

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JULIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**DISTRIBUIÇÃO ESPACIAL DO PARASITISMO DE *Cotesia
flavipes* (CAMERON, 1891) (HYMENOPTERA: BRACONIDAE)
EM CANA-DE-AÇÚCAR.**

Haroldo Xavier Linhares Volpe
Engenheiro Agrônomo

JABOTICABAL – SÃO PAULO – BRASIL
Julho de 2009

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JULIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**DISTRIBUIÇÃO ESPACIAL DO PARASITISMO DE *Cotesia
flavipes* (CAMERON, 1891) (HYMENOPTERA: BRACONIDAE)
EM CANA-DE-AÇÚCAR.**

Haroldo Xavier Linhares Volpe

Orientador: Prof. Dr. José Carlos Barbosa

Co-orientador: Prof. Dr. Sergio Antonio De Bortoli

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

Jaboticabal – SP
Julho de 2009

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

HAROLDO XAVIER LINHARES VOLPE - Nascido em Araraquara-SP, em 11 de Agosto de 1982. Engenheiro Agrônomo pela Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal, Universidade Estadual Paulista, título obtido em 30 de junho de 2006. Estágio no Laboratório de Biologia e Criação de Insetos - LBCI na Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal no período de outubro de 2005 a julho de 2007. Mestrando em Agronomia / Entomologia Agrícola nessa mesma instituição, com início em agosto de 2007 e término previsto para agosto de 2009, bolsista do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq. Durante o mestrado participou de Organização de Eventos Científicos, como os I e II Cursos de Inverno e Entomologia Agrícola e o Ciclo de Palestras em Comemoração aos 20 anos do Programa de Pós-Graduação em Entomologia Agrícola.

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

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

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

A minha nova e calorosa família 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

A Simone Cristina Picchi, pelo imenso e caloroso amor, tornando meus dias agradáveis e me incentivando para alcançar meus sonhos.

OFEREÇO

AGRADECIMENTOS

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

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

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

Aos meus orientadores professores José Carlos Barbosa e Sergio Antonio De Bortoli pela oportunidade, ensinamentos, paciência e dedicação, sempre preocupados em me preparar para enfrentar desafios, e, por confiarem e acreditarem no meu trabalho.

Aos integrantes do Laboratório de Biologia e Criação de Insetos Robson Thomaz Thuler, Alessandra Marieli Vacari, Roberto Marchi Goulart, Cácia Leila Tigre Pereira Viana, Elisabeth do Carmo Pedroso, Alessandra Otuka, Ana Carolina Pires Veiga, Valéria Laurents, Gustavo Oliveira de Magalhães e Iara Maria Messiano pela união, profissionalismo, agradável

convivência, preocupação e ajuda imediata em tudo o que foi preciso.
Essa conquista é nossa!!!

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

Aos pesquisadores Nelson Wanderley Periotto, Rogéria Inês Rosa Lara e Daniell Rodrigo Rodrigues Fernandes, pelo apoio, ajuda na finalização desses trabalhos, excelentes opiniões e também companheiros nos momentos 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 minha tia Adriana Xavier Linhares pela preocupação, companhia, conselhos e torcida pra que eu alcance meus objetivos, sempre vibrando com minhas conquistas e as minhas primas Lara e Mariah. Muito obrigado!!!

As meninas "Bigodes" 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, Alexandre Fernandes de Carvalho e Douglas Antonio Alvarado Paixão pela amizade verdadeira, torcida, conselhos e preocupação na minha jornada.

Ao grande amigo Marcos Ortega Garcia, pela torcida e respeito, sempre pronto em ajudar.

À saudosa e acolhedora República Pau da Goiaba, onde aprendi muito a conviver, dividir, divertir, rir e estudar nesses 8 anos de Jaboticabal. Obrigado Mula, Splinter, Carlinhos, Terceiro, Roberto Noda, Fabinho,

Tata, Fiofó, Muralha, Vudu, Bgay, Traveco, Yoshi, Duendi, Pica-pau, Atchim, Burro, Teta, J-lhão, Tampax, Cidinha e Quitéria e ao seletto grupo de agregados que fazem de nossa casa um local acolhedor.

Aos grandes amigos de São Carlos Jão, Renato, Augusto, Ceará, Léo, Ricardo, Dú, Adriana, Débora e Fabiana, que apesar de longo tempo distante, sempre estão preocupados e prontos a ajudar.

SUMÁRIO

Página

LISTA DE FIGURAS.....	IV
RESUMO	VI
ABSTRACT	VII
1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DE LITERATURA	3
2.1. A cultura da cana-de-açúcar	3
2.1.1. Importância econômica	3
2.2. A broca da cana-de-açúcar, <i>Diatraea saccharalis</i>	6
2.2.1. Importância econômica	6
2.2.2. Biologia.....	7
2.2.3. Danos causados.....	8
2.2.4. Evolução do controle biológico de <i>Diatraea saccharalis</i> no Brasil.....	10
2.3. Controle Biológico de <i>Diatraea saccharalis</i> utilizando o parasitóide larval <i>Cotesia flavipes</i>	13
2.3.1. Histórico e importância de <i>Cotesia flavipes</i> no controle biológico	13
2.3.2. Biologia de <i>Cotesia flavipes</i>	13
2.3.3. Liberação de <i>Cotesia flavipes</i>	15
2.4. Distribuição espacial de insetos	16
2.5. Geoestatística	17
3. MATERIAL E MÉTODOS	19
3.1. Alguns pré-testes realizados visando a recaptura de <i>Cotesia flavipes</i>.....	19

3.1.1. Uso do corante Vermelho de Sudan B na marcação e no desenvolvimento de <i>Diatraea saccharalis</i> e de <i>Cotesia flavipes</i>	19
3.1.2. Influência de cores de bacias utilizadas na confecção de armadilhas de Moericke para coleta de <i>Cotesia flavipes</i>	20
3.1.3. Adição de diferentes concentrações de excrementos de <i>Diatraea saccharalis</i> à solução em armadilhas de Moericke amarela	21
3.1.4. Variação da altura de armadilhas adesivas amarela visando à coleta de <i>Cotesia flavipes</i>	21
3.1.5. Uso do hospedeiro <i>Diatraea saccharalis</i> introduzidas em colmo de cana.....	21
3.2. Distribuição espacial de <i>Cotesia flavipes</i>	22
3.2.1. Local e unidade experimental.....	22
3.2.2. Recaptura dos parasitóides.....	23
3.2.3. Metodologia de liberação	24
3.3. Análise dos dados.....	26
3.3.1. Índices de Dispersão	27
3.3.1.1. Razão variância/média	27
3.3.1.2. Índice de Morisita	28
3.3.1.3. Coeficiente de Green.....	28
3.3.1.4. Expoente k da distribuição binomial negativa: estimativa de k pelo método dos momentos.....	29
3.3.2. Modelos probabilísticos	30
3.3.2.1. Distribuição de Poisson	30
3.3.2.2. Distribuição binomial negativa	30
3.3.3. Teste de qui-quadrado de aderência.....	31
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	32
4.1. Pré-testes realizados visando a recaptura de <i>Cotesia flavipes</i>	32
4.1.1. Uso do corante Vermelho de Sudan B na marcação e no desenvolvimento de <i>Diatraea saccharalis</i> e de <i>Cotesia flavipes</i>	32
4.1.1.1. Marcação de <i>Diatraea saccharalis</i>	32
4.1.1.2. Marcação de <i>Cotesia flavipes</i>	36
4.1.2. Influência de cores de bacias utilizadas na confecção de armadilhas de Moericke para coleta de <i>Cotesia flavipes</i>	38
4.1.3. Adição de diferentes concentrações de excrementos de <i>Diatraea saccharalis</i> à solução em armadilhas de Moericke amarela	39
4.1.4. Variação da altura de armadilhas adesivas amarela visando à coleta de <i>Cotesia flavipes</i>	40
4.1.5. Uso do hospedeiro <i>Diatraea saccharalis</i> introduzidas em colmo de cana visando a recaptura de <i>Cotesia flavipes</i>	41

4.2. Índices de Agregação	41
4.3. Modelos Probabilísticos	42
4.4. Análise geoestatística.....	45
5. CONCLUSÕES	54
6. REFERÊNCIAS.....	55

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1. A) Corte dos colmos em toletes em serra circular; B) Tolete sendo furado com furadeira elétrica para introdução da lagarta; C) Lagarta sendo introduzida no orifício do tolete; D) Toletes fixados entre as linhas de plantio de cana (5 de cada lado).....24
- Figura 2. Representação esquemática da área amostral de cana subdividida em 100 parcelas, mostrando os pontos de liberação do parasitóide e a distribuição das armadilhas.25
- Figura 3. A) Colmo cortado para retirada da lagarta; B) Vista geral dos recipientes contendo lagartas individualizadas em Placas de Petri com dieta artificial; C) Adultos e pupas de *Cotesia flavipes*.26
- Figura 4. Dendograma mostrando o agrupamento das concentrações do corante Vermelho de Sudan B em relação aos aspectos biológicos de *Diatraea saccharalis*.....33
- Figura 5. Distribuição das concentrações do corante Vermelho de Sudan B em relação aos aspectos biológicos de *Diatraea saccharalis*, segundo análise dos Componentes Principais.....34
- Figura 6. Análise de duas entradas mostrando a influência de cada aspecto biológico de *Diatraea saccharalis* em relação às concentrações do corante Vermelho de Sudan B.....35
- Figura 7. *Diatraea saccharalis* sem adição de corante (esquerda) na dieta e marcadas com as concentrações de 100, 200, 300 e 400 ppm (direita). A) Posturas; B) Larvas; C) Adultos.36
- Figura 8. Dendograma mostrando o agrupamento das concentrações do corante Vermelho de Sudan B em relação aos aspectos biológicos de *Cotesia flavipes*.37
- Figura 9. Análise de duas entradas mostrando o peso de cada aspecto biológico em cada um dos tratamentos.38

Figura 10. Frequências observadas e ajuste dos dados à distribuição de Poisson e binomial negativa para o parasitismo, número de machos, fêmeas e total de adultos emergidos da segunda geração de <i>Cotesia flavipes</i>	44
Figura 11. Semivariograma do número de lagartas de <i>Diatraea saccharalis</i> parasitadas por <i>Cotesia flavipes</i>	45
Figura 12. Mapa de krigagem do parasitismo de <i>Cotesia flavipes</i> na cultura da cana-de-açúcar.	46
Figura 13. Semivariograma do número machos de <i>Cotesia flavipes</i> emergidos na segunda geração.	49
Figura 14. Mapa de krigagem do número de machos de <i>Cotesia flavipes</i> emergidos na segunda geração.	50
Figura 15. Semivariograma do número fêmeas de <i>Cotesia flavipes</i> emergidas na segunda geração.	51
Figura 16. Mapa de krigagem do número de fêmeas de <i>Cotesia flavipes</i> emergidas na segunda geração.	51
Figura 17. Semivariograma do número de adultos de <i>Cotesia flavipes</i> emergidos na segunda geração.	52
Figura 18. Mapa de krigagem do número de adultos de <i>Cotesia flavipes</i> emergidos na segunda geração.	53

DISTRIBUIÇÃO ESPACIAL DO PARASITISMO DE *Cotesia flavipes* (CAMERON, 1891) (HYMENOPTERA: BRACONIDAE) EM CANA-DE-AÇÚCAR.

RESUMO - A distribuição espacial do parasitismo, número de machos, fêmeas e total de adultos emergidos da geração F_2 do parasitóide larval de *Diatraea saccharalis* (Fabricius), *Cotesia flavipes* (Cameron), foi estudada em um talhão comercial de 100x105 m de cana-de-açúcar da variedade CTC 3, com 7 meses, dividido em 100 parcelas de 105 m², usando a metodologia de liberação de 4 pontos por hectare, com 1500 parasitóides espaçados 50 m entre eles. Em cada parcela foram colocados 10 colmos de cana com uma larva de *D. saccharalis* em seu interior fixados no solo para avaliação do parasitismo e número de insetos emergidos. Os índices de dispersão utilizados foram: razão variância/média (I), índice de Morisita (I_δ), coeficiente de Green (C_x) e expoente k da distribuição binomial negativa. A distribuição binomial negativa foi o modelo mais adequado para representar a distribuição de frequência do parasitóide, já que a variância foi superior à média para todas as variáveis avaliadas. A análise dos índices de agregação mostrou que esse inseto se distribui de maneira agregada no campo. O uso da Geoestatística permitiu quantificar e mapear a distribuição de *C. flavipes*, mostrando ser uma ferramenta útil para teste de metodologias de liberação desse parasitóide.

PALAVRAS-CHAVE: Controle biológico, distribuição de probabilidade binomial negativa, liberação inundativa, geoestatística, parasitóide

SPATIAL DISTRIBUTION OF *Cotesia flavipes* (CAMERON) (HYMENOPTERA: BRACONIDAE) IN SUGARCANE CROP.

ABSTRACT - The spatial distribution of the parasitism, number of males, females and total of adults emerged of the F₂ generation of the *Diatraea saccharalis* (Fabricius), larval parasitoid of *Cotesia flavipes* (Cameron), was studied in a commercial stand of extension of 100x105 m of sugarcane variety CTC 3, with 7 months old, divided into 100 plots with 105 square meters using the liberation methodology of 4 points per hectare, with 1,500 parasitoids spaced 50 m between them. The plot contained 10 stems with one *D. saccharalis* larvae inside fixed in the soil were used to evaluate the parasitism and the number of insects emerged. The dispersion indexes used were: variance/mean ratio (I), Morisita's index (I_{δ}), Green's coefficient (C_x) and k exponent of negative binomial distribution. The negative binomial distribution was more representative to the frequency distribution data of the parasitoid, since the variance was superior to the average. The analysis by the aggregation index showed that the most of the samplings presented aggregate distribution in the crop. The geoestatistics could be an useful tool to be applied to tests of different inundative liberations to this parasitoid.

KEY WORDS: Biological control, negative binomial distribution, inundative liberation, geoestatistic, parasitoid

1. INTRODUÇÃO

O Brasil é o maior produtor e exportador de açúcar do mundo, sendo responsável, em termos mundiais, por aproximadamente 20% da produção e 40% das exportações. A produção nacional em 2007/08 foi de aproximadamente 31 milhões de toneladas (UNICA, 2009).

Porém extensas áreas contínuas cultivadas com cana-de-açúcar torna propício o ataque de pragas, sendo *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794) (Lepidoptera: Crambidae) a mais importante devido a frequência com que ocorre, prejuízos causados, alto potencial biótico, clima favorável e hábito da praga, de modo que o controle biológico é uma tática de sucesso visando seu controle (PINTO et al., 2006).

A confiança na eficiência do agente de controle biológico utilizado deve ser condição primordial para que um programa de controle biológico alcance sucesso e se estabeleça. Resultados insatisfatórios devido 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 contribuem significativamente para manter as populações das pragas em equilíbrio, depende basicamente de eficientes métodos de produção massal, liberação no campo e potencial da espécie para reduzir a população da praga (RISCADO, 1982).

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 queda da variabilidade genética em virtude da deriva genética da seleção e do cruzamento entre irmãos (*inbreeding*) nas primeiras gerações (BOLLER & CHAMBERS, 1977; BARLETT, 1984; LEPLA & ASHLEY, 1989; LEPLA & FISHER, 1989; LEPLA & WILLIAMS, 1992; BIGLER, 1994), fato ocasionado por falta de técnicas em criações

massais que evitem uma pressão de seleção levando a perda de sua eficiência, pelo fato de não existir competição interespecífica nas populações de laboratório. Do mesmo modo, características de dispersão, especialmente comportamento de vôo, podem ser bastante restringidas em condições de laboratório VAN LENTEREN (1991).

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

A criação de sucessivas gerações de *Cotesia flavipes* (Cameron, 1891) (Hymenoptera: Braconidae) em laboratório, por aproximadamente 30 anos no Brasil, pode ter levado à mudanças na sua capacidade de vôo e, conseqüentemente, no seu perímetro de ação.

