

LARYSSA BATISTA DE ABREU LIMA

**PARASITISMO DE *Cotesia flavipes* (HYMENOPTERA:
BRACONIDAE) EM DIFERENTES IDADES LARVAIS DE *Diatraea
saccharalis* (LEPIDOPTERA: CRAMBIDAE)**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia, da Universidade Federal de Goiás, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Agronomia, área de concentração: Fitossanidade.

Orientador (a):
Paulo Marçal Fernandes

Goiânia, GO ó Brasil
2014

Sê

Se não puderes ser um pinheiro, no topo de uma colina,

Sê um arbusto no vale mas sê

O melhor arbusto à margem do regato.

Sê um ramo, se não puderes ser uma árvore.

Se não puderes ser um ramo, sê um pouco de relva

E dá alegria a algum caminho.

Se não puderes ser uma estrada,

Sê apenas uma senda,

Se não puderes ser o Sol, sê uma estrela.

Não é pelo tamanho que terás êxito ou fracasso...

Mas sê o melhor no que quer que sejas.

Pablo Neruda

Dedico este trabalho à minha mãe e minha avó por serem alicerce esteio sinônimo de garra e força.

À Deus, bendito foi o momento em que me apaixonei pela natureza e sua perfeição, sou grata por sua obra.

Dedico...

AGRADECIMENTOS

Existem muitas pessoas que preciso agradecer pois sem elas aqui eu nunca chegaria.

Agradeço á minha família pela compreensão e apoio, ao Ricardo Maximo por ser porto seguro e braço direito.

Ao meu orientador, Paulo Marçal, que foi luz no caminho e acreditou em mim quando eu duvidei, o senhor é um exemplo que levo pra vida.

Á Universidade Federal De Goiás pela oportunidade de realizar essa etapa da minha vida, e que tantas pessoas gostariam de conquistar. Agradeço também ao Wellington Motta por ser uma pessoa tão prestativa e importante para a pós-graduação, sempre pronto a esclarecer e ajudar a todos os alunos, saiba que veio de você grande parte do apoio para continuar nessa caminhada.

À Anieli Melo e á Yoná Mascarenhas por estarem sempre prontas a ajudar e oferecer uma palavra de apoio.

Á empresa Jalles Machado por ter cedido o espaço tão gentilmente para que este trabalho fosse realizado e pela sua equipe do laboratório de controle biológico, assim como as pessoas que fazem a distribuição de *Cotesias* á campo, por serem sempre prontos e prestativos, em especial á Gabrielle por ser sempre prestativa e gentil.

Agradeço aos meus amigos que me proporcionaram muito aprendizado por esse caminho, não só acadêmico,mas caminho que fez parte da trilha da minha vida.

Á todos, minha gratidão.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	10
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	12
2.1	CANA-DE-AÇÚCAR.....	12
2.2	DIATRAEA SACCHARALIS.....	14
2.2.1	O impacto da <i>Diatraea saccharalis</i> na cultura da cana-de-açúcar.....	16
2.3	<i>Cotesia flavipes</i>	17
2.4	CONTROLE BIOLÓGICO DE <i>Diatraea saccharalis</i> UTILIZANDO O PARASITÓIDE LARVAL <i>Cotesia flavipes</i>	18
2.4.1	Liberação de <i>Cotesia flavipes</i>	19
3.	MATERIAL E MÉTODOS.....	21
3.1	INOCULAÇÃO ESPONTÂNEA.....	21
3.2	INOCULAÇÃO DIRETA.....	22
3.3.	ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	22
4.	RESULTADO E DISCUSSÃO.....	23
4.1	INOCULAÇÃO ESPONTÂNEA.....	23
4.2	INOCULAÇÃO DIRETA.....	24
5.	CONCLUSÃO.....	28
6.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	30

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1.** Avaliação de parasitismo em inoculação direta de *Cotesia flavipes* em diferentes idades de *Diatraea saccharalis* 23
- Tabela 2.** Avaliação de parasitismo em inoculação espontânea de *Cotesia flavipes* em diferentes idades de *Diatraea saccharalis*..... 25

RESUMO

LIMA, L. B. A. **Parasitismo de *Cotesia flavipes* (Hymenoptera: Braconidae) em diferentes estágios larvais de *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae)**. 2014. Dissertação (Mestrado em Agronomia: Fitossanidade) ó Escola de Agronomia, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2014.

