nas áreas-testemunha (R1 e R3), com liberação de *C. flavipes* em 8 pontos e 12 pontos por hectare (R1 e R2), foi observado que a variância apresentou valores similares à média e o índice de dispersão razão variância/média (I) valor próximo a 1, indicando distribuição espacial aleatória. O índice de Morisita apresentou valores próximos a 1,00 e C_x foi próximo a zero (0), o que caracteriza distribuição aleatória para esses tratamentos (Tabela 1).

Na área testemunha (R2), a variância apresentou valores inferiores à média e o índice de dispersão razão variância/média (I) valores inferiores a 1, indicando distribuição espacial uniforme. O índice de Morisita apresentou valor inferior a 1 e os valores calculados para C_x foram negativos, caracterizando a distribuição uniforme do parasitismo (Tabela 1). Já a repetição R3 para 12 pontos apresentou distribuição agregada, confirmada pelo fato da variância apresentar valor superior à média e consequentemente maior que 1 para a relação variância/média. Para essa repetição, o índice de Morisita foi maior que 1 e C_x positivo.

Os resultados para a distribuição de frequências esperadas para as áreas testemunha e de liberações inundativas com 8 e 12 pontos por hectare (Tabela 2) confirmam o tipo de distribuição do parasitismo já calculados pelos índices de dispersão (Tabela 1). Para a maioria dos tratamentos e repetições, a frequência observada se ajustou à frequência esperada por Poisson, o que caracteriza distribuição aleatória, com exceção da Testemunha R2, que foi significativo para Poisson e não apresentou distribuição aleatória, e 12 pontos R3, que se ajustou a Binomial Negativa, o que caracteriza distribuição agregada.

Frente a influência exercida pelo parasitismo natural nas áreas de liberação de 8 ou 12 pontos por hectare, comprovada pela não alteração da distribuição do parasitismo, foi determinada a eficiência do parasitismo exercido pelos insetos nas áreas testemunha, 4 (dados extraídos do capítulo 2), 8 e 12 pontos por hectare (Tabela 3).

Pela análise do parasitismo exercido por *C. flavipes* nos diferentes tratamentos foi observado que a porcentagem de lagartas parasitadas nas áreas tratadas foi similar àquelas das áreas sem liberação, independente do tipo de caminhar realizado na área para distribuir os copos contendo os parasitoides.

Pelos mapas foi verificado que as áreas de maior recuperação de lagartas (Figuras 4A, B e C) não estão diretamente relacionadas com as áreas de maior densidade de parasitismo (Figuras 4D, E e F), ocorrendo um padrão de distribuição independente do hospedeiro em relação ao parasitoide. Pelos mapas de parasitismo fica evidente a formação de pequenas manchas com maior parasitismo para as três repetições (Figuras 4D, E e F), com parasitismo médio num raio de 10 metros variando de (0,5 a 2,0), o que retrata a aleatoriedade do parasitismo já dado pelos índices de dispersão e distribuição de frequências.

A Figura 5 confronta mapas bidimensionais das lagartas recuperadas (Figuras 5A, B e C) com o parasitismo de *C. flavipes* liberado em 8 pontos por hectare (Figuras 5D, E e F). Comparando a distribuição da densidade de lagartas recuperadas por ponto e do parasitismo nos mesmos pontos, foi observado que não existe relação de parasitismo mais expressivo nas áreas de maior coleta de lagartas, sugerindo a não dependência do padrão de distribuição entre os insetos. Exceção é

feita na comparação entre as Figuras 5 C e F, onde áreas com maior coleta de lagartas apresentaram maior parasitismo.

Não houve incremento no número de lagartas parasitadas entre a testemunha (Figura 4 D, E e F) e as áreas com 8 pontos de liberação (Figura 5D, E e F). Tal fato foi evidenciado pelo número médio de lagartas parasitadas em um raio de 10 metros, não excedendo a duas, e comprovado pela porcentagem de parasitismo que foi em média 32,79% e muito próximo à testemunha (Tabela 3). Além disso, a distribuição dos insetos em 8 pontos distintos na área deixa lacunas, representadas por pontos onde foram coletadas lagartas, mas ocorreu parasitismo baixo ou nulo, não atendendo o controle total da área.

Comparando os mapas bidimensionais das lagartas recuperadas (Figuras 6A, B e C) com o parasitismo de *C. flavipes* liberado em 12 pontos por hectare (Figuras 6D, E e F) foi verificado a ocorrência de um padrão entre as distribuições das lagartas recuperadas e parasitismo para as áreas 6B e E e 6C e F, respectivamente.

Nas Figuras 6A e D, as áreas com maior coleta de lagartas não correspondem ao maior parasitismo. Porém, não houve incremento no número de lagartas parasitadas entre as áreas de liberação de 12 pontos e testemunha (29,92 e 28,93% de parasitismo, respectivamente) (Tabela 3). Tal fato sugere que o parasitismo natural foi o grande responsável pelo controle, até mesmo nas áreas de liberação, sendo comprovado pela presença de áreas com parasitismo nulo ou próximas a zero. Dessa maneira, mesmo distribuindo o parasitoide de uma maneira mais uniforme (12 pontos), o que contribui com sua distribuição na área, há áreas sem controle eficiente.

Discussão

Estudos de distribuição são essenciais para se entender a área de cobertura após a liberação em uma geração (Castillo et al., 2006). Estimativas mais precisas de dispersão são possíveis quando se pode comprovar que os indivíduos capturados são provenientes de liberação e isso só é possível em áreas que há ausência de inimigos naturais ou por meio de técnicas de marcação (Avila et al., 2013).

Tentativas de recaptura de *C. flavipes* após liberação foram realizadas por Volpe et al. (2014) sem sucesso, tanto com o uso de armadilhas de Moericke, bem como com armadilhas adesivas amarela.