Assim, para o conhecimento de uma forma de liberação satisfatória e que atenda a área a ser controlada, há a necessidade de se conhecer a distribuição espacial e mapear seu parasitismo com o uso da geoestatística a fim de averiguar se o mesmo se distribui por toda a área.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. A cultura da cana-de-açúcar

2.1.1. Importância econômica

O Brasil é o maior produtor e exportador de açúcar do mundo, sendo responsável, em termos mundiais, por aproximadamente 20% da produção e 40% das exportações. A produção nacional em 2007/08 foi de aproximadamente 31 milhões de toneladas. Cerca de dois terços do açúcar produzido no Brasil (18,6 milhões de t) destinaram-se à exportação, sendo que o açúcar bruto respondeu por mais de 65% das vendas no mercado internacional. Mais de 100 países importam açúcar do Brasil. É importante destacar que praticamente todas as exportações brasileiras são negociadas no mercado livre. As cotas de importação preferenciais dedicadas ao Brasil pelos países desenvolvidos são ínfimas em comparação com o volume total das vendas brasileiras de açúcar. Os Estados Unidos e a União Européia importam menos de 210 mil toneladas de açúcar brasileiro em condições preferenciais, o que representa apenas 1% das vendas internacionais do país (UNICA, 2009).

Na região centro-sul a área de cana disponível para colheita na safra atual (2008/09) foi estimada em 6,53 milhões hectares, indicando um aumento de 15,7% (917,9 mil ha) em relação à safra anterior. O Estado de São Paulo é o maior produtor de cana com uma área de 4,45 milhões ha disponíveis para colheita, representando 66% da área total de cana da região centro-sul. Apresentou um crescimento 12,2% (483,3 mil ha) de área em relação à safra passada (UNICA, 2009).

Na produção de cana-de-açúcar, basicamente dois subsistemas regionais convivem no Brasil, um no Centro/Sul e outro no Norte/Nordeste. O primeiro é mais competitivo e dinâmico que o segundo e tem como vantagens de se localizar na região considerada como a de melhores características edafoclimáticas existentes no mundo, parque industrial forte e base para pesquisa agropecuária tradicional e tradição. Já no Norte/Nordeste a localização é mais estratégica para atender ao mercado local de

açúcar e álcool, e o acesso a cotas especiais de exportação, principalmente para o mercado norte-americano. Porém, ambos são citados como os dois primeiros em competitividade no mundo (WAAK & NEVES, 1998).

Os produtos gerados são diversos tipos de açúcares, glicose, frutose, glicerina, ácidos sorbitol e sucralose, entre outros. De outras fermentações, pode-se obter acetonas, antibióticos (penicilina, tetraciclina), enzimas industriais (amilases, proteases), vitaminas (C, B2, B12), aminoácidos (lisina, fenilalanina) e insumos biológicos para a agricultura (bioinseticidas e fertilizantes), álcool hidratado carburante (96GL), álcool anidro (99,5GL), derivados do álcool, os desidratados (etilenos) e os desidrogenados (acetaldeídos) (WAAK & NEVES, 1998).

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

Uma usina processa, em média, 1,5 milhões de toneladas de cana-de-açúcar por ano. As dez maiores usinas esmagam entre 3,6 milhões e 6,8 milhões de toneladas, por unidade durante a safra, produzindo, também por planta industrial, entre 298 mil toneladas e 455 mil toneladas de açúcar e de 174,2 milhões de litros a 328,8 milhões de litros de etanol (UNICA, 2004).

Cada tonelada de cana, se destinada apenas à fabricação de álcool, resultaria em 89 litros de etanol hidratado ou 85 litros de etanol anidro; se direcionada exclusivamente à produção açucareira, renderia 118 kg de açúcar e 10 litros de álcool do mel residual. Entretanto, em regime normal de operação de mercado, o rendimento médio nacional para cada tonelada de cana-de-açúcar moída fornece 71 kg de açúcar e 42 litros de álcool (UNICA, 2004).

Com a chegada dos carros bi-combustíveis o consumo do etanol aumentou, pois é um combustível que polui menos, melhora o desempenho e aumenta a vida útil dos automóveis. Além disso, com o “flex fuel” o consumidor decide, segundo suas conveniências, conforme as ofertas do varejo ou sua própria logística de abastecimento (UNICA, 2004).

Essa mobilidade tornou atrativa a venda desses carros, que é crescente a cada ano, de modo que atualmente quase que 100% dos modelos de carro vendidos no país oferecem essa tecnologia, impulsionando o consumo de álcool hidratado.

A mistura do etanol anidro à gasolina, hoje utilizado na proporção de 25%, eliminou totalmente os aditivos ambientais venenosos da matriz de combustíveis brasileira e contribui significativamente na redução de poluentes como o ozônio nos grandes centros urbanos brasileiros, em especial na cidade de São Paulo (UNICA, 2004).

As usinas e destilarias brasileiras geram 1485 MW de energia elétrica para uso próprio e ainda produzem excedentes, vendidos às concessionárias de energia, da ordem de 619 MW, utilizados para complementar as demandas da matriz de energia do país, contribuindo para torná-la uma das mais limpas do planeta (UNICA, 2004).

No início de 2008, as usinas de açúcar e etanol brasileiras apresentavam um potencial médio de geração de excedentes de energia equivalente a 1.800 Megawatts Médios (MWm), o que corresponde a apenas 3% das necessidades do Brasil. Com o aumento da utilização de biomassa da cana-de-açúcar, e a implementação de caldeiras de alta eficiência, estimativas sugerem que até 2015 essa geração poderia aumentar para até 11.500 MW médios, ou 15% da demanda de energia elétrica do país (UNICA, 2009).

Dessa maneira, a agroindústria canavieira gera e recupera energia: do açúcar como alimento, do etanol como combustível para veículos e da eletricidade obtida com a queima do bagaço e o Brasil tem tradição e experiência demonstradas de desenvolvimento sustentável ao combinar atuação ambiental responsável, segurança energética, exploração de vocações econômicas locais e geração descentralizada de empregos e renda (UNICA, 2009).

Atualmente as condições são favoráveis à produção e comercialização de açúcar e álcool nos cenários nacional e internacional e é de se esperar uma corrida para o desenvolvimento de novas e mais eficientes tecnologias de produção, visando à melhoria na qualidade dos produtos, além de preços mais competitivos. Esse cenário, no mínimo, obriga a buscar otimizações nas tecnologias atualmente disponíveis (MARQUES et al., 2006).

2.2. A broca da cana-de-açúcar, *Diatraea saccharalis*

2.2.1. Importância econômica

O aumento de novas áreas para o plantio de cana-de-açúcar interfere no equilíbrio promovido pela natureza, causando pontos de desarranjo momentâneos ou prolongados, que precisam ser corrigidos para diminuir os prejuízos ocasionados pelas pragas, que determinam grandes perdas de produtividade na cultura (TÉLAN, 1987).

Tal fato tornou o ambiente propício ao ataque de pragas, destacando-se *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794) (Lepidoptera: Crambidae) devido à frequência com que ocorre, o seu alto potencial biótico, clima favorável, hábito que a protege dos inimigos naturais e pelos prejuízos causados (PINTO et al., 2006). Este inseto ocorre também em outras culturas como o milho, sorgo e arroz (BENEDINI, 2006), em todo o território nacional e em diversos países da América do Sul, Central e do Norte (TÉLAN, 1987; VENDRAMIM et al., 1989).

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

A partir de 1973, aumentaram os trabalhos relacionados com *D. saccharalis* e 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 técnicas de laboratório e campo, com o objetivo de controlar *D. saccharalis* (BOTELHO, 1992).

2.2.2. Biologia

D. saccharalis é um inseto holometábolo, que passa por quatro estágios biológicos; ovo, larva, pupa e adulto (TÉRAN, 1987).

Os ovos, no início 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); são colocados em grupos ou massas (posturas), que são imbricadas, assemelhando-se a um segmento de couro de cobra ou escamas de peixe. A oviposição se dá tanto na bainha, como nas duas faces da folha e ocasionalmente nos colmos (TÉRAN, 1987; GALLO et al., 2002; BENEDINI, 2006).

A fêmea atrai o macho para a cópula pela liberação de feromônio e, após o acasalamento, deposita cerca de 100 ovos por massa em condições de laboratório, e em condições naturais *D. saccharalis* oviposita em média 12 ovos por massa de ovos, variando de 2 a 37 ovos. Desse modo, salienta-se que um maior número de ovos é colocado em laboratório quando comparados em condições de campo, uma vez que em condições de laboratório as condições bióticas são mais estáveis (TÉRAN, 1987; GALLO et al., 2002; LIMA FILHO & LIMA, 2001; BENEDINI, 2006).

A eclosão das larvas acontece entre 4 a 9 dias e passam por 5 ínstar, alimentam-se das folhas ou tecidos parenquimatosos do palmito da cana. A partir do segundo ou terceiro ínstar, alojam-se no interior dos colmos, fazendo galerias até a fase de pupa. Ao atingirem o completo desenvolvimento, em média aos 40 dias, as lagartas medem cerca de 22 a 25 mm de comprimento, são de coloração amarelo-pálida e

cabeça marrom. Fazem então um orifício para o exterior, fechando-o com fios de seda e serragem, e passam à fase de pupa (TÉLAN, 1987; GALLO et al., 2002; MENDONÇA, 1996).

As pupas são de coloração castanha. Ficam nesse estágio por 9 a 14 dias, quando emerge o adulto, que sai pelo orifício feito pela lagarta (GALLO et al., 2002).

O adulto é uma mariposa de coloração amarelo-palha, com desenhos pardecentos e as asas posteriores esbranquiçadas, com 25 mm de envergadura. A fêmea é maior que o macho e apresentam abdome mais volumoso e asas menos pigmentadas; os adultos vivem cinco dias, em média (MENDONÇA, 1996; GALLO et al., 2002).

A duração de seu ciclo biológico no campo varia devido à influências climáticas, fonte de alimento e do hospedeiro, levando em média 45 a 60 dias (TÉLAN, 1987). Segundo BOTELHO (1985), 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. No Estado de São Paulo podem ocorrer quatro gerações anuais e excepcionalmente, cinco dependendo das condições climáticas (MÉLO & PARRA, 1988).

A nutrição, como a idade do inseto influenciam muito a biologia da broca. As adubações podem acarretar em maiores infestações dessa praga, evidenciado pelo incremento no potencial reprodutivo. Os primeiros cortes da cana mostram maior suscetibilidade e a idade de crescimento na cultura influi em sua sobrevivência e capacidade reprodutiva (TÉLAN, 1987).

2.2.3. Danos causados

A incidência de *D. saccharalis* pode ser extremamente destrutiva à cana-de-açúcar, chegando a inviabilizar a atividade dependendo da intensidade de ataque (MACEDO, 2004).

As lagartas causam prejuízos diretos pela abertura de galerias, ocasionando perda de peso na cana. Se a cana for jovem, a broca pode causar a morte do ponteiro

(seca das folhas e morte do broto) e conseqüentemente a morte da cana (GUAGLIUMI, 1972/73; MACEDO & BOTELHO, 1988; GALLO et al., 2002; NARDIN, 2002).

Os maiores danos causados pela broca da cana-de-açúcar no Brasil são indiretos, devido à inversão da sacarose armazenada na planta, causada por fungos, predominantemente *Fusarium moniliforme* (Sheld, 1904) (Hypocreales: Hypocreaceae) e/ou *Colletotrichum falcatum* (Went, 1893) (Moniliales: Moniliaceae), 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 (GUAGLIUMI, 1972/73; MACEDO & BOTELHO, 1988; BOTELHO, 1992; GALLO et al., 2002).

BOX (1952) constatou que numa intensidade de infestação de 12,5% houve redução de 5,8% no teor de sacarose. Segundo METCALFE (1969), para cada 1% de entrenós perfurados ocorre uma queda de 0,5% de açúcar.

Experimentos conduzidos em telados e em campo indicam que para cada 1% de intensidade de infestação ocorrem perdas médias de 0,77% na produção de cana, acrescidas de 0,25% na produção de açúcar e de 0,20% na produção de álcool. Lembrando que perdas em campo são representadas pelas canas quebradas e mortas que permanecem no canavial; as perdas em açúcar e álcool referem-se aos danos do complexo broca mais podridão vermelha que ocorrem nas canas danificadas que são levadas à indústria (ALMEIDA & STINGEL, 2005).

BENEDINI (2006) relatou que para uma produtividade média de 80 toneladas/ha, ocorrem 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 ponto percentual 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 de cana queimada por cana cortada mecanicamente e sem queima, há a propensão do aumento populacional de *D. saccharalis* devido ao aumento da matéria orgânica, composta por uma espessa camada de palhada, que pode conter ovos e larvas de primeiro ínstar dessa praga (MACEDO & ARAÚJO, 2000). Diante desse fato, pesquisas voltadas ao controle da broca devem ser conduzidas objetivando melhorias e incrementos tecnológicos, principalmente no que diz respeito ao controle biológico inundativo.

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

Tornam-se cada vez mais freqüentes a adoção de parasitóides de *D. saccharalis* devido ao seu baixo custo de produção e fácil manipulação, além do fato de em certa fase da sua vida se alimentar da própria praga, dispensando assim a elaboração de uma dieta específica para eles (TÉLAN & NOVARETTI, 1980; PARRA, 2000).

O controle da praga, como de outros insetos, deve visar a máxima proteção da cultura, com um mínimo de impacto ambiental e custos acessíveis, evitando-se incompatibilidade com outros métodos de controle e a não competição com inimigos naturais presentes na área (TÉLAN, 1987).

Em função da importância da praga, 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, além dos problemas de fitotoxicidade que alguns produtos fitossanitários podem provocar, pesquisadores de vários países vêm se dedicando ao estudo do controle da broca através de métodos biológicos (MARCONATO, 1988). Esse método também visa respeitar e incentivar a ação benéfica dos inimigos naturais nativos da broca, que já controlam em altas porcentagens as populações da broca, em ambientes pouco modificados pela ação humana (TÉLAN & NOVARETTI, 1980).

É grande o complexo de parasitóides de ovos e larvas, predadores e agentes entomopatogênicos que ocorrem naturalmente, controlando as diversas espécies de *Diatraea* (MENDONÇA, 1996).

Todavia, não obstante essa praga ser atacada por vários inimigos naturais, a vespa *C. flavipes* é a mais utilizada, por ser mais eficiente na diminuição da população da *D. saccharalis* (MACEDO, 2000).

Os parasitóides produzidos em laboratório são os mais utilizados no controle de pragas, devido ao baixo custo, fácil manipulação e por se alimentarem da própria praga (em certa fase da vida), não sendo necessário o uso de uma dieta específica para eles (PARRA, 2000).

Parasitóides são caracterizados por provocar a morte de seus hospedeiros que, na maioria das vezes pertencem à mesma categoria taxonômica, e os adultos têm vida livre e sua ação assemelha-se a de um predador (DOUTT, 1959).

O termo parasitóide se aplica a espécies Hymenoptera e Diptera, que em sua fase larval se alimentam dos tecidos de hospedeiros vivos, normalmente os ovos, larvas e pupas de outros insetos, levando estes inevitavelmente à morte, normalmente quando a larva do parasitóide já tenha empupado (RICKLEFS, 2003).

Vários inimigos naturais foram testados para o controle biológico da broca-da-cana. Há até o presente momento mais de 30 anos de pesquisa (BOTELHO, 1992; CARVALHO et al., 2008).

O primeiro entrave encontrado foi adequar a 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 grandes da broca, para utilizá-las em produções massais de parasitóides para posteriores liberações inundativas (BOTELHO, 1992).

As pesquisas com parasitóides da broca iniciaram-se com as espécies *Lixophaga diatraea* Townsend, 1916 (Diptera: Tachinidae), *Metagonistylum minense* Townsend, 1927 (Diptera: Tachinidae) e *Paratheresia claripalpis* Van Der Wulp, 1896 (Diptera: Tachinidae). *L. diatraea*, parasitóide nativo de Cuba e de outras ilhas maiores do Caribe, foi utilizado pioneiramente por Scaramuza e Box, em Cuba. Posteriormente,

P. claripalpis e *M. minense* (espécies nativas do Brasil) foram utilizadas no Peru e na Venezuela, respectivamente, com resultados satisfatórios. Logo esses insetos foram levados para a Colômbia e Argentina, com a intenção de criá-los massalmente. Porém, esses esforços 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, os laboratórios da COPERSUCAR já tinham elaborado uma técnica que permitia produzir esses parasitóides em quantidades satisfatórias e com boas perspectivas de melhoria para os anos seguintes. Segundo BOTELHO (1992), como as informações preliminares desses parasitóides ainda estavam incompletas, o objetivo principal era de utilizar os conhecimentos preliminares para dar assistência técnica às usinas pioneiras nas atividades de controle biológico.