O presente trabalho foi realizado no laboratório de controle biológico da usina Jalles Machado, Goianésia-Goiás, no período de junho a setembro de 2014 com o objetivo de comparar o parasitismo por *C. flavipes* em diferentes idades de lagartas da broca da cana-de-açúcar *D. saccharalis*. As inoculações foram feitas de forma direta e espontânea. Para cada idade avaliada foram submetidas á inoculação 50 lagartas. Após o parasitismo, grupos de 5 lagartas foram mantidas em dieta de realimentação por 14 dias. Foram avaliados os seguintes parâmetros: porcentagem de massas de *C. flavipes* formadas, crisálidas e de lagartas mortas, total de cotesias emergidas e relação machos e fêmeas. *C. flavipes* promoveu parasitismo em todas as idades avaliadas. Lagartas de 4 dias foram parasitadas mas não se completou o ciclo de parasitismo, pois a mortalidade foi acima 80%. Tanto para a inoculação direta como para a inoculação espontânea, a idade que proporcionou maior número de cotesias, foi 14 dias. Para criação massal do parasitóide a lagarta ideal é a de 14 dias, mas para as liberações de *C. flavipes* a campo é recomendável que se faça em todas as idades.

Palavras-chave: Controle biológico, parasitóides, monitoramento, liberação.

¹ Orientador: Prof. Dr. Paulo Marçal Fernandes. EA/UFG.

ABSTRACT

LIMA, L. B. A Parasitism of *Cotesia flavipes* (Hymenoptera : Braconidae) at different stages of larval *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera : Crambidae).2014. Dissertation (Master in agronomy: Plant Disease) ó Escola de Agronomia, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2014.¹

This work was performed in the laboratory of biological control of plant Jalles Machado, Goianésia - Goiás, in the period June-September 2014 with the aim of comparing parasitism by *C. flavipes* at different ages of larvae of the sugarcane borer sugar *D. saccharalis*. The inoculations were made directly and spontaneously . Evaluated for each age were inoculated with 50 caterpillars. After parasitism, groups of 5 larvae were maintained on a diet for 14 days of refeeding, Percentage of masses of *C. flavipes* formed , pupae and dead larvae, and total Cotesias emerged male and female relationship: The following parameters were evaluated. *C. flavipes* parasitism promoted at all ages evaluated . Caterpillars were parasitized four days but did not complete the cycle of parasitism, mortality was above 80 % . Both for direct inoculation as for spontaneous inoculation , the age provided the highest number of Cotesias was 14 days . For mass rearing of the parasitoid ideal caterpillar is 14 days but for the releases of *C. flavipes* the field is recommended to make at all ages. .

Keywords: Biological control, parasitoid, monitoring, release

¹Adviser: Prof. Dr. Paulo Marçal Fernandes. EA/UFG.

1 INTRODUÇÃO

100 Brasil é o principal produtor mundial do complexo sucroalcooleiro com a maior competitividade no custo de produção do açúcar e álcool (Carvalho; Oliveira, 2006). A área de cana-de-açúcar destinada à produção na safra 2014/15 apresentou um crescimento de 3,6% ou 318,67 mil hectares em relação à safra passada. Esse aumento está concentrado nos estados que tiveram o maior aumento de novas unidades e corresponde à consolidação das áreas destas novas indústrias: São Paulo, Mato Grosso do Sul, Goiás, Minas Gerais e Paraná, sendo Goiás o segundo maior produtor. (CONAB, 2014)

A produção de cana-de-açúcar é prejudicada por muitas espécies de insetos que a utilizam como alimento (Gallo et al., 2002). Dentre eles, a broca-da-cana-de-açúcar, *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794) (Lepidoptera: Crambidae), é considerada a praga mais importante na indústria açucareira, com estudos sendo realizados em diversas partes do mundo para o controle desse lepidóptero (Lima Filho; Riscado; Barbosa, 1979)