Neste estudo, nenhum dos métodos de liberação testados incrementou a densidade de lagartas parasitadas em relação às áreas-testemunha e não modificou a distribuição do parasitismo. A não contribuição da liberação deve-se ao expressivo parasitismo natural constatado em todas as áreas, sendo que as áreas-testemunha e de liberação apresentaram a mesma porcentagem de parasitismo, em torno de 30%. Dessa maneira, mesmo após a liberação de 6.000 parasitoides, a porcentagem de parasitismo manteve-se inalterada e o padrão de distribuição manteve-se uniforme.

Após 38 anos de liberação inundativa de *C. flavipes* no Brasil, já foram relatados parasitismo natural de *C. flavipes* em canaviais brasileiros (Botelho, 1992; Rossi, 2003; Rossi & Fowler, 2003a e b; Rossi & Fowler 2004 a e b). Os autores, para todos os trabalhos citados utilizaram dados de coleta de duas usinas e relaram variabilidade espacial e temporal de *D. saccharalis*, *C. flavipes* e dípteros tachinídeos em extensas áreas de cana do estado de São Paulo.

A permanência de *C. flavipes* na cultura deve-se ao sistema de cultivo de cana no Brasil, que contribui com a manutenção do hospedeiro. Para a produção contínua de matéria-prima ao longo dos dez meses de colheita por ano, são realizados plantios escalonados, mantendo-se plantas de diferentes idades em áreas próximas e extensas para atender à demanda da unidade produtora de açúcar e álcool.

Esse manejo influencia a distribuição espacial do hospedeiro e inimigos naturais que migram para outras áreas após a colheita da cana (Rossi, 2003) e explica a manutenção de *C. flavipes* na área, o que favoreceu o seu estabelecimento.

White & Wilson (2012) relataram que o clima temperado é a causa do insucesso do estabelecimento de *C. flavipes* na Lousiana, Estados Unidos. Nessa região ocorrem congelamentos periódicos, fato que impede o desenvolvimento de plantas de cana nos meses de janeiro e fevereiro e nos meses de março a maio quando não há internódios presentes. Isso implica em áreas sem infestação do hospedeiro e consequentemente na falha no estabelecimento do parasitoide.

A importação de inimigos naturais de clima tropical, como *C. flavipes*, que não são adaptados para climas temperados, implica em insucessos no estabelecimento do parasitoide (White & Wilson, 2012).

Stiling (1993), após revisar 119 casos de falhas no estabelecimento de agentes de controle biológico, considerou que a falta de sincronização entre hospedeiro e parasitoide e ausência de hospedeiros alternativos são algumas das razões para o insucesso.

A ausência de hospedeiros relatada por White & Wilson (2012) é antagônica ao que foi averiguado por Rossi (2003) e Rossi & Fowler (2003a e b; 2004a e b). Os autores citaram que o manejo da cultura em diferentes idades no Brasil reforça as condições ideais para seu estabelecimento, fato que não ocorre na Lousiana.

Em contrapartida, inúmeros trabalhos relataram casos de sucesso no estabelecimento do parasitoide em regiões de clima tropical. Omwega et al. (1997) relataram que *C. flavipes* liberado no Sudeste do Quênia foi recapturado na Tanzânia, 240 km do ponto mais próximo de liberação. Passados dois anos das liberações na Somália, Getu et al. (2001) coletaram parasitoides em muitos locais da Etiópia e, posteriormente, foi relatado seu estabelecimento na Etiópia em plantios de milho e sorgo (Getu et al., 2003). Insetos liberados no Sudeste do Quênia (Overholt et al., 1994b) foram encontrados a 2000 km do ponto de liberação na Somália (Overholt, 1998) e a 2500 km de distância na Girana, Etiópia (Getu et al., 2003). Com base nesses estudos, Assefa et al. (2008) citaram que *C. flavipes* se dispersa numa taxa de 200 km por ano, para migrarem do Quênia e se estabelecerem na Etiópia.

Além do manejo da cultura que favorece a migração do parasitoide para novas áreas à procura de hospedeiros e liberações inundativas por quase 40 anos, o parasitismo natural expressivo encontrado neste trabalho é explicado pelo método de amostragem. O estudo foi realizado usando hospedeiros da área e expostos aos parasitoides antes da liberação inundativa. Nesse caso, os parasitoides presentes na área tiveram maior tempo de contato com os hospedeiros em relação aos liberados, o que fortalece a explicação do não incremento do parasitismo após liberações inundativas.

O não incremento do parasitismo após liberação massal do parasitoide também pode ser explicado pela relação parasitoide-hospedeiro no momento do parasitismo.

Potting et al. (1997) relataram que o parasitismo por *C. flavipes* é de alto risco, havendo alta mortalidade da vespa durante a entrada no colmo para atacar a lagarta. Os autores observaram que 30 a 40% dos parasitoides são mortos pelo regurgito da lagarta no interior do colmo no primeiro parasitismo, o que reduz o número de insetos capazes de parasitar novo hospedeiro, sendo raro na natureza o parasitismo de mais de três lagartas, o que justifica a distribuição agregada do parasitismo.

Assim, sugere-se que próximo aos pontos de liberação, o parasitoide terá sucesso no primeiro parasitismo, porém haverá uma redução aproximada de 40% dos insetos aptos para procurarem novo hospedeiro. Além disso, a probabilidade de encontro do hospedeiro é influenciada pela distância entre ele e o parasitoide, tendendo a agregação no parasitismo (Potting et al., 1997).

Dessa maneira, apesar do parasitismo natural ser atuante e de sua distribuição não ser alterada após liberações inundativas, fica evidente que a porcentagem de controle de *D. saccharalis* é baixa.

Para que ocorra incremento no parasitismo em relação à área testemunha, devem ser testados novos métodos de liberação do parasitoide, aumentando-se a densidade de insetos liberados por hectare. A densidade do parasitismo natural não permitiu a quantificação do parasitismo promovido pelos insetos liberados, provavelmente pelo fato da densidade dos parasitoides que atuam naturalmente na área ser maior em relação aos 6.000 liberados.