Ao mesmo tempo, em meados da década de 1970, buscava-se a importação de outros inimigos naturais, não nativos do Brasil. Esse fato foi explicado por BOTELHO (1992), alegando que inimigos naturais importados não encontram fatores limitantes e tendem a manter sob controle as pragas hospedeiras. Além disso, é preciso manter crias artificiais para liberá-las no momento que se precisar. Nessa época, os pesquisadores importaram para São Paulo, *Telenomus alecto* (Crawford, 1914) (Hymenoptera: Scelionidae), parasitóide de ovos de *D. saccharalis*, de Campos – RJ, e não obtiveram resultados positivos. Outro parasitóide que estava sendo testado era *Cotesia (Apanteles) flavipes* (Cameron, 1891) (Hymenoptera: Braconidae), sem resultados positivos. Os esforços terminaram, pois havia dificuldade burocrática para a sua importação. De 1976 a 1978 novamente foram realizados trabalhos com esse parasitóide, 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).

Então, BOTELHO (1992) no período de 1978 e 1989, realizou um trabalho na região de abrangência da COSUL – IAA/PLANALSUCAR, comparando a eficiência de vários parasitóides de *D. saccharalis*: *M. minense*, *Apanteles flavipes* (= *C. flavipes*), *P. claripalpis* e outros. Foi constatado que o uso das linhagens de *C. flavipes* teve

resultado positivo nos talhões de cana do estado de São Paulo, com uma participação de 76,64% no parasitismo total obtido no ano de 1989, impulsionando o programa de controle biológico elaborado pelo IAA/PLANALSUCAR, e, desde então, o controle da broca-da-cana passou a ser feito com liberações inundativas desse parasitóide larval.

2.3. Controle Biológico de *Diatraea saccharalis* utilizando o parasitóide larval *Cotesia flavipes*

2.3.1. Histórico e importância de *Cotesia flavipes* no controle biológico

Considerada como originária da região asiática, parasitando insetos em culturas como milho e arroz, *C. flavipes* foi exportada para o Novo Mundo para controle de *D. saccharalis* em cana-de-açúcar (GIFFORD & MANN 1967, FUCHS et al., 1979) e redistribuída para o Velho mundo para controle *Chilo. partellus* (Swinhoe) (Lepidoptera: Crambidae), *Chilo orichalcociliellus* (Strand) (Lepidoptera: Crambidae), *Sesamia calamistis* Hampson (Lepidoptera: Noctuidae), *Busseola fusca* (Fuller) (Lepidoptera: Noctuidae) e *Eldana saccharina* Walker (Lepidoptera: Pyralidae), mas esses dois últimos hospedeiros não são adequados para o seu desenvolvimento (GREATHEAD, 1971; MENDONÇA et al., 1977; MOHYUDDIN et al., 1981; NGI-SONG et al., 1995; OVERHOLT et al., 1997; OVERHOLT, 1998).

No Brasil, foi introduzida em 1971, importadas de Trinidad e Tobago pela Esalq/USP e COPERSUCAR. Porém, apenas em 1974 iniciou-se a criação massal e as liberações (GALLO et al., 2002). Em 1978, linhagens adicionais foram trazidas da Índia e do Paquistão (MACEDO, 1978).

2.3.2. Biologia de *Cotesia flavipes*

C. flavipes é um endoparasitóide 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, as fêmeas fecundadas depositam ovos fertilizados que dão origem a descendentes do sexo feminino e os ovos não fertilizados originam machos (MOUTIA & COURTOIS, 1952; VETORELLI et al., 1999).

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

Por ser um parasitóide, só pode completar seu ciclo de vida associado a seu hospedeiro (PINTO et al., 2006) e no Brasil, esse parasitóide possui especificidade para lagartas de *D. saccharalis*.

A vespa localiza *D. saccharalis* e por meio de seu ovipositor insere os ovos na lagarta (inoculação), depositando de 60 a 65 ovos (MACEDO, 2000). A deposição dos ovos se dá na hemocèle das lagartas. Depois de três a quatro dias ocorre a eclosão das larvas, que passam por três instares, em um período de aproximadamente quatro a doze dias (PARRA, 2000).

As larvas de terceiro ínstar tem coloração branco-leitoso brilhante e 10 a 15 dias após a inoculação perfuram o tegumento da lagarta e matam-na exaurida. (PINTO et al., 2006; MACEDO & ARAÚJO, 2000).

As larvas empupam bem próximas à lagarta de *D. saccharalis* e estas são revestidas por casulos de coloração branca que formam uma “massa” de coloração branca. Os adultos são pretos e tem de 2 a 3 mm (PINTO et al., 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 parasitóide, faz-se necessário a criação da própria broca (MACEDO et al., 1983). A eficiência e rentabilidade desse processo é o que mantém atualmente os laboratórios em pleno funcionamento, uma vez que a intensidade de infestação da broca-da-cana que era em média de 8 a 10%, passou para 2% no Estado de São Paulo, resultando em uma economia de aproximadamente 80 milhões de dólares por ano (BENEDINI, 2006). Apesar disso, os estudos nessa área, com propósito de

melhorar e baratear os custos de produção não tiveram a evolução necessária, necessitando atualmente de uma avaliação real da situação do controle biológico aplicado, além da busca de novas práticas e tecnologias para produção e utilização do referido parasitóide.

2.3.3. Liberação de *Cotesia flavipes*

A amostragem é realizada caminhando-se nas entrelinhas da cultura de maneira aleatória, abrindo-se o colmo da cana longitudinalmente à procura de lagartas. A liberação é feita sempre que a população atingir 10 lagartas maiores que 1,5 cm/hora homem de coleta. (PINTO et al., 2006).

O produto “vespinhas” é comercializado em copo plástico de 100 mL com tampa, contendo 30 massas de pupas em seu interior, com cerca de 1500 parasitóides, ou seja, 50 parasitóides 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 parasitóides. A liberação pode ser realizada após 12 horas do início da emergência dos parasitóides, para que haja emergência quase total e cópula dos mesmos (PINTO et al., 2006).

A liberação é feita a partir do vértice do talhão, contando-se 25 metros, colocando o copo aberto na bainha das folhas da cana. Após 50m do ponto anterior, novo copo é aberto e colocado na planta, sendo essa medição baseada no perímetro de vôo da vespa, que cobre mais de 25 metros (BOTELHO et al., 1980), nas horas mais frescas do dia.

Para avaliar a eficiência da liberação 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 mantidas em sala climatizada até a confirmação do parasitismo, por meio de avaliação visual das larvas e pupas de *C. flavipes* que saem das lagartas (PINTO et al., 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 à 20% evidencia um bom controle; abaixo desse valor deve-se realizar nova liberação inundativa dos parasitóides (PINTO et al., 2006).

2.4. Distribuição espacial de insetos

Para a descrição das formas de distribuição de uma população utilizam-se os índices de agregação e as distribuições de frequências (YOUNG & YOUNG, 1998). Os índices de agregação ou dispersão, apesar de não descreverem matematicamente a distribuição da população estudada (ELLIOTT et al., 1990), fornecem uma idéia bastante aproximada dessa realidade, quando diferentes índices apresentam resultados similares (MYERS, 1978) e cuja aplicação é imprescindível em estudos ecológicos ou métodos de amostragem (GREEN, 1966). De acordo com RABINOVICH (1980), é necessário que mais de um índice seja estudado antes de se concluir a respeito da distribuição de uma determinada espécie de inseto.

O índice razão variância/média é o mais comum, também chamado índice de dispersão, que compreende a relação entre a variância e a média, servindo para medir o desvio de um arranjo das condições de aleatoriedade. O índice de Morisita tem a vantagem de ser relativamente independente do número de unidades amostrais (SILVEIRA NETO et al., 1976). O parâmetro k da distribuição binomial negativa é um indicador da agregação de artrópodes, quando os dados se ajustam à distribuição binomial negativa (ELLIOTT, 1979).

A confirmação do tipo de distribuição ocorre com o ajuste de modelos matemáticos que descrevem as distribuições de frequência dos indivíduos de cada inseto em cada cultura (BARBOSA, 1992). As distribuições de probabilidade que descrevem as disposições espaciais de insetos resultante do nascimento, morte e migração de indivíduos têm grande importância no controle biológico, a fim de gerar informações a respeito da eficiência de controle da praga (TAYLOR, 1984).

A distribuição de Poisson caracteriza-se por ter a variância igual à média ($\sigma^2 = \mu$), sendo um modelo de distribuição aleatória. Já a distribuição binomial negativa indica

uma agregação ou contágio, onde a variância é maior que a média ($\sigma^2 > \mu$). A distribuição binomial positiva representa uma disposição regular ou uniforme, e caracteriza-se por apresentar a variância menor do que a média ($\sigma^2 < \mu$) (ELLIOTT, 1979).

2.5. Geoestatística

A ferramenta básica da geoestatística é o semivariograma, que relaciona a distância entre pares de amostras com a semivariância estatística (variação entre os pares), para todos os pares possíveis a cada distância sugerida (ELLSBEURY et al., 1998).

Quando se calcula o semivariograma obtêm-se pares de valores de semivariâncias $[\gamma(h)]$ e distância (h), os quais deverão ser dispostos em gráfico de dispersão tendo como valores de y , as semivariâncias, e de x , as distâncias. A esses pontos deverá ser ajustado um modelo. Para propriedades espacialmente dependentes, espera-se que a diferença entre valores $[Z(x_i)-Z(x_i+h)]$, em média, seja crescente com a distância até um determinado ponto, a partir do qual se estabiliza num valor, denominado patamar (C_1) e aproximadamente igual à variância dos dados. Esta distância recebe o nome de alcance (a) e representa o raio de um círculo, dentro do qual os valores são tão parecidos uns com os outros que são correlacionados. O valor da semivariância na interseção do eixo Y tem o nome de efeito pepita (C_0) e representa a variabilidade da propriedade em estudo em espaçamentos menores do que o amostrado.

Quando se pretende criar uma superfície contínua de informação a partir de uma série de pontos isolados de amostragem, torna-se necessária a interpolação, isto é, o cálculo de valores para locais não amostrados dentro da região da amostragem (BURROUGH & McDONNELL, 1997). Quando a variação do atributo ocorre de forma contínua é possível criar um modelo matemático para estimar uma superfície contínua de valores. Se, é possível estabelecer a existência de dependência espacial entre as

amostras, pode-se utilizar o método de interpolação geoestatístico, mais conhecido como krigagem.

A verificação de que se trata de um fenômeno contínuo de variação, ou seja, de uma superfície contínua de variação, é fundamental para que os princípios da geoestatística sejam aplicáveis (ISAAKS & SRIVASTAVA, 1989).

Desde que a continuidade espacial possa ser detectada pela existência de semivariância crescente com a distância entre pares de amostras, então, poder-se-á interpolar valores para qualquer espaçamento menor do que o amostrado, sem viés e com variância mínima, usando a krigagem. Com os valores interpolados, é possível construir mapas para a região em estudo com confiança conhecida. A krigagem, no entanto, não deve ser utilizada para calcular valores de pontos externos à área amostrada, servindo apenas para a interpolação (VIEIRA, 2000).

A krigagem é o sistema de interpolação que tem produzido os melhores resultados para o uso de mapas de características de áreas agrícolas, e uma importante ferramenta para estudos de dispersão de insetos (MORGAN & ESS, 1997).

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Alguns pré-testes realizados visando a recaptura de *Cotesia flavipes*

Não foram encontrados relatos na literatura a respeito do método mais eficiente para coleta de *C. flavipes* e diante da dificuldade encontrada para recapturar o inseto e possibilitar o desenvolvimento da presente pesquisa, serão explicitados a seguir alguns pré-testes realizados até a adequação da metodologia que viabilizou os estudos de dispersão do parasitóide.

3.1.1. Uso do corante Vermelho de Sudan B na marcação e no desenvolvimento de *Diatraea saccharalis* e de *Cotesia flavipes*

Uma alternativa para medidas de dispersão de insetos é o uso de técnicas de marcação, por garantir que o inseto capturado seja o mesmo que foi liberado.

Nesse contexto, objetivou-se avaliar os aspectos biológicos de *D. saccharalis* alimentadas com dieta artificial contendo diferentes concentrações do corante Vermelho de Sudan B e a possível marcação do parasitóide *C. flavipes*, quando submetidos ao parasitismo de lagartas coradas. Para isso, o corante foi adicionado à dieta artificial de *D. saccharalis*.

Para o preparo das dietas, pesou-se quatro gramas do corante que foi diluído em 40 mL de óleo de soja (solução estoque) (OSTLIE et al., 1984). Para o preparo da dieta com concentração de 100 ppm, adicionou-se 1 mL da solução por litro de dieta, e assim sucessivamente até 4 mL de solução estoque para cada litro de dieta (400 ppm).

Após 20 dias, foram retiradas 40 larvas dos tubos de cada tratamento e individualizadas em placas de Petri (6 x 2 cm) contendo dieta de realimentação (dieta fornecida às lagartas à partir de 15 dias de idade) com as mesmas concentrações de corante. As pupas provenientes dos tratamentos foram transferidas para recipientes plásticos transparentes (29 x 16 x 8 cm), até a emergência dos adultos. Em seguida, foram utilizados oito casais por tratamento para montagem de gaiolas de postura

(1casal/gaiola) (20 x 10 cm de diâmetro) para avaliação dos aspectos reprodutivos. Avaliou-se o período larval e pupal, viabilidade larval e pupal, longevidade, razão sexual, peso das pupas, número total de ovos por fêmea, número de ovos por dia, número de ovos por postura, viabilidade dos ovos e período embrionário.

Visando a marcação de *C. flavipes* foram retiradas 30 lagartas de 17 dias de idade de tubos de fundo chato contendo dieta artificial com corante Vermelho de Sudan B, nas concentrações de 200, 300 e 400 ppm, e testemunha. As lagartas foram submetidas ao parasitismo por *C. flavipes* e individualizadas em placas de Petri (6 x 2 cm) contendo dieta de realimentação com as respectivas concentrações de corante.

Avaliou-se o período ovo-pupa, período e viabilidade pupal, número de machos, fêmeas e total de adultos emergidos, razão sexual e longevidade dos parasitóides.

3.1.2. Influência de cores de bacias utilizadas na confecção de armadilhas de Moericke para coleta de *Cotesia flavipes*

Este teste foi realizado com o intuito de verificar a atratividade de *C. flavipes* por cores de bacias de Moericke.

No talhão, a partir de um ponto central de liberação de *C. flavipes*, foi delineado um círculo com raio de 10 m. O perímetro do círculo foi dividido em quatro partes de mesmo comprimento (blocos). Em cada um dos blocos foram colocados equidistantemente armadilhas de Moericke de diferentes cores (branca, azul, amarela, verde-clara, verde-escura, azul-clara, azul-escura e rosa), compondo oito tratamentos. As bacias das armadilhas de 350 mL foram abastecidas com solução (70 g de sal de cozinha e 3 mL de detergente neutro por litro de água) e foram liberados aproximadamente 3 mil adultos de *C. flavipes* (2 copos) no centro do círculo. As armadilhas ficaram expostas no campo por três dias contados a partir da liberação dos parasitóides e analisou-se a preferência do parasitóide pela cor da bandeja contando o número de *C. flavipes* presentes nas armadilhas.

3.1.3. Adição de diferentes concentrações de excrementos de *Diatraea saccharalis* à solução em armadilhas de Moericke amarela

Com a finalidade de verificar a atratividade de *C. flavipes* por armadilhas de Moericke contendo excrementos da lagarta de *D. saccharalis* adicionados a solução, utilizou-se uma unidade experimental semelhante à apresentada no item 3.1.2., porém adicionou-se diferentes concentrações de excrementos de *D. saccharalis* na solução usada em armadilha de Moericke em bacias amarelas. Foram adicionados 1, 2, 4, 6, 8, 10 e 12 g de excremento para 350 mL de solução por armadilha e testemunha sem adição de excremento.