O uso de inseticidas químicos convencionais é pouco eficiente para o controle da broca, uma vez que as lagartas permanecem dentro do colmo durante a maior parte do seu desenvolvimento (Meneses; Hidalgo, 2000). Além disso, há uma tendência crescente em se diminuir o uso de produtos químicos na agricultura (Botelho; Macedo, 2002). *D. saccharalis* pode ser combatida com parasitoides, predadores e entomopatógenos (Alves; Lopes, 2008).

Um dos casos de controle biológico mais conhecido no Brasil é o do controle da broca da cana-de-açúcar *D. saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae) por *Cotesia flavipes* (Hymenoptera: Braconidae). Como medida de controle cultural, o controle biológico com o parasitóide é uma alternativa não convencional de manejo dessa praga que contribuiu significativamente para a diminuição do impacto da broca sobre a cana. Isto significou uma economia de 88,4 milhões, pois deixaram de ser aplicados mais de 700.000 litros de inseticidas para o controle da broca-da-cana. O uso dos agentes de controle biológico corresponde de cerca de 1% do mercado mundial de inseticidas (Polanczyk et al., 2004).

A recomendação atual para a liberação de *C. flavipes* para o controle da broca-da-cana, *D. saccharalis*, em cana-de-açúcar é de 6.000 parasitoides adultos por

hectare, quando for atingido o nível de 3% de índice de intensidade de infestação ou 1.000 lagartas/ha. Em infestações de até 10.000 lagartas por hectare, recomenda-se a liberação de duas vespinhas para cada lagarta (proporção de 2:1), entre 10.000 e 15.000, uma proporção de 3:1, entre 15.000 e 20.000, de 4:1, e acima de 20.000 lagartas não deve ser usado o controle biológico que será economicamente inviável (Pinto; Cano; Santos, 2006).

Para que o controle biológico tenha sucesso, é necessário que haja conhecimento sobre os organismos envolvidos (parasitóide e hospedeiro), o momento certo de controle da praga e sua correta aplicação. Existem poucos estudos relativos ao controle de *D. saccharalis* nos estágios iniciais do seu desenvolvimento, quando a lagarta ainda se encontra fora do colmo e seu dano é ainda irrelevante.

O presente trabalho foi realizado com o objetivo de comparar o parasitismo por *C. flavipes* em diferentes idades, e com duas formas de inoculação, de lagartas da broca da cana-de-açúcar *D. saccharalis*.

2 REVISÃO DE BIBLIOGRÁFICA

2.1 CANA-DE-AÇÚCAR

Introduzida no período colonial, a cana-de-açúcar se transformou em uma das principais culturas da economia brasileira. O Brasil não é apenas o maior produtor de cana. É também o primeiro do mundo na produção de açúcar e etanol e conquista, cada vez mais, o mercado externo com o uso do biocombustível como alternativa energética. É responsável por mais da metade do açúcar comercializado no mundo. O etanol, produzido no Brasil, a partir da cana-de-açúcar, também conta com projeções positivas para os próximos anos, devidas principalmente, ao crescimento do consumo interno. A produção projetada para 2019 é de 58,8 bilhões de litros. O consumo interno está projetado em 50 bilhões de litros e as exportações em 8,8 bilhões (MAPA, 2014).

São 401 usinas cadastradas no Ministério da Agricultura, sendo 294 unidades mistas (açúcar e etanol), 10 produtoras de açúcar, 95 produtoras de etanol e 2 sem lançamento. O estado de São Paulo possui o maior número de Usinas 172 no total, seguido de Minas Gerais com 41, Goiás com 34, MG 41 GO 34 e Paraná com 30. Na região Nordeste ficam em destaque Alagoas com 24 e Pernambuco com 20 usinas.