Pomari et al. (2008) recomendaram a adoção de oito pontos de liberação/ha, com 750 parasitoides por ponto e total de 6000 vespas, enquanto Mihsfeldt et al. (2008) sugeriram a liberação em ponto central e 3000 vespas/ha. Porém, frente aos resultados com o método utilizando infestação natural, não basta apenas mudar o número de pontos a ser liberado, mas é preciso aumentar a densidade de insetos liberados por área.

Conclusões

O parasitismo natural de *D. saccharalis* por *C. flavipes* é expressivo em canaviais da região de Jaboticabal, SP, Brasil.

As liberações de 8 ou 12 pontos por hectare com um total de 6000 parasitoides não são eficientes para controle satisfatório de *D. saccharalis*.

Agradecimentos

À Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP – Processo número 2011/50060-4) pela concessão de bolsa de estudo.

À Usina São Carlos e Usina Santa Elisa– Grupo Louis Dreifus, Jaboticabal, SP, por disponibilizar áreas para instalação de experimento e equipe técnica para escolha de talhões e amostragem.

Ao Laboratório de Entomologia da Usina São Martinho, Pradópolis, SP, por conceder material experimental.

Referências

- Assefa Y, Mitchell A, Conlong DE & Muirhead KA (2008) Establishment of *Cotesia flavipes* (Hymenoptera: Braconidae) in sugarcane fields of Ethiopia and origin of founding population. *Journal of Economic Entomology* 101: 686–691.
- Avila GA, Berndt LA & Holwell GI (2013) Dispersal behavior of the parasitic wasp *Cotesia urabae* (Hymenoptera: Braconidae): a recently introduced biocontrol agent for the control of *Uraba lugens* (Lepidoptera: Nolidae) in New Zealand. *Biological Control* 66: 166–172.
- Botelho PSM (1992) Quinze anos de controle biológico da *Diatraea saccharalis* utilizando parasitoides. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 27: 255–262.
- Botelho PSM, Macedo N & Mendes AC (1980) Aspects of the population dynamics of *Apanteles flavipes* (Cameron) and support capacity of its host *Diatraea saccharalis* (Fabr.). In: Proc 17th Congress of the International Society of Sugar Cane Technologists, Manila, Philippines, pp. 1736–1745.
- Castillo A, Infante F, Valle J & Espinoza JC (2006) Dispersión del parasitoide africano *Phymastichus coffea* LaSalle (Hymenoptera Eulophidae) en un nuevo agroecosistema. *Folia Entomologica Mexicana* 45: 319–327.

- Getu E, Overholt WA, Kairu E & Omwega CO (2003) Evidence of the establishment of *Cotesia flavipes* (Hymenoptera: Braconidae), a parasitoid of cereal stemborers, and its host range expansion in Ethiopia. *Bulletin of Entomological Research* 93: 125–129.
- Getu E, Overholt WA, & Kairu E (2001) Distribution and species composition of stem borers and their natural enemies in maize and sorghum in Ethiopia. *Insect Science and its Application* 21: 353–359.
- Mihsfeldt LH, Pomari AF, Souza TA, Sismeiro MNS, Camícia RF da M & Pinto AS (2008) Dispersão de *Cotesia flavipes* em cana-de-açúcar (cana-planta), no município de Bandeirantes-Paraná.. In: 22th Congresso Brasileiro de Entomologia, Uberlândia, Brazil. (CD-ROM).
- Omwega CO, Overholt WA, Mbapila JC & Kimani-Njogu SW (1997) Establishment and dispersal of *Cotesia flavipes* (Cameron) (Hymenoptera: Braconidae), an exotic endoparasitoid of *Chilo partellus* (Swinhoe) (Lepidoptera: Pyralidae) in northern Tanzania. *African Entomology* 5: 71–75.
- Overholt WA (1998). Biological control: African cereal stem borers: economic importance, taxonomy, natural enemies and control. (ed. by A Polaszek) CAB International, Wallingford, Oxon, United Kingdom, pp. 349–362.
- Overholt WA, Ngi-Song AJ, Kimani SK, Mbapila J, Lammers P & Kioko E (1994b) Ecological considerations of the introduction of *Cotesia flavipes* Cameron (Hymenoptera: Braconidae) for biological control of *Chilo partellus* (Swinhoe) (Lepidoptera: Pyralidae), in Africa. *Biocontrol News and Information* 15: 19–24.
- Overholt WA, Ochieng JO, Lammers PM & Ogedah K (1994a) Rearing and field release methods for *Cotesia flavipes* Cameron (Hymenoptera: Braconidae), a parasitoid of tropical gramineous stemborers. *Insect Science and Its Application* 15: 253–259a.
- Pinto AS & Parra JRP (2002) Liberação de inimigos naturais: Controle biológico no Brasil: parasitoides e predadores. (ed. by JRP Parra, PSM Botelho, BS Correa-Ferreira & JMS Bento) Manole, São Paulo, SP, Brazil, pp. 325–342.
- Pomari AF, Mihsfeldt LH, Sismeiro MN, Baldini V & Pinto AS (2008) Dispersão de *Cotesia flavipes* em cana-de-açúcar, no município de Bandeirantes-Paraná. In:

- Congresso Brasileiro de Entomologia, 22., 2008, Uberlândia. Anais Uberlândia: UFU: Embrapa Milho e Sorgo: UFV, 2008. 1 CD-ROM.
- Potting RPJ, Overholt WA, Danso FO & Takasu K (1997) Foraging behavior and life history of the stemborer parasitoid *Cotesia flavipes* (Hymenoptera: Braconidae). *Journal of Insect Behavior* 10: 13–29.
- Rossi MN (2003) Possible causes of spatial variability in *Diatraea saccharalis* Fabr. (Lep., Crambidae) and its parasitoid populations in sugarcane fields in Brazil. *Journal of Applied Entomology* 127: 494–500.
- Rossi MN & Fowler HG (2003a) Temporal patterns of parasitism in *Diatraea saccharalis* Fabr. (Lep., Crambidae) populations at different spatial scales in sugarcane fields in Brazil. *Journal of Applied Entomology* 127: 501–508.
- Rossi MN & Fowler HG (2003b) The sugarcane borer *Diatraea saccharalis* (Fabr.) (Lep., Crambidae) and its parasitoids: a synchrony approach to spatial and temporal dynamics. *Journal of Applied Entomology* 127: 200–208.
- Rossi MN & Fowler HG (2004a) Spatial and temporal population interactions between the parasitoids *Cotesia flavipes* and Tachinidae flies: considerations on the adverse effects of biological control practice. *Journal of Economic Entomology* 128: 112–119.
- Rossi MN & Fowler HG (2004b) Spatial pattern of parasitism in *Diatraea saccharalis* Fab. (Lep., Crambidae) populations at two different spatial scales in sugarcane fields in Brazil. *Journal of Economic Entomology* 128: 279–283.
- Sallam MN, Overholt WA & Kairu E (2001) Dispersal of the exotic parasitoid *Cotesia flavipes* in a new ecosystem. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 98: 211–217.
- Stiling P (1993) Why do natural enemies fail in classical biological control programs? *American Entomologist* 39: 31–37.
- Vacari AM, De Bortoli SA, Borba DF & Martins MIEG (2012) Quality of *Cotesia flavipes* (Hymenoptera: Braconidae) reared at different host densities and the estimated cost of its commercial production. *Biological Control* 63: 102–106.
- Van Lenteren JC (2003) Commercial availability of biological control agents: Theory and testing procedures (ed. by JC Van Lenteren) CABI, Wallingford, OX, United Kingdom, pp.167–179.

- Van Lenteren JC & Tommasini MG (2003) Mass Production, Storage, Shipment and Release of Natural Enemies: Quality control and production of biological control agents: theory and testing procedures (ed. by JC Van Lenteren) CABI, Wallingford, OX, United Kingdom, pp.181–189.
- Veiga ACP, Vacari AM, Volpe HXL, Laurentis VL & De Bortoli SA (2013) Quality control of *Cotesia flavipes* (Cameron) (Hymenoptera: Braconidae) from different Brazilian biofactories. *Biocontrol Science and Technology* 23: 665–673.
- Volpe HXL, Barbosa JC, Viel SR, Goulart RM, Vacari AM, Salas C, Veiga ACP & De Bortoli AS (2014). Determination of method to evaluate parasitism and cover area for studies on *Cotesia flavipes* in sugarcane. *African Journal of Agricultural Research* 9: 436- 447.
- White WH & Wilson LT (2012) Feasibility of using an alternative larval host and host plants to establish *Cotesia flavipes* (Hymenoptera: Braconidae) in the temperate Louisiana sugarcane ecosystem. *Environmental Entomology* 41: 275–281.

Tabela 1. Médias, variâncias e índices de dispersão para *Cotesia flavipes* liberados em 8 e 12 pontos por hectare em área de cana-de-açúcar com infestação natural de *Diatraea saccharalis*.

Tratamentos	M	DP	s^2	$I = s^2/m$	I_{δ}	Cx
Testemunha R1	0,21	0,4093	0,1775	0,7979	0,00	$-1,01 \times 10^{-2}$
Testemunha R2	0,34	0,5167	0,2627	0,7855	0,1010	$-4,875 \times 10^{-2}$
Testemunha R3	0,30	0,5025	0,2525	0,8417	0,4597	$-5,457 \times 10^{-3}$
8 pontos R1	0,27	0,4682	0,2129	0,8121	0,2849	$-7,223 \times 10^{-3}$
8 pontos R2	0,33	0,5135	0,2637	0,7992	0,3787	$-6,275 \times 10^{-3}$
8 pontos R3	0,16	0,3949	0,1559	0,9747	0,8333	$-1,6835 \times 10^{-3}$
12 pontos R1	0,15	0,3859	0,1489	0,9932	0,9523	$-4,810 \times 10^{-4}$
12 pontos R2	0,251	0,5	0,25	0,9960	1,00	$-1,660 \times 10^{-4}$
12 pontos R3	0,27	0,5659	0,3203	1,1863	1,7094	$7,166 \times 10^{-3}$

m = Média amostral, DP= desvio padrão, s^2 = variância, I = razão variância/média, I_{δ} = Índice de Morisita e Cx= Coeficiente de Green.

Tabela 2. Teste de qui-quadrado de aderência das frequências observadas às frequências esperadas pela distribuição Binomial Negativa e Poisson para *Cotesia flavipes* liberado em 8 e 12 pontos por hectare (infestação natural de *Diatraea saccharalis*).

Tratamentos	Binomial Negativa		Poisson	
	χ^2	GL	χ^2	GL
Testemunha R1	-	0	-	0
Testemunha R2	-	0	20,1978 ^{**}	1
Testemunha R3	-	0	1,2334 ^{NS}	1
8 pontos R1	-	0	2,1480 ^{NS}	1
8 pontos R2	-	0	2,2258 ^{NS}	1
8 pontos R3	-	0	27,22 ^{NS}	1
12 pontos R1	-	0	0,0017 ^{NS}	1
12 pontos R2	5,9894 [*]	1	5,8537 ^{NS}	2
12 pontos R3	3,7022 ^{NS}	1	15,0187 ^{**}	2

*- Significativo ao nível de 5% de probabilidade

** - Significativo ao nível de 1% de probabilidade

NS - Não significativo

Tabela 3. Porcentagem de parasitismo de *Cotesia flavipes* nas áreas testemunhas (sem liberação inundativa de parasitoides) e nas áreas de liberação com 4, 8 e 12 pontos por hectare usando metodologia com infestação natural do hospedeiro *Diatraea saccharalis*.

Tratamentos	Porcentagem parasitismo de <i>Cotesia flavipes</i> (repetições)			
	R1	R2	R3	Média
Testemunha 4 pontos*	36,84	34,71	32,97	34,84
Liberação 4 pontos*	32,48	37,81	36,69	35,66
Testemunha 8 e 12 pontos	22,82	30,63	33,33	28,93
Liberação 8 pontos	31,03	39,28	28,07	32,79
Liberação 12 pontos	27,78	31,64	30,33	29,92

*Dados referentes ao capítulo 2.