As armadilhas foram colocadas na área de modo aleatório, compondo 8 tratamentos dispostos em 4 blocos, e foram liberados aproximadamente 3 mil parasitóides no centro do círculo ficando as armadilhas no campo por 3 dias.

3.1.4. Variação da altura de armadilhas adesivas amarela visando à coleta de *Cotesia flavipes*

Com o objetivo de avaliar a atração de *C. flavipes* por armadilhas adesivas amarelas utilizou-se a mesma unidade experimental apresentada no item 3.1.2. e 3.1.3, porém foram testadas três alturas de fixação das armadilhas adesivas (0; 0,25 e 0,50 m) em relação ao nível do solo. O delineamento experimental utilizado foi de blocos ao acaso, composto por 3 tratamentos e 4 blocos.

3.1.5. Uso do hospedeiro *Diatraea saccharalis* introduzidas em colmo de cana

Buscando uma forma de averiguar a dispersão de *C. flavipes* em cana-de-açúcar, foram utilizados entrenós de cana-de-açúcar cortados com serrote de modo a

manter mais a metade do entrenó superior e inferior, visando evitar o ressecamento e proporcionando maior área para a alimentação da lagarta.

Os entrenós foram perfurados com furadeira elétrica, utilizando-se broca de 5/32 mm, e uma larva de 15 dias de idade foi colocada com a cabeça voltada para a entrada do orifício.

Avaliou-se o parasitismo de *C. flavipes* expondo as lagartas dentro de entrenós dispostos na vertical (com as lagartas com a cabeça direcionada para cima) e invertendo a posição do entrenó (lagartas com a cabeça voltada para baixo), e também alguns colmos foram mantidos deitados (horizontal). Para essas três posições, foi testado o acréscimo de excremento em volta do orifício sem fechá-lo e fechando totalmente o orifício com resto de dieta, bem como sem o acréscimo de excremento, totalizando nove tratamentos.

Os colmos foram acondicionados em caixa recoberta com tecido “voil” e expostos ao parasitismo de 20 fêmeas de *C. flavipes* por 3 dias.

Após esse período, os colmos foram cortados longitudinalmente para a retirada das lagartas e essas foram transferidas para caixas plásticas com 6 cm de diâmetro e alimentadas com dieta artificial até a constatação ou não do parasitismo.

3.2. Distribuição espacial de *Cotesia flavipes*

3.2.1. Local e unidade experimental

O experimento foi realizado no município de Jaboticabal-SP, na Fazenda Santo Antônio, em área de plantio comercial de cana-de-açúcar de 10,65 ha. A variedade utilizada foi a CTC 3, moderadamente resistente à *D. saccharalis*, cana de ano e meio (plantio), com 7 meses.

Para levantamento dos dados para estudo de distribuição espacial do parasitismo de *C. flavipes*, uma área de 105 x 100 m foi demarcada e dividida em 100 parcelas de 10,5 x 10 m.

3.2.2. Recaptura dos parasitóides

Para isso, foram cortados, com o auxílio de serra circular, 1000 entrenós da variedade SP80-3280 (sétimo corte), suscetível à *D. saccharalis*, de modo a garantir a alimentação e permanência da lagarta em seu interior (Figura 1A), sendo mantidos mais metade do entrenó superior e inferior. Na metade inferior do entrenó, fez-se um corte em bissel para facilitar a fixação no solo. Os entrenós foram perfurados com furadeira elétrica, utilizando-se broca 5/32" e uma larva de 1,5cm foi colocada em cada orifício (Figuras 1B e 1C). Para colocar as larvas no orifício, em alguns casos foi necessário aumentar o diâmetro do orifício com auxílio de instrumento pontiagudo e estimular a entrada da lagarta tocando suavemente o final de seu abdome com auxílio de pincel com cerdas macias.

No centro de cada parcela e no solo foram fixados 10 entrenós de cana-de-açúcar contendo cada um, uma larva de *D. saccharalis* em seu interior, dispostos equidistantemente à distância de 20 cm em 2 fileiras com 5 entrenós cada, tomando-se o cuidado de instalar os entrenós de modo que as lagartas ficassem com a cabeça voltada para cima, com o objetivo de assemelhar com o habito natural da larva em campo (Figura 1D).



Figura 1. A) Corte dos colmos em toletes em serra circular; B) Tolete sendo furado com furadeira elétrica para introdução da lagarta; C) Lagarta sendo introduzida no orifício do tolete; D) Toletes fixados entre as linhas de plantio de cana (5 de cada lado).

3.2.3. Metodologia de liberação

A liberação dos parasitóides foi realizada em 4 pontos da área, separados 50 metros entre si e 25 metros da borda da área, de tal forma que em cada ponto foi liberado um copo contendo parasitóides emergidos e este seria responsável pela cobertura de 25 metros.

Cada copo continha aproximadamente 1500 parasitóides, totalizando 6000 vespas liberadas na área. A distância de liberação é baseada no raio de vôo da vespa, que cobre aproximadamente 34,38 metros (BOTELHO et al., 1980) (Figura 2).

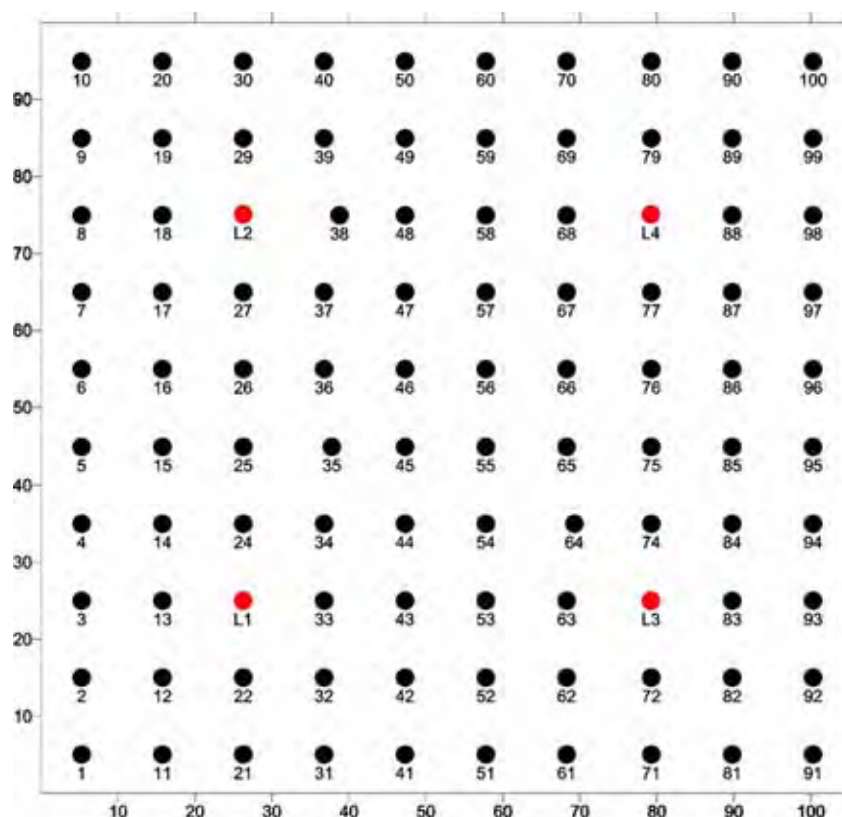


Figura 2. Representação esquemática da área amostral de cana subdividida em 100 parcelas, mostrando os pontos de liberação do parasitóide e a distribuição das armadilhas.

As lagartas introduzidas nos entrenós ficaram expostas ao parasitismo de *C. flavipes* por 3 dias, condizendo com a longevidade do parasitóide em condições de laboratório. Após esse período, os entrenós foram retirados e acondicionados em sacos plásticos previamente identificados de 1 a 100. Cada saco levava 10 entrenós pertencentes à parcela de onde foi retirado. Esse material foi então transportado para o Laboratório de Biologia e Criação de Insetos da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal, onde os entrenós foram cortados longitudinalmente para retirada das lagartas (Figura 3A).

Algumas lagartas não foram recapturadas e no interior desses colmos foram encontradas tesourinhas. Dessa forma, suspeita-se que as tesourinhas predaram as lagartas de *D. saccharalis*.

As lagartas foram individualizadas e acondicionadas em placas de Petri de 6 cm de diâmetro contendo dieta de realimentação e identificadas com o número correspondente à parcela de onde foi retirada (Figura 3B).



Figura 3. A) Colmo cortado para retirada da lagarta; B) Vista geral dos recipientes contendo lagartas individualizadas em Placas de Petri com dieta artificial; C) Adultos e pupas de *Cotesia flavipes*.

As placas foram mantidas em sala climatizada sob a temperatura de 25 ± 1 °C, $70 \pm 10\%$ umidade relativa e fotofase de 12 horas, até a emergência dos adultos para posterior avaliação do número de lagartas parasitadas, número de machos, fêmeas e total de adultos emergidos por parcela amostral (Figura 3C).

3.3. Análise dos dados

Os dados de número de lagartas parasitadas foram utilizados para o estudo da distribuição espacial do parasitóide na cultura. Foram determinados a média, variância e os índices de agregação. Em seguida, testou-se o ajuste dos dados obtidos às distribuições de Poisson e binomial negativa. O ajuste do modelo aos dados foi testado através do teste qui-quadrado de aderência das freqüências observadas às esperadas, conforme apresentado por BARBOSA (1985), NASCIMENTO (1995) e MARCELINO (1996).

Foram também feitas análises geoestatísticas com os dados de número de lagartas parasitadas, número de machos, fêmeas e total de adultos emergidos da segunda geração. Para isso, utilizou-se da informação da posição de cada amostra e o valor que a variável assume em cada ponto. Desse modo, cada amostra deve ter o valor da variável e as coordenadas de cada ponto onde foi coletada.

Para a obtenção do mapa dos valores observados, semivariograma, representação bidimensional por meio dos mapas de isolinhas e tridimensionais, utilizou-se o software Surfer 7.0 para Windows.

As fórmulas utilizadas para análise de agregação e para o estudo da distribuição espacial dos parasitóides são descritas a seguir.

3.3.1. Índices de Dispersão

3.3.1.1. Razão variância/média

Este índice foi primeiramente utilizado por Clapham (1936), citado por PERRY & MEAD (1979). É também chamado de índice de dispersão e, segundo RABINOVICH (1980), serve para medir o desvio de um arranjo das condições de aleatoriedade. Valores iguais à unidade indicam arranjo espacial ao acaso; menor que a unidade indicam disposição espacial regular ou uniforme; e valores significativamente maiores que a unidade indicam arranjo agregado. As limitações desse índice, segundo SOUTHWOOD (1971), residem na influência do tamanho da unidade amostral sobre a quantidade de indivíduos observados, sendo extremamente afetado nas disposições de contágio. Esse índice é estimado através de:

$$I = s^2/m$$

onde: s^2 = variância amostral, m = média amostral.

3.3.1.2. Índice de Morisita

Foi desenvolvido por MORISITA (1959, 1962), com o objetivo de apresentar um índice independente da média amostral e do número total de indivíduos. Valores próximos à unidade indicam arranjo ao acaso, valores superiores à unidade indicam disposição agregada, e valores inferiores à unidade indicam arranjo regular ou uniforme (NASCIMENTO, 1995). A limitação do índice de Morisita reside no fato de que este é demasiadamente influenciado pelo tamanho da amostra (N) (BIANCO, 1982), tornando-se necessário, para sua utilização segura, que o número de unidades de amostrais seja o mesmo em todos os campos que estejam sendo comparados (MESINA, 1986). É dado por:

$$I_{\delta} = N \frac{\sum x^2 - \sum x}{(\sum x)^2 - \sum x}$$

onde: N = tamanho da amostra e x_i = número de insetos na i-ésima unidade amostral.

O afastamento da aleatoriedade pode ser testado por:

$$X_{\delta}^2 = I_{\delta} (\sum x_i - 1) + n - \sum x_i \sim \chi^2_{(n-1)} .$$

Se $X_{\delta}^2 \geq \chi^2_{(n-1g.l.;0,05)}$, rejeita-se a hipótese de aleatoriedade da distribuição.

3.3.1.3. Coeficiente de Green

É aceitável para comparações de distribuições agregadas, sendo que se os valores calculados são negativos, indicam padrão uniforme e, quando positivos, padrão agregado (GREEN, 1966). Baseia-se na razão variância/média da distribuição e é dado por:

$$c_x = \frac{(s^2 / \hat{m}) - 1}{\sum_{i=1}^n x_i - 1}$$

Onde: m = média amostral, s^2 = variância amostral e x_i = número de insetos na i -ésima unidade amostral.

3.3.1.4. Expoente k da distribuição binomial negativa: estimativa de k pelo método dos momentos

De acordo com Anscombe (1950), citado por NASCIMENTO (1995), a estimativa de k pelo método dos momentos é obtida igualando-se os dois primeiros momentos da distribuição às suas estimativas amostrais, resultando na seguinte expressão:

$$k = \frac{m^2}{s^2 - m}$$

Onde: m = média amostral e s^2 = variância amostral.

Quando os valores são negativos, indicam distribuição uniforme, quando são baixos e positivos ($k < 2$), disposição altamente agregada; valores de k variando de 2 a 8 indicam agregação moderada e valores superiores a 8 ($k > 8$) disposição aleatória (ELLIOTT, 1979).

3.3.2. Modelos probabilísticos

3.3.2.1. Distribuição de Poisson

Caracteriza-se por apresentar variância igual à média ($\sigma^2 = \mu$). As fórmulas para cálculo da série de probabilidades são dadas por:

$$P(0) = e^{-m}$$

$$P(x) = \frac{m}{x} \cdot P(x-1) \quad \text{para } x = 1, 2, 3...$$

Onde: e = base do logaritmo neperiano ($e = 2,718282.....$), $P(x)$ = probabilidade de encontrar x indivíduos em uma unidade amostral e m = média amostral.

3.3.2.2. Distribuição binomial negativa

Caracteriza-se por apresentar variância maior que a média, indicando, assim, distribuição agregada. Possui dois parâmetros: a média (μ) e o parâmetro k ($k > 0$); as probabilidades são calculadas pelas fórmulas recorrentes dadas por:

$$P(0) = \left(1 + \frac{m}{k}\right)^{-k}, \text{ para } x = 0$$

$$P(x) = \frac{k+x-1}{x} \cdot \frac{m}{m+k} \cdot P(x-1), \text{ para } x = 1, 2, 3...$$

Onde: k = expoente k da distribuição binomial negativa e m = média amostral

3.3.3. Teste de qui-quadrado de aderência

Para testar o ajuste dos dados, a cada uma das distribuições de probabilidade, foi utilizado o teste qui-quadrado de aderência, dado pela seguinte expressão:

$$X^2 = \sum_{i=1}^{N_c} \frac{(FO_i - FE_i)^2}{FE_i}$$

Onde: N_c = número de classes da distribuição de freqüências; FO_i = freqüência observada na i-ésima classe; e FE_i = freqüência esperada na i-ésima classe.

Os modelos apresentam bom ajuste aos dados originais quando as freqüências observadas e esperadas são próximas, ou seja, não ocorre diferença significativa entre elas.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Pré-testes realizados visando a recaptura de *Cotesia flavipes*

4.1.1. Uso do corante Vermelho de Sudan B na marcação e no desenvolvimento de *Diatraea saccharalis* e de *Cotesia flavipes*

O uso de corantes para marcação de insetos é de fácil aplicação e visualização, possibilitando marcação permanente (OSTLIE et al., 1984), sendo facilmente manipuláveis e seguros ao ambiente (HAGLER & JACKSON, 2001). Assim, permite rápida distinção dos insetos liberados, em relação aos presentes naturalmente no campo, garantindo a marcação do inseto até o momento de recaptura (SOUTHWOOD, 1992).