O setor sucroalcooleiro nacional é referência para os demais países produtores. A cana-de-açúcar é produzida em quase todo o País, sendo 60% em São Paulo. As demais zonas produtoras são Paraná, Triângulo Mineiro e Zona da Mata Nordeste. Líder mundial na produção de etanol da cana-de-açúcar, o País domina o ciclo completo da produção de etanol, desde a lavoura de alta produtividade até a instalação dos equipamentos para as destilarias que estão gerando esse biocombustível, a partir da fermentação do caldo extraído da cana-de-açúcar (MAPA, 2014).

A área cultivada com cana-de-açúcar que será colhida e destinada à atividade sucroalcooleira na safra 2014/15 será de aproximadamente 9.098,03 mil hectares, distribuídas em todos estados produtores. São Paulo permanece como o maior produtor com 51,43% (4.678,8 mil hectares) da área plantada, seguido por Goiás com 9,85% (896,06 mil hectares), Minas Gerais com 8,8% (800,91 mil hectares), Mato Grosso do Sul

com 7,63% (693,77 mil hectares), Paraná com 7,07% (642,98 mil hectares), Alagoas com 4,41% (401,34 mil hectares) e Pernambuco com 2,89% (263,03 mil hectares). Estes sete estados são responsáveis por 92,07% da produção nacional. Os demais estados produtores possuem áreas menores, com representações abaixo de 3%.

A produtividade obtida na atual temporada da safra 2014/15 apresentou uma queda em relação à safra passada, com um decréscimo de 3,1% na média geral, passando de 74.769 kg/ha para 72.444 kg/ha. (CONAB, 2014).

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).

A cultura enfrenta uma série de problemas fitossanitários, principalmente com a incidência de insetos-praga, como a *D. saccharalis*, considerada praga-chave da cultura (Boiça Júnior et al., 1997).

É a principal praga da cana-de-açúcar, sendo provavelmente originária da América Central e do Sul (Gallo et al, 2002) É um inseto de desenvolvimento holometabólico, isto é, passa pelas fases de ovo, larva, pupa e adulto (Dinardo-Miranda, 2008). Na fase larval, pode causar danos diretos e indiretos. Os danos diretos decorrem da alimentação do inseto e os danos indiretos são causados por microrganismos que invadem o entrenó através do orifício aberto na casca pela lagarta (Botelho & Macedo, 2002).

Uma vez no interior do colmo, o controle das larvas torna-se muito difícil, sendo que, devido a tal dificuldade, passou-se a dar maior ênfase a trabalhos que busquem obter medidas alternativas, dentre elas a resistência de plantas, podendo ela ser constitutiva ou induzida (Lara, 1991). O uso de inseticidas químicos convencionais é pouco eficiente para o controle da broca, uma vez que as lagartas permanecem dentro do colmo durante a maior parte do seu desenvolvimento (Meneses & Hidalgo, 2000). As lagartas de *Diatraea saccharalis* (Fabricius), presente em todo o continente Americano, provocam danos diretos e indiretos. Os danos diretos decorrem da alimentação do inseto e caracterizam-se por: perda de peso, devido à abertura de galerias, morte da gema apical, encurtamento de entrenó, quebra da cana, enraizamento aéreo e germinações das gemas laterais, reduzindo

assim, a produção de cana e conseqüentemente, de seus produtos (Mendonça 1996, Gallo et al. 2002, Botelho & Macedo 2002).

2.2 *Diatraea saccharalis*

Existem cerca de 21 espécies do gênero *Diatraea* ocorrendo em cana-de-açúcar no continente americano, no entanto apenas duas espécies são importantes como inseto praga, causando danos à cultura: *D. saccharalis* e *D. flavipennella* (Box, 1931) (Lepidoptera: Crambidae) (Mendonça, 1996).

A *D. saccharalis* é a mais encontrada no hemisfério ocidental (Long & Hensley, 1972). É a que apresenta mais ampla distribuição geográfica (entre 30° de latitude Norte e 30° de latitude Sul), constata desde a região sul dos EUA, nas Antilhas e em todos os países da América do Central e do Sul (Box, 1952; Guevara, 1976). Ela é polífaga atacando outras culturas. Segundo Elias (1970) essa praga pode atacar 65 espécies vegetais, sendo 30 espécies de pastagens de importância econômica, além de grandes culturas como cana-de-açúcar, milho, milheto, sorgo sacarino, trigo, sorgo granífero e arroz.