Figura 1. Pontos georreferenciados e disposição dos tratamentos na área amostral.

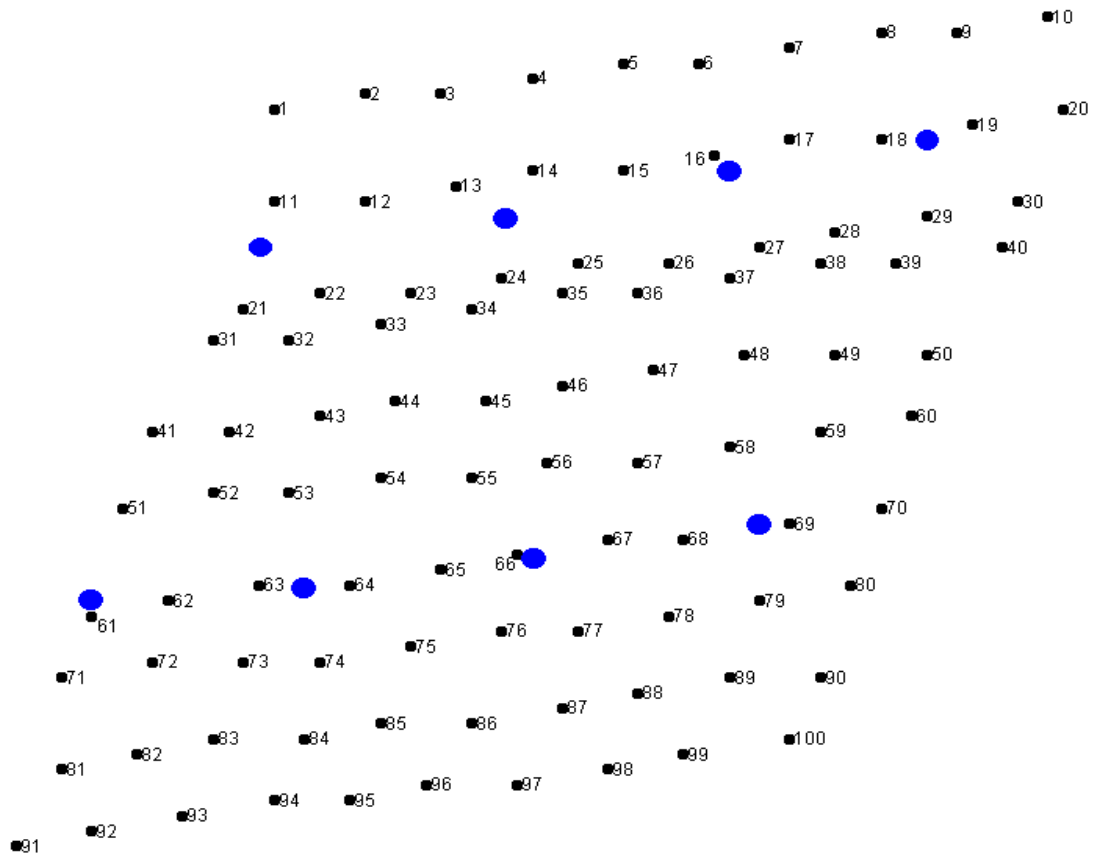


Figura 2. Área amostral de cana subdividida em 100 sub-unidades, mostrando os 8 pontos de liberação do parasitoide e de coleta das lagartas (● pontos de coleta) (● pontos de liberação de *Cotesia flavipes*).