4.1.1.1. Marcação de *Diatraea saccharalis*

Com base na análise de agrupamento, observa-se a formação de quatro grupos. O grupo A, composto pela testemunha e 100 ppm, apresentando grande similaridade entre esses dois tratamentos; o grupo B, formado pelo tratamento com 200 ppm; e o grupo C, pelo tratamento com 300 ppm e o Grupo D pelo tratamento com 400 ppm. O tratamento com 100 ppm não afetou negativamente os aspectos biológicos de *D. saccharalis* pelo fato de se agrupar com a testemunha. Fato evidenciado pelo período larval de 27,70 dias (testemunha) e 27,50 dias (100 ppm), período pupal (9,76 e 9,86 dias), viabilidade pupal (92,50 e 94,74%), longevidade (6,50 e 7,33 dias) e viabilidade de ovos (92,0 e 91,0%) serem semelhantes para os dois tratamentos. Porém, os demais influenciaram negativamente os aspectos biológicos da broca da cana-de-açúcar, sendo que quanto maior a concentração de corante utilizada, maior o efeito negativo na biologia da praga, comprovado pelo aumento da distância Euclidiana dos tratamentos com maiores concentrações de corante em relação à testemunha (Figura 4)

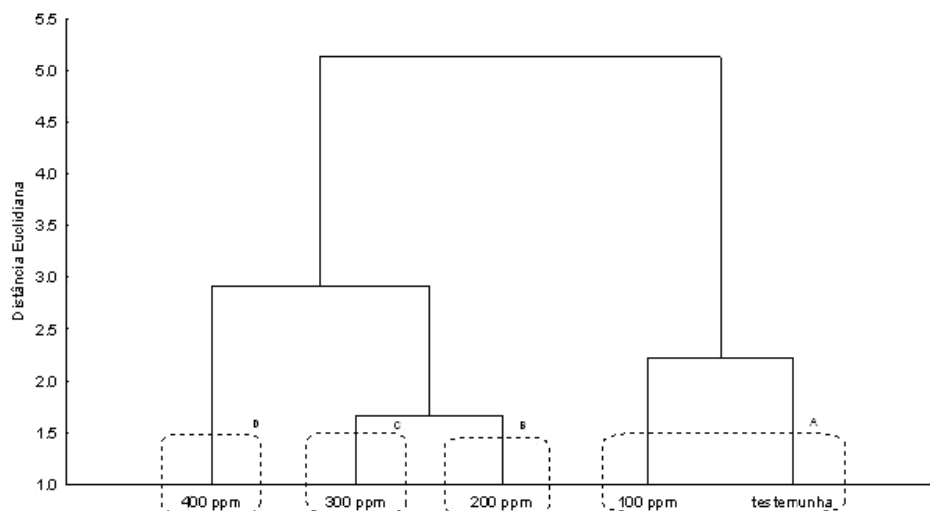


Figura 4. Dendrograma mostrando o agrupamento das concentrações do corante Vermelho de Sudan B em relação aos aspectos biológicos de *Diatraea saccharalis*.

A análise de componentes principais (Figura 5) complementa os resultados obtidos na análise de agrupamento. Assim, observa-se a formação de quatro grupos distintos, um em cada quadrante do gráfico. Testemunha e 100 ppm (Grupo A) ficaram próximos e em sentido oposto ao 400 ppm (Grupo D), ou seja, 100 ppm foi semelhante a testemunha, não afetando os aspectos biológicos de *D. saccharalis* e mostrando ser antagônico a 400 ppm. Os tratamentos com 200 e 300 ppm ficaram separados da testemunha, mostrando que afetam as características biológicas da praga (Figura 5).

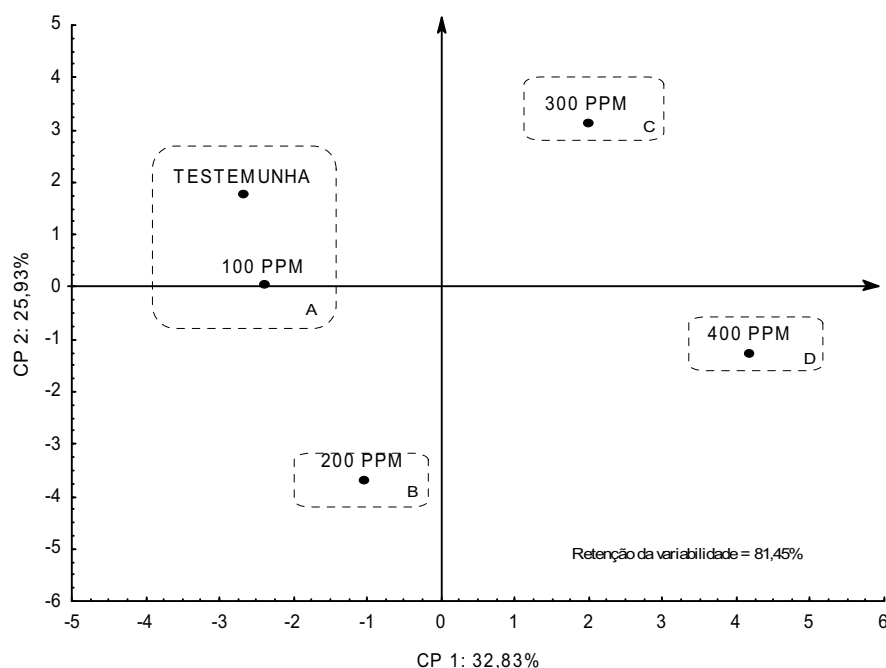


Figura 5. Distribuição das concentrações do corante Vermelho de Sudan B em relação aos aspectos biológicos de *Diatraea saccharalis*, segundo análise dos Componentes Principais.

Pela análise de duas entradas (Figura 6), pode-se averiguar o efeito de cada tratamento nas características biológicas de *D. saccharalis*. Testemunha e 100 ppm apresentaram menores períodos larval e pupal, maior peso da lagarta, maior largura do tórax e maior número de ovos por fêmea, ou seja, não houve influência negativa nas características biológicas da broca utilizando o corante Vermelho de Sudan B na concentração de 100 ppm. No entanto, para os demais aspectos biológicos estudados, todos os tratamentos foram semelhantes (Figura 6). Nas maiores concentrações, os períodos larval e pupal foram maiores, as fêmeas ovipositaram menos, sendo que as lagartas ganharam menos peso e se desenvolveram menos, evidenciado pelo menor comprimento do tórax (Figura 6). Tal fato explica o agrupamento da testemunha com 100 ppm (Figura 4) e a grande distância Euclidiana da testemunha e 100 ppm com os demais tratamentos. Os resultados obtidos corroboram (OSTLIE et al., 1984), que observaram efeito no desenvolvimento, prolongamento do período larval e menor peso pupal em larvas de *Ostrinia nubilalis* (Hübner, 1796) (Lepidoptera: Pyralidae)

alimentadas com corante Sudan Red, porém os autores não notaram influência negativa na longevidade, o que também foi observado por VILARINHO et al. (2006) em estudo com *Spodoptera frugiperda* (J.E.Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) utilizando corante Sudan Red, o que não corresponde com os resultados para longevidade encontrados no presente trabalho.

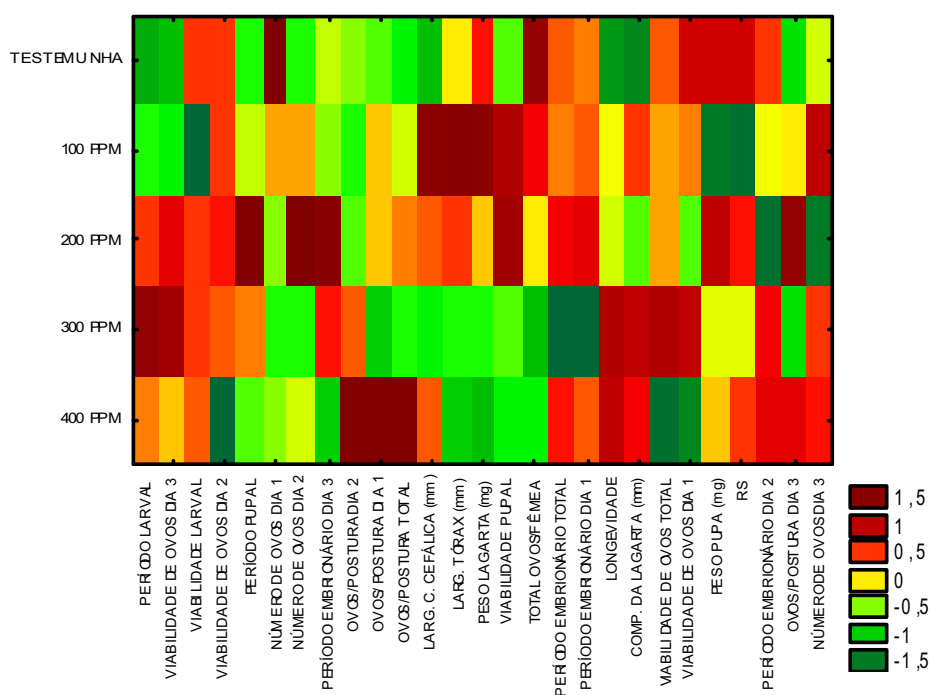


Figura 6. Análise de duas entradas mostrando a influência de cada aspecto biológico de *Diatraea saccharalis* em relação às concentrações do corante Vermelho de Sudan B.

Portanto, os aspectos biológicos estão associados à qualidade do alimento consumido, interferindo no período de desenvolvimento, viabilidade pupal e longevidade dos insetos (WALDBAUER, 1968). Esse fato pode ser explicado pelo gasto energético do inseto para metabolizar o corante ingerido, tido como substância tóxica. Esse gasto energético poderia impedir o incremento para desempenho de outras funções metabólicas que possibilitariam o desenvolvimento normal do inseto.

Todas as concentrações de corante utilizadas proporcionaram marcação de *D. saccharalis* na fase larval, adulta e ovo, colorindo os tecidos que apresentavam lipídios em sua composição, sendo que com o aumento da concentração do corante, a coloração de ovos, larvas e adultos tornou-se mais intensa (Figura 7), concordando com o que foi relatado por QURESHI et al. (2004) em *Diatraea grandiosella* Dyar 1911, (Lepidoptera: Crambidae) com corante Sudan Red e Solvent Blue.



Figura 7. *Diatraea saccharalis* sem adição de corante (esquerda) na dieta e marcadas com as concentrações de 100, 200, 300 e 400 ppm (direita). A) Posturas; B) Larvas; C) Adultos.

4.1.1.2. Marcação de *Cotesia flavipes*

Os dados obtidos do tratamento de 100 ppm não foram utilizados nas análises discutidas para *Cotesia flavipes* pelo fato de estarem incoerentes. Desse modo, foi analisado somente os dados obtidos para a testemunha, 200, 300 e 400 ppm.

Pela análise de agrupamento pode-se observar a formação de dois grupos distintos. O grupo A é composto pela testemunha, 200 e 300 ppm, mostrando que a similaridade das concentrações com a testemunha indica que essas doses não

interferiram negativamente na biologia de *C. flavipes*. Já o grupo B, formado apenas por 400 ppm, possui grande distância Euclidiana dos demais tratamentos, mostrando efeito negativo na biologia do parasitóide (Figura 8).

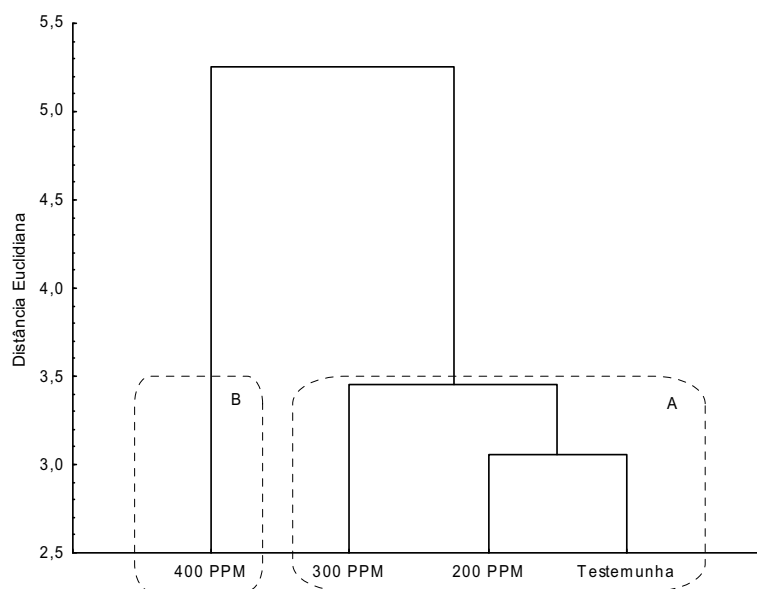


Figura 8. Dendrograma mostrando o agrupamento das concentrações do corante Vermelho de Sudan B em relação aos aspectos biológicos de *Cotesia flavipes*.

Com base no gráfico de duas entradas, pode-se observar a influência de cada aspecto biológico estudado nos tratamentos. Nota-se que os tratamentos testemunha, 200 e 300 ppm tiveram maiores valores para número de fêmeas, longevidade, viabilidade pupal e total de adultos. Em contrapartida, 400 ppm teve maior período pupal (Figura 9). Para os demais aspectos biológicos estudados os resultados foram semelhantes. Esses aspectos biológicos corroboram a formação dos dois grupos na análise de agrupamento, mostrando a semelhança dos tratamentos testemunha, 200 e 300 ppm e separando-os de 400 ppm (Figura 8).

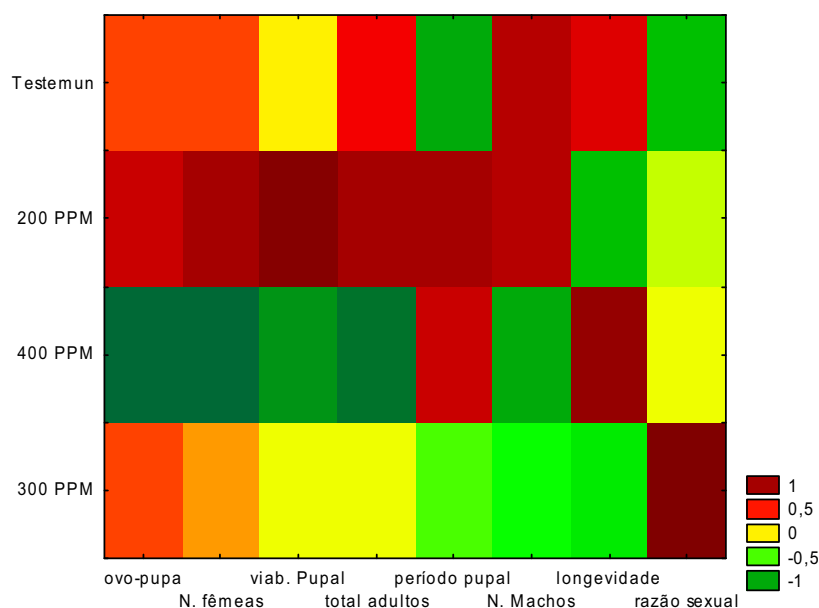


Figura 9. Análise de duas entradas mostrando o peso de cada aspecto biológico em cada um dos tratamentos.

Ao contrário do ocorrido com *D. saccharalis*, o corante não mostrou eficiência na marcação de adultos de *C. flavipes*, sendo tóxico ao inseto à partir de 400 ppm. Contudo, apesar de corantes incorporados em dieta artificial terem eficiência comprovada na marcação de lepidópteros (OSTLIE et al., 1984), a transferência do mesmo para o parasitóide (terceiro nível trófico) foi ineficiente nas concentrações testadas, sendo que o aumento das concentrações torna-se inviável, visto o efeito negativo que poderá causar na biologia da lagarta e consequentemente em *C. flavipes*.

4.1.2. Influência de cores de bacias utilizadas na confecção de armadilhas de Moericke para coleta de *Cotesia flavipes*

C. flavipes não foi atraída pelas cores de bacias, uma vez que dos 3 mil insetos liberados foram recapturados dois machos em duas armadilhas azul clara (um por armadilha), um macho em armadilha amarela e em verde clara e uma fêmea em armadilha rosa. Assim, esse teste gera indícios que *C. flavipes* não é atraída por cores.