D. saccharalis é um inseto de desenvolvimento holometábolo, passa pelos quatro estágios biológicos; ovo, larva, pupa e adulto (Teran, 1987). A oviposição se dá tanto na bainha, como nas duas faces da folha e ocasionalmente nos colmos (Teran, 1987; Gallo et al., 2002; Benedini, 2006). São colocados em grupos ou massas (posturas), de forma imbricadas, assemelhando-se a um segmento de couro de cobra ou escamas de peixe (Lima Filho & Lima, 2001); No início, são de coloração amarelo-pálida, passando a rósea até chegar a marrom-escura, quando são visíveis as cápsulas cefálicas das lagartas no interior do ovo. A duração dessa fase é bastante variável, em função, principalmente, da temperatura, sendo nas condições brasileiras, de uma a duas semanas (Gallo et al., 2002; Botelho & Macedo, 2002).

A fêmea atrai o macho para a cópula pela liberação do feromônio sexual, emitido logo após a emergência, sendo mais atrativas durante os três primeiros dias da fase adulta, decrescendo posteriormente com a idade e interrompendo a atração dos machos logo após serem copuladas (Perez & Long, 1964). A postura é feita em massas com cinco a 50 ovos (Gallo et al. (2002).

A eclosão das larvas ocorre entre quatro a nove dias, dependendo da temperatura. Após a eclosão, a lagarta dirige-se para a região do cartucho da planta à

procura de abrigo e alimenta-se através da raspagem da folha ou da casca do entrenó em formação, permanecendo neste local por uma ou duas semanas, sofrendo uma ou duas ecdises quando inicia a perfuração do colmo. O orifício de entrada da broca geralmente localiza-se próximo à base do entrenó, porção mais mole, perfurando a galeria no sentido ascendente na região do palmito da planta (Botelho & Macedo, 2002).

As lagartas apresentam coloração amarelo-pálida e cápsula cefálica marrom-escura e pequenas manchas de cor marrom-clara, distribuídas ao longo de todo o corpo. Possui três pares de pernas torácicas, quatro pares de falsas pernas abdominais e um par de falsas pernas anais. Ao atingirem o completo desenvolvimento, em média aos 40 dias, medem cerca de 22 a 25 mm de comprimento. Antes de iniciar a fase de pupa, as lagartas abrem um orifício para o exterior do colmo da cana, fechando-os com fios de seda e serragem. As pupas, inicialmente, são de coloração marrom clara, posteriormente adquirem uma coloração mais escura, medem cerca de 1,5 cm de comprimento e 0,4 cm de largura; este estágio dura de 9 a 14 dias. Embora ocorra com maior frequência no interior das galerias, as crisálidas (pupas) podem formar-se, também, entre as bainhas das folhas e o colmo. O adulto emerge pelo orifício anteriormente feito pela lagarta. (Gallo et al., 2002).

O adulto é uma mariposa de coloração amarelo-palha com manchas escuras nas asas anteriores, lembrando dois ∞ s invertidos quando fechadas. As asas posteriores são brancas. Há diferenças entre sexos, sendo a fêmea maior, apresentando abdome volumoso, com asas de coloração menos pigmentada do que as do macho. Este apresenta como característica principal a presença de uma concentração de cerdas no último par de pernas, ausentes nas fêmeas; os adultos vivem sete dias, em média (Botelho & Macedo, 2002).

O ciclo biológico completo desse inseto é de 53 a 60 dias (Gallo et al., 2002). A variação do ciclo é devido às influências climáticas e fonte de alimentação dentre outros. Guevara (1976) estudou a biologia da *D. Saccharalis* em condições naturais e a duração para cada fase foi: para ovo, 9 dias; larva 57 a 79 dias; pupa 7 a 14 dias, com o ciclo total de 73 a 102 dias desde a postura até a emergência dos adultos. Do total de 373 ovos, obtiveram-se 13 adultos, com uma viabilidade de 3, 48%. Botelho (1985), encontrou duração do estágio larval variando de 50 a 90 dias; o período pupal de 10 a 11 dias e a longevidade de adultos de três a sete dias. O conhecimento dos hábitos e da biologia dos insetos permite ao homem um melhor manejo e controle da população de determinado inseto.