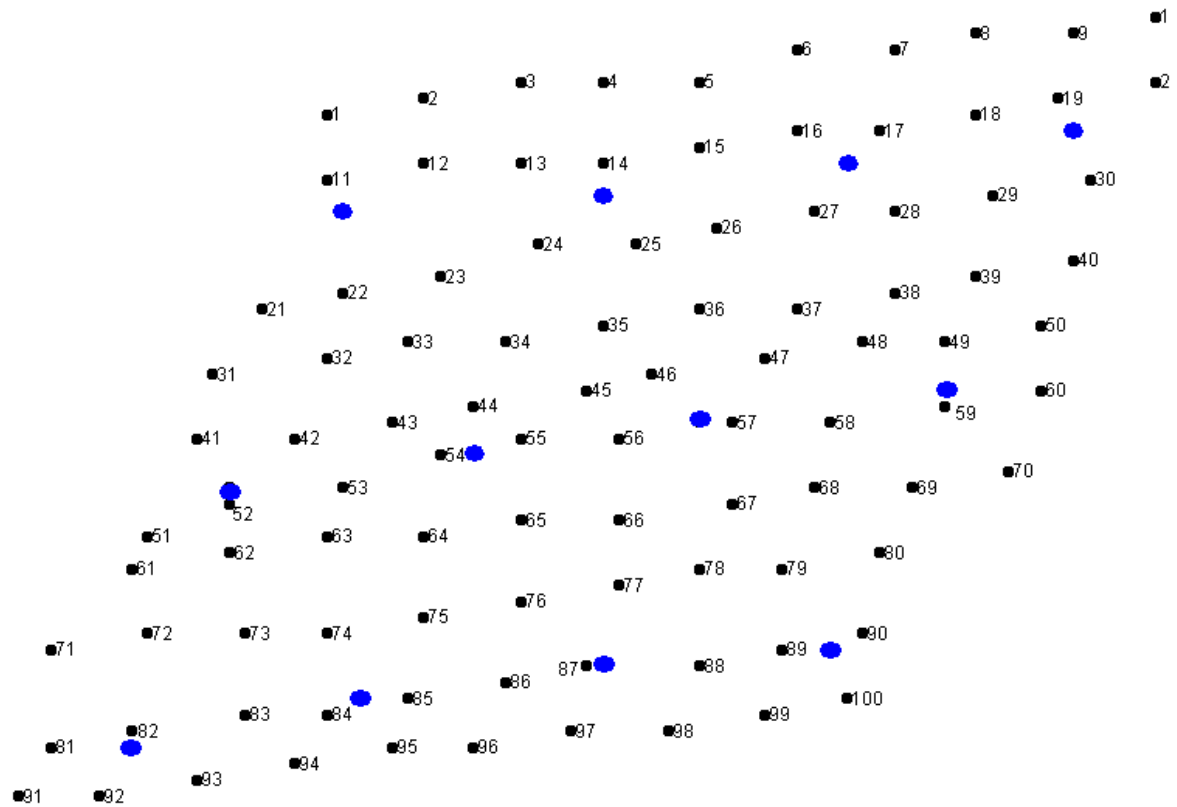


Figura 3. Área amostral de cana subdividida em 100 sub-unidades, mostrando os 12 pontos de liberação do parasitoide e coleta das lagartas (● pontos de coleta) (● pontos de liberação de *Cotesia flavipes*).

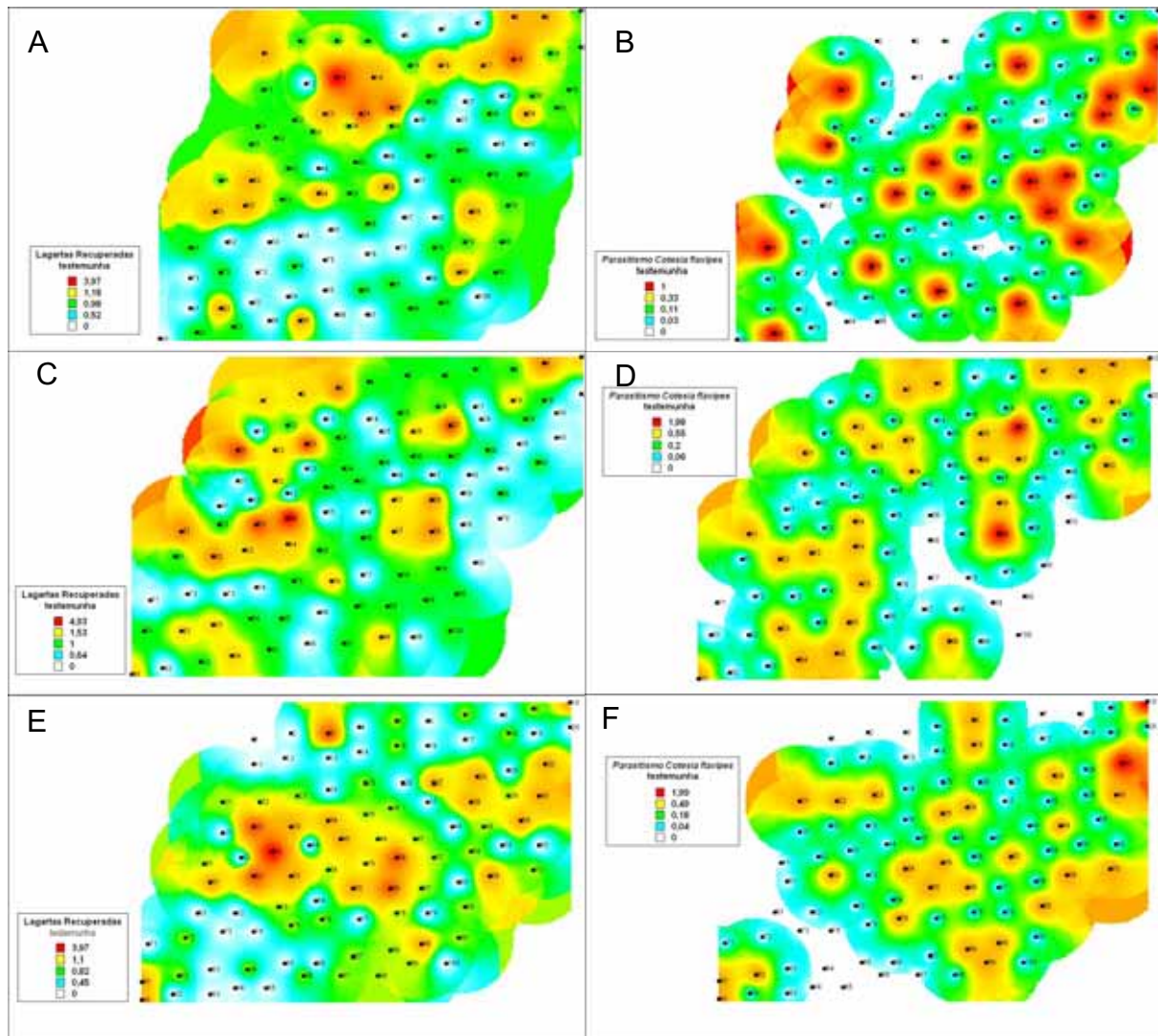


Figura 4. Mapas bidimensionais do número de lagartas recuperadas de *Diatraea saccharalis* e número de lagartas parasitadas de *Cotesia flavipes* nas áreas testemunha (sem liberação de *Cotesia flavipes*). A) número de lagartas recuperadas – repetição 1; B) número de lagartas recuperadas –repetição 2; C) número de lagartas recuperadas –repetição 3; D) número de lagartas parasitadas – repetição 1; E) número de lagartas parasitadas – repetição 2; e F) número de lagartas parasitadas – repetição 3.