Essas informações não condizem com ROMOSER (1981), que afirma que a atração por cor é demonstrada para insetos em geral. Fato este é comprovado por VENTURA & PANIZZI (2004) com armadilhas coloridas de Moericke, mostrando que as verdes e amarelas capturaram mais machos de *Neomegalotomus parvus* (Westwood, 1842) (Hemiptera: Alydidae) que outras armadilhas (15,9 e 11,5). Armadilhas amarelas capturaram mais indivíduos do que as azuis (6,7) e pretas (2,9). Armadilhas brancas (7,8), vermelhas (7,3) e azuis (6,7) capturaram significativamente mais machos do que armadilhas pretas.

A armadilha de Moericke foi originalmente desenvolvida para a captura de pulgões, porém demonstrou ser eficiente na captura de himenópteros parasitóides, dentre outros grupos de insetos (PERIOTO et al., 2008).

Em estudos com métodos de coleta de himenópteros da família Braconidae, SHIMBORI (2005) demonstrou que armadilhas de Moericke são menos eficientes que o método de varredura e superiores em relação à armadilha de Malaise. Nesse estudo, os gêneros *Hormius*, *Pambolus* e *Allobracon* foram coletados em maior quantidade em relação a *Rhyzipolis*, *Pseudorhysipolis* e *Aspilodemum* em remanescentes de Mata Atlântica. Porém, não há relatos da eficiência desse método para coleta de *Cotesia* sp.

4.1.3. Adição de diferentes concentrações de excrementos de *Diatraea saccharalis* à solução em armadilhas de Moericke amarela

Como as cores não atraíram *C. flavipes*, buscou-se o uso de restos de dieta de *D. saccharalis* combinado a armadilha de Moericke, buscando incrementar sua eficiência na coleta desses parasitóides.

Durante o forrageamento, parasitóides utilizam voláteis do habitat para localizar seus hospedeiros (FINIDORI-LOGLI et al., 1996). Tal fato pode ser verificado nas observações de BOETHEL & EIKENBARY (1986) onde comentam que os parasitóides orientam-se inicialmente em resposta aos estímulos fornecidos pela planta, e que numa segunda etapa, respondem aos estímulos fornecidos pelo hospedeiro.

Nesse sentido, o excremento dissolvido na solução da armadilha poderia funcionar como estímulo para atração dos parasitóides até as bacias. No entanto, foi encontrada apenas uma fêmea no tratamento que havia 8 gramas de excremento na solução e 4 fêmeas na testemunha.

4.1.4. Variação da altura de armadilhas adesivas amarela visando à coleta de *Cotesia flavipes*

Em virtude da armadilha de Moericke não ser eficiente na coleta de *C. flavipes*, buscou-se outras formas de coleta, sendo uma delas o uso de armadilhas adesivas amarelas.

Com esse método foram recapturados 60, 25 e 4 adultos de *C. flavipes* em 0, 25 e 50 cm de altura, respectivamente. Assim, observa-se que os insetos não foram atraídos pela cor, fato demonstrado pelo diferente número de insetos coletados nas 3 alturas de fixação das armadilhas de cor amarela. Porém, o fato das armadilhas dispostas no nível do solo capturar mais insetos, fica evidente que a coleta é por interceptação e que *C. flavipes* voa em alturas baixas.

Esse método de coleta mostrou-se apropriado visto sua eficiência nos pré-testes. Além disso, eliminam atratividades seletivas, como luminosa ou olfativa, que podem influenciar no comportamento de dispersão do inseto e na sua distribuição, que podem influenciar o comportamento de vôo do parasitóide e conseqüentemente mascarar os resultados. Além disso, as armadilhas fixadas no nível do solo foram eficientes e representativas na coleta dos parasitóides.

Porém, quando esse método foi utilizado no teste de distribuição espacial, houve a captura de apenas dois adultos em uma armadilha, das 100 colocadas nas subunidades.

4.1.5. Uso do hospedeiro *Diatraea saccharalis* introduzidas em colmo de cana visando a recaptura de *Cotesia flavipes*

Devido aos insucessos dos métodos testados, buscou-se a utilização de lagartas de *D. saccharalis* colocadas em entrenós de cana para medir a dispersão de *C. flavipes* por meio da avaliação do parasitismo das lagartas.

Utilizando esse método, observou-se que todas as lagartas foram parasitadas, independente da posição do colmo e do acréscimo de resto de dieta, mostrando ser eficiente para coleta dos dados. Desse modo, adotou-se para o experimento de dispersão colmos fixados no talhão na posição vertical, com as lagartas posicionadas com a cabeça para cima e sem a adição de resto de dieta. Esse critério foi adotado porque se assemelha com a condição natural de campo e ao comportamento natural das lagartas, evitando que o parasitismo seja influenciado pela atração dos parasitóides pelo excremento, podendo interferir no comportamento de busca e conseqüentemente influenciar os resultados.

A criação de hospedeiros é um dos melhores métodos para a obtenção de himenópteros parasitóides, possibilitando associar machos e fêmeas e obter grande número de insetos da mesma espécie, o que facilita a sua identificação (Grissel e Schauff, 1990), citado por (PERIOTO et al., 2008).

4.2. Índices de Agregação

A variância apresentou valores superiores à média para todos os parâmetros avaliados, sendo que o índice de dispersão razão variância/média (I) apresentou valores superiores à unidade, indicando distribuição espacial agregada para o parasitismo, número de machos, fêmeas e total de adultos emergidos (segunda geração). Contudo, observa-se que essa relação apresentou valores maiores para número de fêmeas, machos e total de adultos quando comparados ao parasitismo. Esse fato indica maior agregação dos insetos emergidos da segunda geração em relação ao parasitismo da população liberada no campo (Tabela 1).

Tabela 1. Médias, variâncias e índices de dispersão para *Cotesia flavipes* em cana-de-açúcar.

Índices	Parasitismo	N° de fêmeas	N° de Machos	Total de insetos
m	0,8700	28,77	12,83	41,60
s^2	1,6092	2289,33	696,65	4972,69
$l = s^2/m$	1,8496	79,57	54,30	119,54
l_δ	17,75 ^{**}	3,7047 ^{**}	5,1159 ^{**}	3,8216 ^{**}
X_δ^2	1824,1	7877,7	5375,5	11834,0
$k_{momentos}$	1,0239	0,3662	0,2407	0,3509
Cx	0,0405	0,0273	0,0416	0,0285

m = média amostral, s^2 = variância, l = razão variância/média e l_δ = índice de Morisita, X_δ^2 = teste de qui-quadrado de aderência para os valores calculados para o índice de Morisita, ** = significativo ao nível de 1% de probabilidade, $k_{momentos}$ = k calculado pelo método dos momentos, Cx = coeficiente de Green.

Os valores obtidos para o Índice de Morisita (l_δ) foram superiores à unidade, confirmando a distribuição agregada para os parâmetros avaliados. Entretanto, os valores para número de fêmeas, machos e total de adultos foram superiores ao obtido para parasitismo, confirmando a maior agregação dos três primeiros (Tabela 1).

Esse tipo de distribuição também foi observado por meio do cálculo do Coeficiente de Green (Cx), explicado pelos valores maiores que zero e que, segundo DAVIS (1993), aponta uma distribuição agregada (Tabela 1).

Em relação ao parâmetro k , os valores estimados para número de fêmeas, machos e total de adultos apresentaram valores próximos a zero, o que indica, alta agregação. Para parasitismo, o valor de k foi maior que aqueles obtidos para número de machos fêmeas e total de adultos, indicado que o parasitismo é menos agregado que o número de insetos emergidos na segunda geração (Tabela 1).

4.3. Modelos Probabilísticos

Para estudo do modelo probabilístico que explica a distribuição espacial de *C. flavipes*, efetuou-se o ajuste dos dados de parasitismo, número de machos, fêmeas e

total de adultos emergidos da segunda geração à distribuição de Poisson e à Binomial Negativa (Figura 10).

A distribuição de Poisson não se ajustou aos dados de parasitismo, número de machos, fêmeas e total de adultos emergidos da segunda geração, e o valor do qui-quadrado foi significativo ao nível de 1% de probabilidade, mostrando que a distribuição do parasitismo e dos insetos emergidos da segunda geração não é aleatória. Como a variância foi maior que a média, testou-se o ajuste à distribuição Binomial Negativa (Figura 10).

A distribuição Binomial Negativa ajustou-se aos dados, não havendo diferença significativa entre a frequência esperada e observada, mostrando que a distribuição espacial do parasitismo e dos insetos emergidos da segunda geração é agregada, independente do sexo do parasitóide (Figura 10).

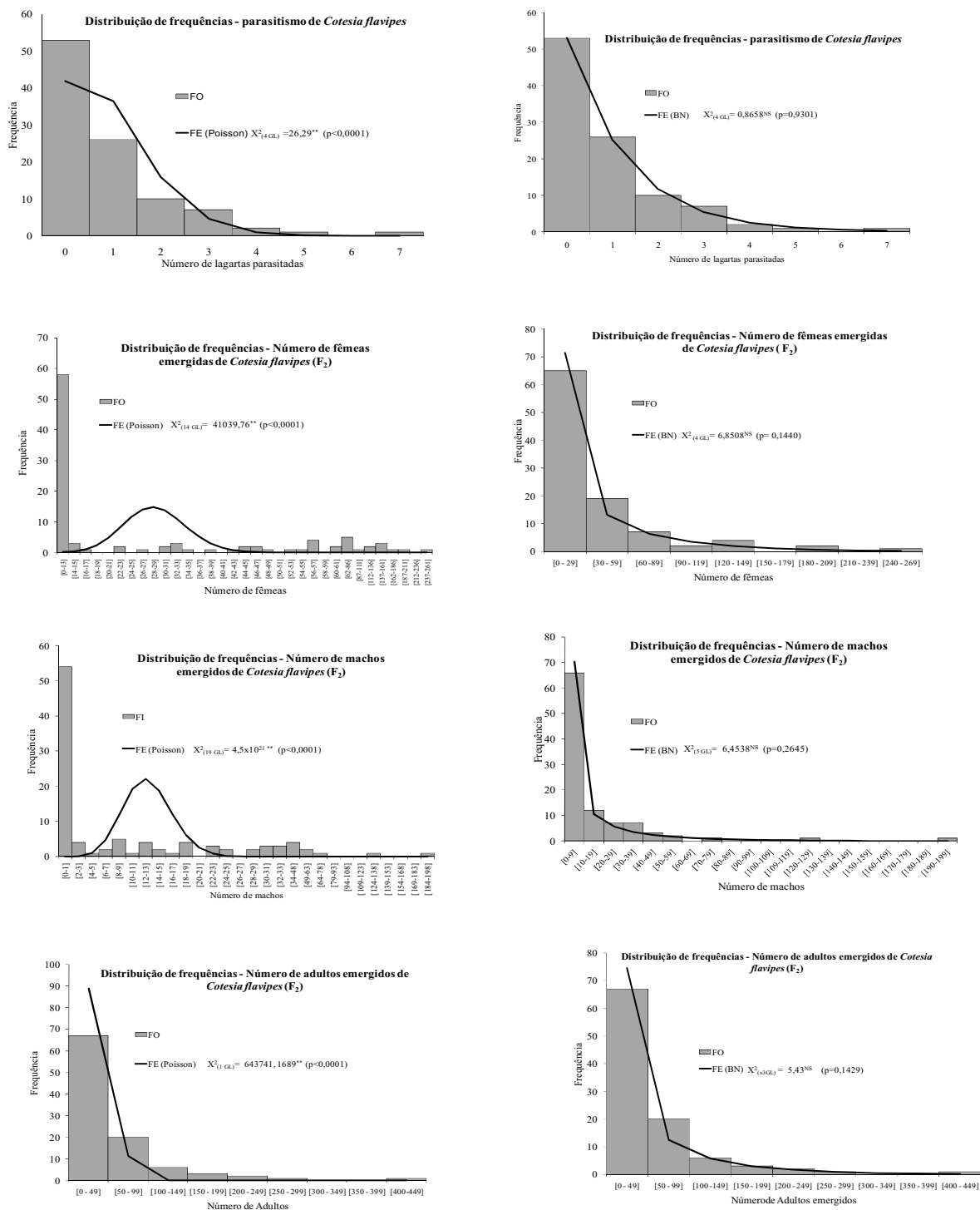


Figura 10. Frequências observadas e ajuste dos dados à distribuição de Poisson e binomial negativa para o parasitismo, número de machos, fêmeas e total de adultos emergidos da segunda geração de *Cotesia flavipes*.

4.4. Análise geoestatística

A obtenção do semivariograma é o primeiro passo no procedimento de uma análise Geoestatística. O modelo escolhido será usado no processo de krigagem e influenciará todos os resultados interpolados. O semivariograma permite a tomada de decisão para o uso ou não da Geoestatística permitindo o conhecimento com precisão do grau de continuidade das variáveis e as características qualitativas da regionalização (FARIAS, 1999).

O semivariograma do parasitismo de *C. flavipes* apresenta um alcance de aproximadamente 25 metros. A distância de alcance é definida à medida que a distância entre os pares aumenta, até atingir um determinado patamar (Figura 11).

O alcance indica a distância de vôo do parasitóide, ou seja, seu potencial de dispersão. Nesse contexto, *C. flavipes* parasita lagartas de *D. saccharalis* a distância aproximada de 25 metros a partir do ponto de liberação (Figura 11).

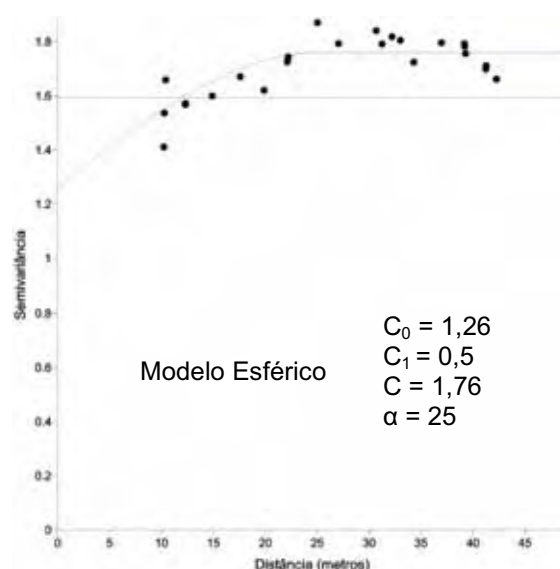


Figura 11. Semivariograma do número de lagartas de *Diatraea saccharalis* parasitadas por *Cotesia flavipes*.

Essa distância é menor em relação à obtida por BOTELHO et al. (1980), onde os autores chegaram a conclusão de que esse parasitóide tem a capacidade de se dispersar por aproximadamente 34 metros.

Por meio dos dados do semivariograma ajustado foi realizada a krigagem para estimar as interpolações necessárias para a construção do mapa de isolinhas e tridimensional do parasitismo de *C. flavipes* (Figura 12).

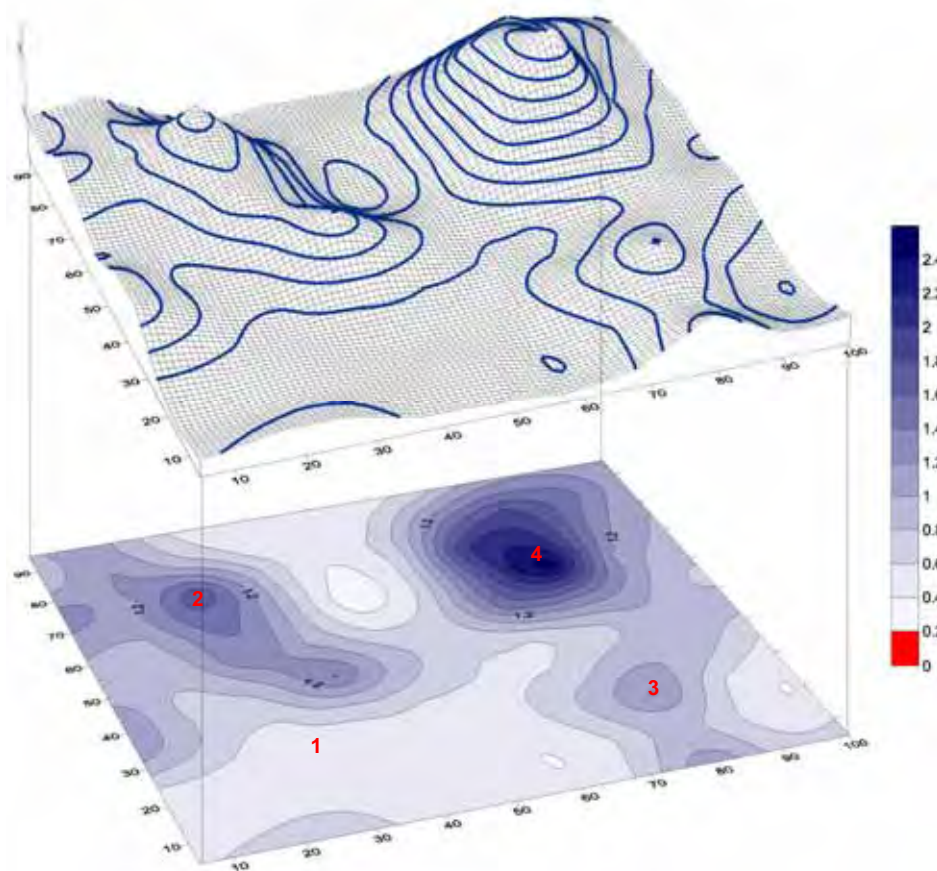


Figura 12. Mapa de krigagem do parasitismo de *Cotesia flavipes* na cultura da cana-de-açúcar.

Com base no mapa, observa-se que cada ponto de liberação apresentou um comportamento diferente em relação ao parasitismo de *C. flavipes*.

Para facilitar o entendimento, cada ponto de liberação será discutido separadamente.

Os pontos de liberação 1 e 3 foram menos eficientes em relação aos pontos 2 e 4 pelo fato de se situarem mais próximos do carreador, ficando mais desprotegidos (Figura 12).

Desse modo, nota-se que os pontos de liberação mais próximos do carreador são menos eficientes em relação a pontos que apresentam proteção maior da cultura (Figura 12).

Os pontos 2 e 4, por estarem protegidos em todas as direções pela cultura da cana, foram mais eficientes, pelo fato dos parasitóides não saírem da cultura pelos corredores de vôo, visto que nesses pontos não havia a influência de carreadores (Figura 12).

Os parasitóides liberados no ponto 2 apresentaram maior agregação do parasitismo em relação aos pontos situados próximos ao carreador (1 e 3), sendo que este variou de 1,2 a 1,4 lagartas parasitadas próximo ao ponto de liberação. Porém, o parasitismo caiu pela metade a partir de 10 metros do ponto de liberação, chegando a valores de 0,2 lagartas parasitadas entre 15 a 25 metros desse mesmo ponto, que é o raio de ação do parasitóide (Figura 12).

Os insetos liberados no ponto 4 apresentaram os maiores índices de parasitismo, variando de 2,2 a 2,4 lagartas parasitadas próximo ao ponto de liberação. Porém, a partir de 15 metros da liberação do parasitóide, o parasitismo caiu pela metade, chegando a 1,2 lagartas parasitadas, e a partir dessa distância, o parasitismo foi de 0,4 a 0,8 lagartas (Figura 12).

Desse modo, apesar do raio de ação de *C. flavipes* de 25 metros condizer com a distância de liberação dos copos (50 metros), ou seja, dispersão de 50 metros de diâmetro, cobrindo toda a área de 100 x 100 metros, o número de lagartas parasitadas decresce rapidamente, caindo pela metade quando se distancia 10 metros do ponto de liberação (Figuras 11 e 12).

Tendo em vista que a metodologia de liberação de 4 pontos por hectare preconiza a abrangência de uma área de 100 x 100 metros (1 ha) e recomenda-se a

liberação quando a infestação de *D. saccharalis* atingir a densidade de 3000 lagartas nessa mesma área, ter-se-á a infestação de 1 lagarta a cada dois metros lineares. Nesse sentido, tem-se áreas delimitadas pelas isolinhas, onde o parasitismo é inferior a uma lagarta parasitada. Esses locais situam-se aproximadamente após 10 a 15 metros dos pontos de liberação (Figura 12).

ASSEFA et al. (2008) evidenciaram diferenças genéticas em diferentes linhagens de *C. flavipes*, quando comparadas àquela oriunda da Etiópia com outras provenientes de várias regiões do mundo, inclusive com uma brasileira localizada em Piracicaba-SP. Os autores concluíram que foram identificados 9 haplótipos, sendo que as linhagens africanas são semelhantes a de Piracicaba e da Jamaica (Haplótipo I). Esses haplótipos podem ter se diferenciado devido a isolamento reprodutivo por várias gerações e podem apresentar diferenças em sua capacidade de busca, parasitismo e capacidade de vôo, que são características importantes de um agente de controle biológico.

Nesse sentido, acredita-se que devido às diferenças genéticas entre linhagens de *C. flavipes* utilizadas atualmente, acarretadas por isolamentos reprodutivos com população selvagem e degeneração genética, podem estar correlacionadas também com sua agressividade. O fato da linhagem de *C. flavipes* se dispersar 34 metros em estudos realizados por BOTELHO et al. (1980) é um indicativo que após 29 anos, *C. flavipes* pode ter perdido características genéticas que estão relacionadas com sua agressividade e seu potencial de dispersão, gerando subsídios para novos testes de dispersão buscando melhorias no sistema de liberação do parasitóide.

O semivariograma dos machos de *C. flavipes* da segunda geração mostra que esses insetos tem um alcance de 22 metros (Figura 7). Com base nessa análise, foi construído o mapa de contorno e tridimensional para o número de machos emergidos da segunda geração (Figura 13).

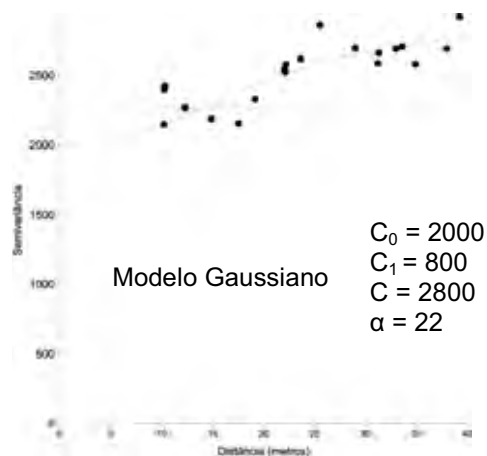


Figura 13. Semivariograma do número machos de *Cotesia flavipes* emergidos na segunda geração.

Por meio desse mapa, observa-se que houve diferença entre o número de parasitóides machos emergidos nos 4 pontos de liberação. Tal fato está relacionado ao número de lagartas parasitadas que foi diferente nesses 4 pontos. Dessa maneira, pontos onde ocorreu um menor número de lagartas parasitadas, houve um menor número de machos emergidos na segunda geração (Figura 14).

Da mesma maneira, o número de machos decresceu rapidamente à medida que se distancia dos pontos de liberação, havendo a emergência no ponto 4 de aproximadamente 40 adultos próximo ao local de liberação, caindo pela metade após 10 metros desse ponto, fato que condiz com o número de lagartas parasitadas nesses pontos (Figura 14).

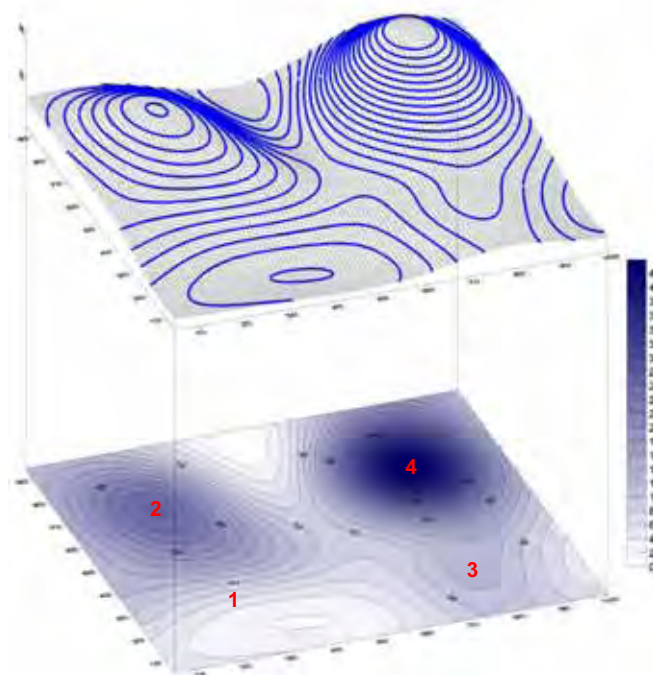


Figura 14. Mapa de krigagem do número de machos de *Cotesia flavipes* emergidos na segunda geração.

O semivariograma do número de fêmeas emergidas da segunda geração mostrou um alcance de 18 metros (Figura 15). Porém, analisando o mapa de krigagem, nota-se que o número de fêmeas emergidas é proporcional ao número de lagartas parasitadas nos diferentes pontos, ocorrendo reduções drásticas desse número à medida que se distância do ponto de liberação (Figura 16).

Porém, comparando o mapa de krigagem do número de machos emergidos com o de fêmeas, observa-se que o número de insetos machos e fêmeas emergidos foram semelhantes, ou seja, a razão sexual em toda a área foi próximo a 0,5 (Figuras 14 e 16).

Estudos realizados por SUZUKI & IWASA (1980), WERREN (1980), GODFRAY (1994) e CAMPOS-FARINHA et al. (2000) mostram que a razão sexual é uma valiosa ferramenta para demonstrar a hipótese da competição local de cópula. Nesse sentido,

CAMPOS-FARINHA et al. (2000) observaram que o parasitóide deposita menos ovos em lagartas já parasitadas e a razão sexual tende para maior número de machos.

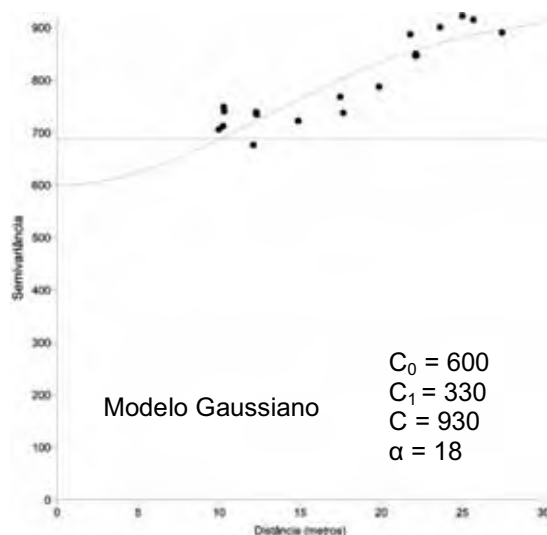


Figura 15. Semivariograma do número fêmeas de *Cotesia flavipes* emergidas na segunda geração.

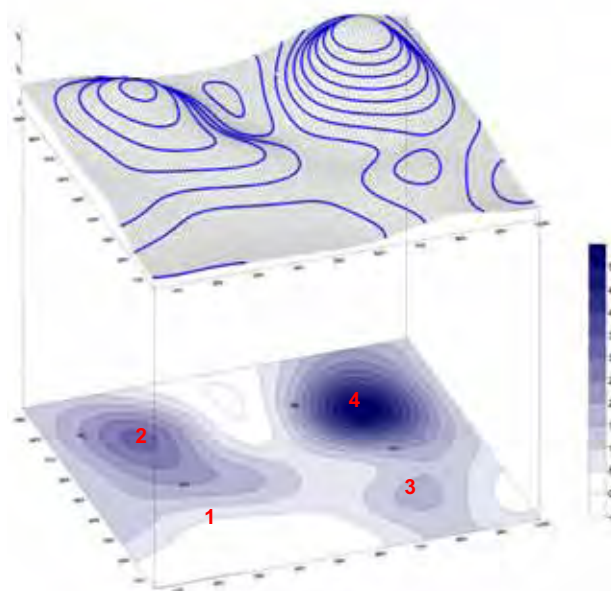


Figura 16. Mapa de krigagem do número de fêmeas de *Cotesia flavipes* emergidas na segunda geração.

Isto sugere que quando uma fêmea de *C. flavipes* encontra um hospedeiro que não é adequado para o desenvolvimento de toda a prole, há uma tendência para que ela produza machos. Estes, ao se tornarem adultos, iriam copular com várias fêmeas, por serem poligâmicos, aumentando, desta maneira, o número de descendentes da segunda geração da fêmea responsável pelo superparasitismo (CAMPOS-FARINHA et al., 2000).

Com base nessas informações, e devido ao fato da proporção de machos e fêmeas serem próximas no presente trabalho, nas diferentes áreas, não ocorreu superparasitismo, fato comprovado pela razão sexual ter sido próxima a 0,5.

O fato de não ocorrer superparasitismo gera indícios que a população de *C. flavipes* presente naturalmente na área, ou seja, que não são provenientes da liberação inundativa é baixa, não influenciando nos resultados obtidos, pois a presença de grandes quantidades de parasitóides na área poderia acarretar superparasitismo, devido a competição com os parasitóides liberados de maneira inundativa. Isso implica que *C. flavipes* não se mantém em altos índices na área após a liberação, não persistindo nesse agroecossistema.

O semiograma do número de adultos emergidos da segunda geração mostrou um alcance de 25 metros, condizendo com a distância de vôo do parasitóide (Figura 17).

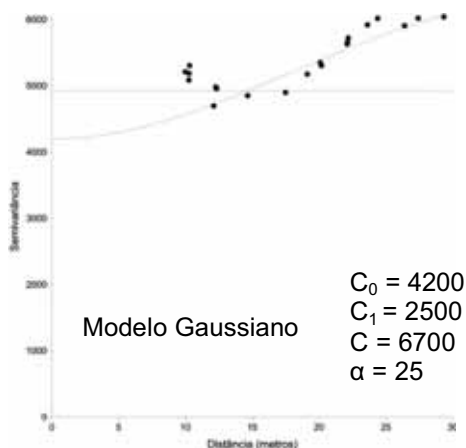


Figura 17. Semivariograma do número de adultos de *Cotesia flavipes* emergidos na segunda geração.

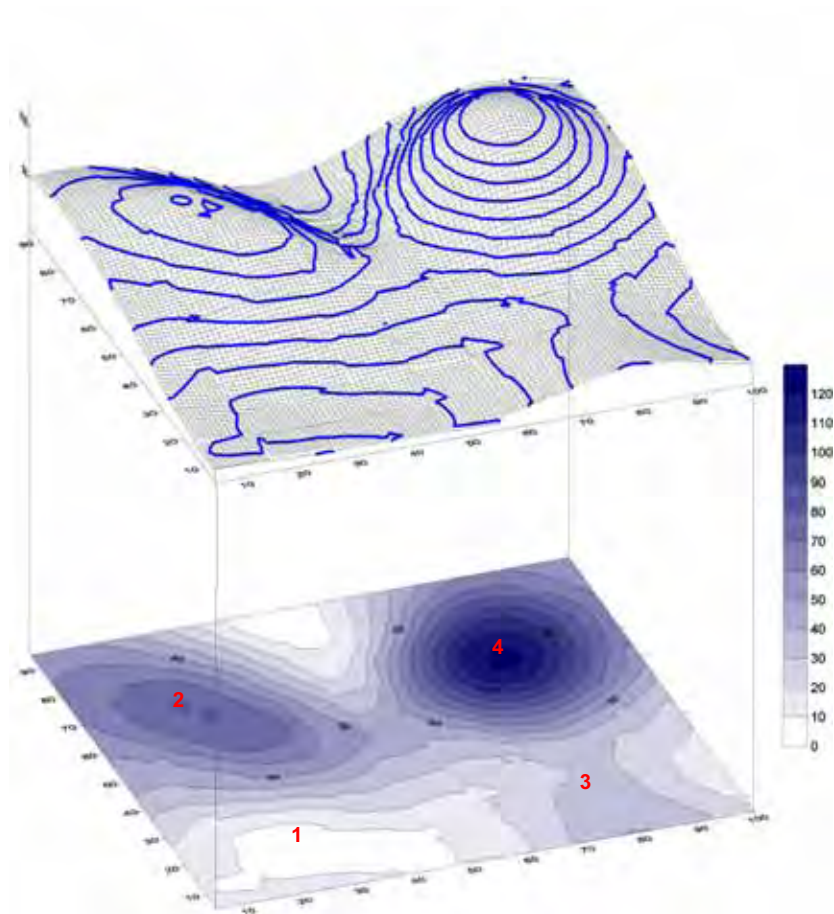


Figura 18. Mapa de krigagem do número de adultos de *Cotesia flavipes* emergidos na segunda geração.