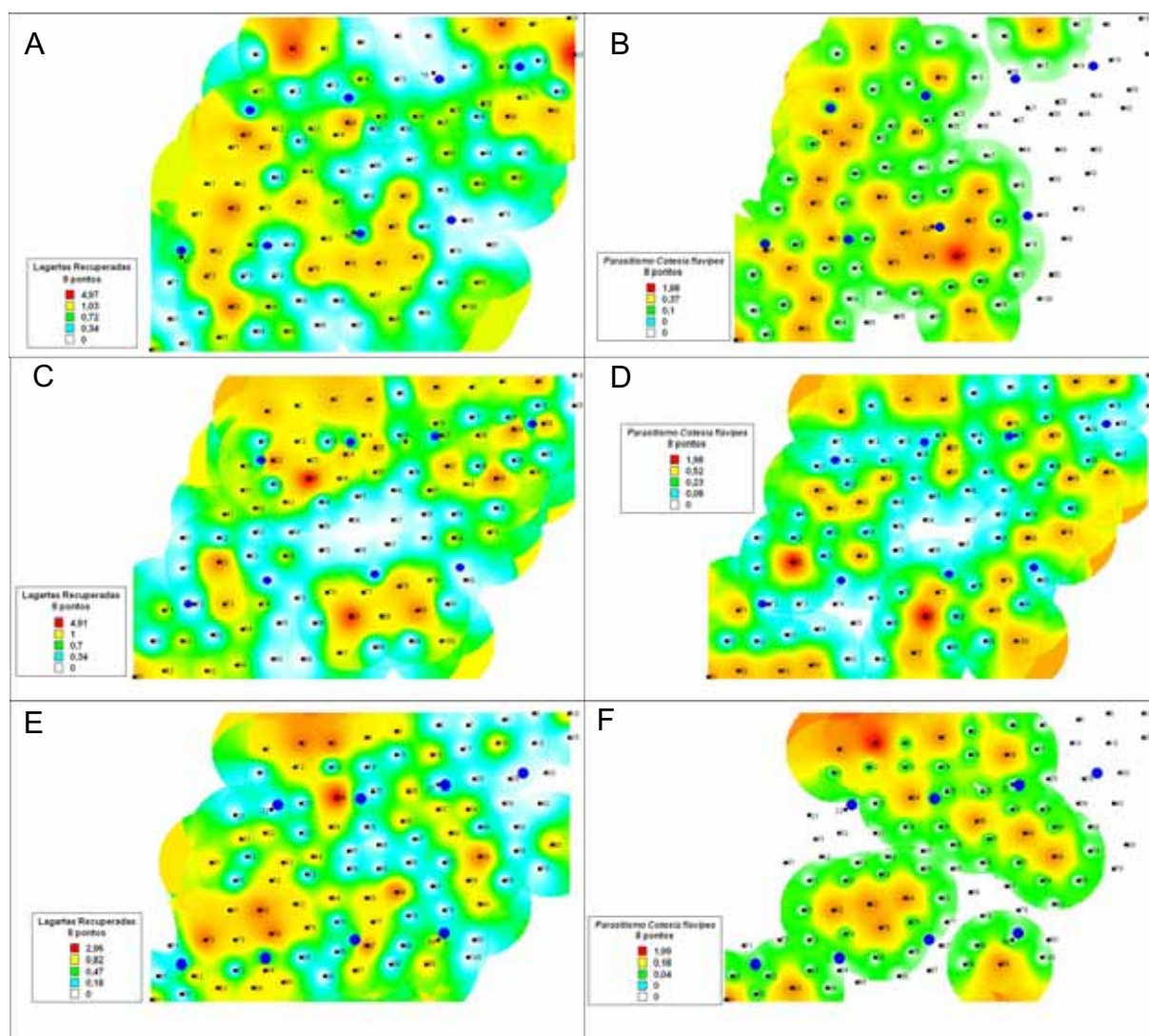


Figura 5. Mapas bidimensionais do número de lagartas recuperadas de *Diatraea saccharalis* e número de lagartas parasitadas de *Cotesia flavipes* nas áreas de liberação de 8 pontos/hectare. A) número de lagartas recuperadas – repetição 1; B) número de lagartas recuperadas –repetição 2; C) número de lagartas recuperadas –repetição 3; D) número de lagartas parasitadas – repetição 1; E) número de lagartas parasitadas – repetição 2; e F) número de lagartas parasitadas – repetição 3.

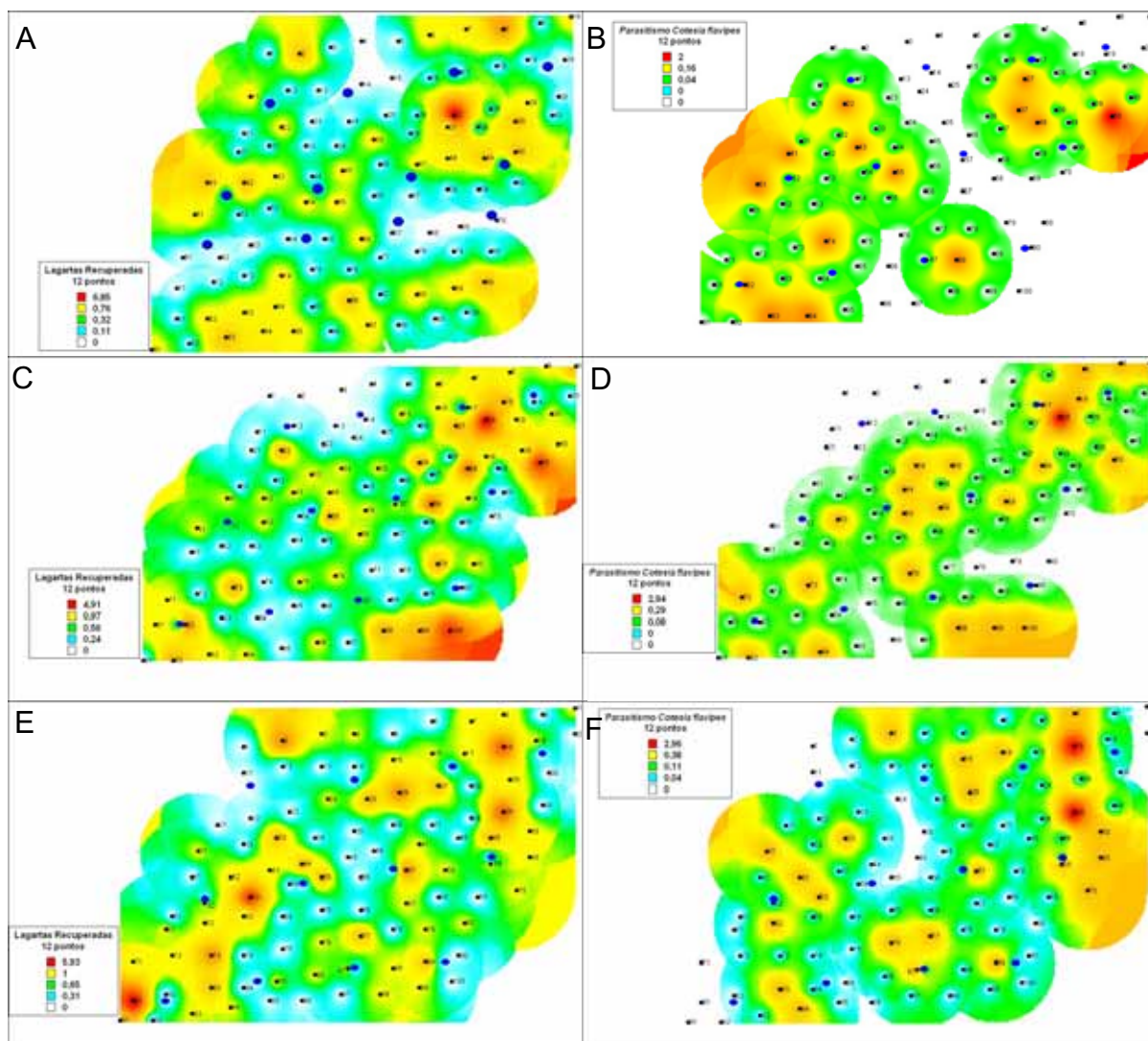


Figura 6. Mapas bidimensionais do número de lagartas recuperadas de *Diatraea saccharalis* e número de lagartas parasitadas de *Cotesia flavipes* nas áreas de liberação de 12 pontos/hectare. A) número de lagartas recuperadas – repetição 1; B) número de lagartas recuperadas –repetição 2; C) número de lagartas recuperadas – repetição 3; D) número de lagartas parasitadas – repetição 1; E) número de lagartas parasitadas – repetição 2; e F) número de lagartas parasitadas – repetição 3.

Capítulo 4 – Considerações finais

Novas pesquisas devem ser realizadas, não apenas no sentido de auxiliar na distribuição dos parasitoides na área liberando-os em pontos menos espaçados (8 e 12 pontos por hectare), mas também há a necessidade de estudar o incremento do parasitismo por meio do aumento da densidade de parasitoides por área, que no presente estudo foi fixado em 6000 indivíduos por hectare.

O estudo proposto partiu do fato de não se saber a localização espacial do hospedeiro no momento da adoção do controle biológico aplicado. A única informação utilizada para a decisão de controle é a porcentagem de infestação da praga. Com base nos subsídios utilizados para a decisão de controle sem o conhecimento da localização do hospedeiro, busca-se distribuir os parasitoides na área da maneira mais uniforme possível, com a finalidade de que o parasitismo cubra toda a área.

Partindo-se dessas informações, é possível que estudos que correlacionem densidade de parasitoides liberados e número de pontos de liberação possam incrementar a porcentagem de controle, uma vez que o presente estudo mostrou que a densidade de 6000 parasitoides, mesmo distribuídos de uma maneira mais uniforme em relação ao que já foi estabelecido com 4 pontos soltura, não é suficiente para controle superior à 30% do hospedeiro.

Outro caminho coerente para o manejo de *D. saccharalis* seria o controle localizado da praga, haja vista os resultados insatisfatórios com os diferentes métodos de liberação realizados no presente trabalho. Para isso, é necessário determinar previamente o local de infestação da praga dentro dos talhões, para posterior liberação localizada do parasitoide.

Existem pesquisas de agricultura de precisão, mais especificamente com fotografias aéreas da cultura, que fornecem resultados precisos em relação ao ataque de pragas. Uma solução seria estudos com veículos aéreos não tripulados providos de câmeras (XIANG; TIAN, 2011; ZHANG; KOVACS, 2012), com sensores infravermelho capazes de detectar ataques de broca-da-cana em reboleiras. Resultados satisfatórios foram desenvolvidos para discriminar plantas saudáveis de

doentes em citros, após contaminação com o agente causal do “greening” (GARCIA RUIZ et al., 2013).

Após a determinação das áreas de reboleiras por meio de sensoriamento remoto e georreferenciamento das áreas atacadas, bastaria realizar liberações dirigidas do parasitoide. O desenvolvimento dessa tecnologia para diagnosticar o ataque de *D. saccharalis* compensaria a ineficiência de busca, localização e agressividade do parasitoide, que seria liberado dentro das áreas com infestação do hospedeiro. Isso acarretaria em incremento do controle, facilitaria o encontro do hospedeiro e aumentaria a porcentagem de controle. Além de ser um método de controle mais racional em relação às liberações inundativas.

Finalmente, frente às observações do controle biológico natural atuante, ressalta-se que o controle químico de *D. saccharalis* e de outras pragas da cana deve ser feito com extrema cautela, buscando-se sempre inseticidas seletivos aos inimigos naturais, para evitar impactos nos agentes de controle biológico natural, que muito contribuem para o controle da praga.

Referências

GARCIA-RUIZ, F.; SANKARAN, S.; MAJA, J. M.; LEE, W. S.; RASMUSSEN, R. E. Comparison of two aerial imaging platforms for identification of Huanglongbing-infected citrus trees. **Computers and Electronics in Agriculture**, Amsterdã, v. 91, p. 106-115, 2013.

XIANG, H.; TIAN, L. Method for automatic georeferencing aerial remote sensing (RS) images from an unmanned aerial vehicle (UAV) platform. **Byosystem Engineering**, Londres, v. 108, n. 2, p. 104-113, 2011.

ZHANG, C.; KOVACS, J. M. The application of small unmanned aerial systems for precision agriculture: a review. **Precision Agriculture**, Nova Iorque, v. 13, n. 6, p. 697-712, 2012.