O número de parasitóides emergidos na segunda geração foi alto, chegando a 100 indivíduos próximo ao ponto de liberação, decaindo e atingindo a marca final de 50 insetos emergidos nos locais mais longes do ponto de liberação (Figura 18).

Porém, esses dados foram obtidos de massas mantidas em laboratório devidamente etiquetadas dos pontos de liberação onde foram coletadas.

Devido ao grande número de insetos emergidos no laboratório, faz-se necessário medir a distribuição espacial e mapear, com o uso da geoestatística a distribuição da segunda geração do parasitóide em campo, a fim de determinar se os parasitóides tendem a se distribuir em toda a área, seguindo um padrão de distribuição uniforme, atendendo a área de controle.

5. CONCLUSÕES

O padrão de distribuição do parasitismo de *C. flavipes* em lagartas de *D. saccharalis* ocorreu de maneira agregada no talhão;

O raio de agregação de *C. flavipes* é de 25 metros;

A metodologia de recaptura utilizando o hospedeiro natural de *C. flavipes* mostrou-se eficiente para medidas de dispersão desse parasitóide;

O uso da Geoestatística permitiu quantificar e mapear o parasitismo, número de lagartas parasitadas, machos, fêmeas e adultos emergidos na segunda geração de *C. flavipes* mostrando ser uma ferramenta útil para estudos que visem buscar uma metodologia de liberação eficiente de *C. flavipes*;

Faz-se necessário estudar a distribuição espacial da segunda geração do parasitóide, após sua dispersão no campo, a fim de averiguar se o mesmo tem a capacidade de se distribuir por toda a área;

O corante Vermelho de Sudan B não pode ser utilizado para a marcação de *Cotesia flavipes*, por não marcarem o parasitóide em nenhuma concentração e prejudicarem a biologia de *Diatraea saccharalis*;

As armadilhas de Moericke não foram eficientes para coleta de *Cotesia flavipes*, não sendo atrativa nas cores testadas e com o uso de excremento dissolvido na solução.

6. REFERÊNCIAS

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

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

ASSEFA, Y.; MITCHELL, A.; CONLONG, D. E.; MUIRHEAD, K. A. Establishment of *Cotesia flavipes* (Hymenoptera: Braconidae) in sugarcane fields of Ethiopia and origin of founding population. **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v. 101, n. 3, p. 686-691, 2008.

BARBOSA, J. C. A amostragem seqüencial. In: FERNANDES, O. A.; CORREIA, A. C. B.; DE BORTOLI, S. A. (Eds). **Manejo integrado de pragas e nematóides. Jaboticabal**, FUNEP, 1992. p. 205-11.

BARBOSA, J. C. **Distribuições de probabilidade como base para análises estatísticas, amostragem e estratégias de manejo de *Diatraea saccharalis* (Fabr., 1794) na cultura da cana-de-açúcar**. 1985. 131f. Tese (Doutorado em Estatística e Experimentação Agronômica) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba. 1985.

BARTLETT, 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 JR, L. C.; NOGUEIRA, G. A.; VALE,

D. W. (Eds.). **Tópicos em tecnologia sucroalcooleira**. Jaboticabal, Multipress Ltda, 2006. p. 101-120.

BIANCO, R. **Disposicion espacial de *Aeneolamia* spp. (Homoptera: Cercopidae) en praderas de gramíneas tropicales**. 1982. 123f. Dissertação (Mestrado) - Institucion de Ensinanza e Investigacion en Ciencias Agricolas, Chapingo. 1982.

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.

BOETHEL, D. J.; EIKENBARY, R. D. **Interactions of plant resistance and parasitoids and predators insects**. Chichester: Ellis Horwood, 1986. 224p.

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 parasitóides. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 27, s/n, 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. 110 f. (Tese de Doutorado) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba. 1985.

BOTELHO, P. S. M.; MACEDO, N.; MENDES, A. C. Aspects of the population dynamics of *Apanteles flavipes* (Cameron) and support capacity of its host *Diatraea saccharalis*

(Fabr.). In: **Congress of the International Society of Sugar Cane Technologists, 17, Proceedings... ISSCT**. Manila, Philippines. v. 2, p.1736-1745, 1980.

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

BURROUGH, P. A.; McDONNELL, R. A. **Principles of Geographical Information Systems**. Oxford: Oxford University Press, 1997. 333p.

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

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. (Orgs.). **Tópicos em Entomologia Agrícola**. 1 ed. Ribeirão Preto: Maxicolor Gráfica e Editora, 2008, v. 1, p. 57-75.

DAVIS, P. M. Statistics for describing populations.. In: PEDIGO L. P.; BUNTIN, G. D. (Eds.). **Handbook of sampling methods for arthropods in agriculture**. Boca Raton: CRC Press, 1993. p. 33-54.

DOUTT, R. L. The biology of parasitic Hymenoptera. **Annual Review of Entomology**, Palo Alto, v. 4, s/n, p. 161-182, 1959.

ELLIOTT, J. M. **Some methods for the statistical analysis of sample benthic invertebrates**. Ambleside: Freshwater Biological Association. 1979. 157p.

ELLIOTT, N. C.; KIECKHEFER, R. W.; WALGENBACH, D. D. Binomial sequential sampling methods for cereal aphids in small grains. **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v. 83, n. 4, p. 1381-1387, 1990.

ELLSBEURY, M. M.; WOODSON, W. D.; CLAY, S. A.; MALO, D.; SCHUMACHER, J.; CLAY, D. E.; CARLSON, C. G. Geostatistical characterization of special distribution of adult corn rootworm (Coleoptera: Chrysomelidae) emergence. **Environmental Entomology**, Salt Lake City, v. 27, n. 4, p. 910-917, 1998.

FARIAS, P. R. S. **Distribuição espacial do nematóide reniforme com o uso da geoestatística, em um solo com rotação de culturas**. 1999. 109f. Tese (Doutorado em Produção Vegetal) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal – FCAV/Unesp, Jaboticabal. 1999.

FINIDORI-LOGLI, V.; BAGNERES, A. G.; CLEMENT, J. L. Role of plant volatiles in the search for a host by parasitoid *Diglyphus isaea* (Hymenoptera, Eulophidae). **Journal of Chemical Ecology**, New York, v. 22, n. 3, p. 541–558, 1996.

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.

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

GIFFORD, J. R.; MANN, G. A. Biology, rearing, and a trial 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.

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

GREATHEAD, D. J. **A review of biological control in the Ethiopian Region**. Commonwealth Institute of Biological Control, Commonwealth Agricultural Bureaux, Technical Communication n. 5, Farnham Royal – UK, 1971. 162p.

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

GREEN, R. H. Measurement of non-randomness in spatial distributions. **Researches on Population Ecology**, Tokyo, v. 8, n. 1, p. 1-7, 1966.

HAGLER, J. R.; JACKSON, C. G. Methods for marking insects: current techniques and future prospects. **Annual Review of Entomology**, Palo Alto, v. 46, n. 1, p. 511-543. 2001.

ISAAKS E. H.; SRIVASTAVA R. M. **Applied Geeostatistics**. New York: Oxford University Press, 1989. 561p.

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

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

LEPPLA, N. C.; WILLIAMS, D. W. Mass rearing beneficial insects and the renaissance of biological control. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 27, s/n, 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. **Controle biológico da broca *Diatraea saccharalis* e outras pragas da cana-de-açúcar.** 2004. Disponível em: <<http://www.proex.ufscar.br/textos/controlebio.doc>>. Acesso em: 16 mar. 2007.

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

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**, IAA/Planalsucar: Piracicaba, 2000. 24p.

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

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.

MARCELINO, M. C. S. **Distribuição espacial e amostragem sequencial de *Enneothrips flavens* (Moulton 1941) (Thysanoptera, Thripidae) na cultura do amendoim (*Arachis hypogaea* L.)**. 1996. 169 f. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal. 1996.

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

MARQUES, M. O.; MUTTON, M. A.; AZANIA, A. A. P. M.; TASSO JR, L. C.; NOGUEIRA, G. A.; VALE, D. W. **Tópicos em tecnologia sucroalcooleira**. Jaboticabal: Multipress, 2006. 191 p.

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, F. 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. Proceedings.... ISSCT. São Paulo, v. 16, p. 703-710, 1977.

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

MESINA, R. R. V. **Disposição espacial de *Panonychus ulmi* (Koch, 1836) (Acarina: Tetranychidae) e determinação do número de amostras na macieira.** 1986. 88f. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal do Paraná, Curitiba. 1986.

METCALFE, J. R. The estimation of loss caused by sugar cane moth borers. In: METCALFE, J. R. (Ed.) **Pest of sugar cane.** Amsterdam: 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.

MORISITA, M. Measuring of the dispersion of individuals and analysis of the distributional patterns. **Memoirs of Faculty of Science**, Fukuoka, v. 2, n. 4, p. 215-235, 1959.

MORISITA, M. *Id*--index, a measure of dispersion of individuals. **Researches on Population Ecology**, Kyoto, v. 4, n. 1, p. 1-7, 1962.

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

MYERS, J. H. Selecting a measure of dispersion. **Environmental Entomology**, Salt Lake City, v. 7, n. 5, p. 619-621, 1978.

MORGAN, M.; ESS, D. **The precision-farming guide for agriculturists**. Moline: John Deere Publishing, 1997, 117p.

NARDIN, R. R. **Treinamento do setor de entomologia do Grupo Virgolino de Oliveira açúcar e álcool**. In: GRUPO VIRGOLINO DE OLIVEIRA, Itapira, 2002. p. 2-3 e 6.

NASCIMENTO, J. E. do. **Distribuição especial e plano de amostragem sequencial para o percevejo pequeno, *Piezodorus guildinii* (Westwood, 1837) (Heteroptera-Pentatomidae) na cultura da soja**. 137f. 1995 Dissertação (Mestre em Agronomia, Área de Concentração em Entomologia Agrícola) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal. 1995.

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.

OSTLIE, K. R.; HIGLEY, L. G.; KASTER, L. V.; SHOWERS, W. B. European corn borer (Lepidoptera: Pyralidae) development, larval survival and adult vigor on meridic diets containing marker dyes. **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v. 77, n. 1, p. 118-120, 1984.

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**, Kenya, v. 17, n. 1, 79–88, 1997.

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

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.

PERIOTO, N. W.; LARA, R. I. R.; FERNANDES, D. R. R.; MIRANDA, N. F. Himenópteros parasitóides (Insecta, Hymenoptera): metodologia de obtenção e coleta. In: ARAUJO, E.S.; VACARI, A.M.; CARVALHO, J.S.; GOULART, R.M.; CAMPOS, A.P.; VOLPE, H.X.L.. (Orgs.). **Tópicos em Entomologia Agrícola**. 1 ed. Ribeirão Preto: Maxicolor Gráfica e Editora, 2008, v. 1, p. 57-75.

PERRY, J N; MEAD, R. On the power of the index of dispersion test to detect spatial pattern. **Biometrics**, Alexandria, v. 35, n. 3, p. 613-622, 1979.

PINTO, A. de S.; PARRA, J. R. P. Liberação de inimigos naturais. In: PARRA, J. R. P.; BOTELHO, P. S. M.; CORRÊA-FERREIRA, B. S.; BENTO, J. M. S. (Eds.). **Controle biológico no Brasil: parasitóides 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, 2006. 287p.

PREZOTTI, L.; PARRA, J. R. P. Controle de qualidade em criações massais de parasitóides e predadores. In: PARRA, J. R. P.; BOTELHO, B. S. M.; FERREIRA, B. S.

C.; BENTO, J. M. S. In: (Eds.). **Controle biológico no Brasil: parasitóides e predadores**. São Paulo, Manole, 2002. p. 295-307.

QURESHI, A. J.; BUSCHMAN, L. L.; THRONE, J. E. E. Oil-soluble dyes incorporated in meridic diet of *Diatraea grandiosella* (Lepidoptera: Crambidae) as markers of adult dispersal studies. **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v. 97, n. 3, p 836-845, 2004.

RABINOVICH, J. E. **Introducción a la ecologia de poblaciones animales**. Continental: México, 1980. 313p.

RICKLEFS, R. E. **A economia da natureza**. 5ed. 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. 77f. Dissertação (Mestrado em Entomologia) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1982.

ROMOSER, W.S. **The science of entomology**. New York : Mcmillan, 1981. 449p.

SHIMBORI, E. D. **Estudo dos *Hormiinae* (Hymenoptera: Braconidae) em remanescentes da Mata Atlântica Ombrófila do Brasil**. 2005. 105f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de São Carlos, São Carlos. 2005.

SILVEIRA NETO, S.; NAKANO, O.; BARBIN, D.; VILLA NOVA, N. A. **Manual de ecologia de insetos**. São Paulo: Ceres. 1976. 420p.

SOUTHWOOD, T. R. E. **Ecological methods**. London: Chapman and Hall, 1971. 391p.

SOUTHWOOD, T. R. E. **Ecological methods: with particular reference to the study of insect populations**. London: Chapman & Hall, 1992. 524p.

SUZUKI, Y.; IWASA, Y. A sex ratio theory of gregarious parasitoids. **Researches on Population Ecology**, Kyoto, v. 22, n. 2, p. 366-382, 1980.

TAYLOR, L. R. Assessing and interpreting the spatial distribution of insects populations. **Annual Review of Entomology**, Palo Alto, v.29, s/n, p. 231-257, 1984.

TÉRAN, F.O. Pragas da cana-de-açúcar. In: TÉRAN, F.O. **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. **Boletim técnico COPERSUCAR**, São Paulo, v. 11, p. 9, 1980.

UNICA. União da Agroindústria Canavieira de São Paulo. **Açúcar e álcool do Brasil: commodities da energia e do meio Ambiente**. 2004. Disponível em: <http://www.unica.com.br/multimedia/publicação>. Acesso em: 27 fev. 2007.

UNICA. União da Agroindústria Canavieira de São Paulo. **A indústria da cana-de-açúcar: Etanol, açúcar e bioeletricidade**. 2009. Disponível em: <http://www.portalunica.com.br>>. Acesso em: 20 maio. 2009.

VAN LENTEREN, J.C. Quality control of natural enemies: hope or illusion? In: BIGLER, F. (Ed.), **Workshop of the IOBC global working group "Quality control of mass reared arthropods"**, 5th, 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.

VENTURA, M. U; PANIZZI, A. R. Responses of *Neomegalotomus parvus* (Hemiptera: Alydidae) to color and male-lured traps. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, Curitiba, v. 47, n. 4, p.531-535, 2004.

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.** Anais do simpósio de pesquisa: Biológicas. Resumos... 1999. Disponível em <<http://www.unirpnet.com.br/Pesquisa/Anais/bio.html>>. Acesso em: 01 ago. 2006.

VIEIRA, S. R. Geoestatística em estudos de variabilidade espacial do solo. In: NOVAIS, R. F. de; ALVAREZ, V. H.; SCHAEFER, C. E. G. R. (Eds.). **Tópicos em ciência do solo.** Viçosa: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2000. v.1, p.1-54.

VILARINHO, E. C.; FERNANDES, O. A.; OMOTO, C.; HUNT, T. E. Oil-soluble dyes for marking *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v. 99, n. 6, p. 2110-2115, 2006.

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

WALDBAUER, G. P. The consumption and utilization of food by insects. **Advances in Insect Physiology**, New York, v. 5, s/n, p. 229-288, 1968.

WERREN, J. H. Sex ratio adaptations to local mate competition in a parasitic wasp. **Science**, Cambridge, v. 208, n. 4448, p. 1157-1159, 1980.

YOUNG, L J; YOUNG, J. H. **Statistical ecology: a population perspective.** Boston: Kluwer Academic Publishers, 1998. 565p.