O ataque da *D. Saccharalis* é bastante variável, em função da variedade, da época do ano, do ciclo da cultura, idade da planta, nutrição da planta, composição da vegetação próxima à cultura alvo, entre outros fatores (Teran, 1979; Macedo & Botelho, 1988).

2.2.1 Impacto da *D. saccharalis* na cultura da Cana-de-açúcar

A cana-de-açúcar sofre o ataque da broca em todas as fases fenológicas. A incidência de *D. saccharalis* pode ser extremamente destrutiva a cana-de-açúcar, chegando a inviabilizar a atividade, dependendo da intensidade de ataque (Macedo, 2004).

Os danos causados na cultura pela broca-da-cana são classificados em diretos e indiretos. Os danos diretos decorrem da alimentação do inseto nos tecidos da planta e caracteriza-se pela perda de peso devido à abertura de galerias, encurtamento do entrenó, falhas na germinação, morte da gema apical (õcoração mortoö), tombamento dos colmos, enraizamento aéreo e germinação das gemas laterais. Esses danos ocorrem isoladamente ou associados, o que pode agravar os prejuízos.

Quanto aos danos indiretos, os prejuízos estão relacionados com a entrada de microrganismos oportunistas, predominantemente os fungos *Fusarium moniliforme* e *Colletotrichum falcatum*, que invadem o entrenó pelo orifício pela lagarta. Esses fungos promovem a inversão da sacarose e diminuição da pureza do caldo, acarretando um menor rendimento de açúcar e contaminação da fermentação alcoólica. Além de 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 (Botelho, 1992;) Os danos indiretos promovem as maiores perdas na produção brasileira (Graça, 1976; Macedo & Botelho, 1988; Gallo et al., 2002; Pinto et al., 2006).

Diversos autores relataram que para cada 1% de intensidade de infestação da praga ocorrem prejuízos de 0,25% na produção de açúcar, 0,20% de álcool e 0,77% de peso (Gallo et al., 2002).

2.3 *Cotesia flavipes*

A vespa *C. flavipes* pertence à ordem Hymenoptera e família Braconidae. É um parasitóide micro himenóptero, haplodiplóide, onde os machos são produzidos por partenogênese arrenótica, ou seja, de ovos não fertilizados, enquanto que as fêmeas originam-se de ovos fertilizados (Moutia & Courtois, 1952; Vetorelli et al., 1999). Endoparasita gregário com desenvolvimento holometabólico, com ciclo de vida de aproximadamente 20 dias, dependendo da temperatura e idade do hospedeiro (Pádua & Parra, 1994; Campos-Farinha, 1996). Por ser um parasitóide, só completar seu ciclo de vida se estiver associado a seu hospedeiro (Pinto et al., 2006).

As larvas de *D. saccharalis* são parasitadas, naturalmente, por *C. flavipes* com emergência de larvas e formação dos casulos. *C. flavipes*, após introduzir o ovipositor no hospedeiro, deposita de 60 a 65 ovos o que foi confirmado ao se dissecar larvas de *D. saccharalis* recém parasitadas por este micro himenóptero (Macedo, 2000). São arredondados na porção cefálica, largos medialmente e afilados na parte posterior medindo cerca de 0,09 mm de comprimento, logo depois de serem depositados (Brewer & King, 1981).

A deposição dos ovos se dá na hemocele 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, medindo no final desse estágio aproximadamente 3 mm de comprimento (Parra, 2000). A larva de terceiro ínstar apresenta coloração branco-leitosa brilhante, com segmentação facilmente observada, corpo afilado nas extremidades, emergindo do hospedeiro um a dois dias depois de estar nesse estágio, perfurando o tegumento da lagarta e matam-na exaurida (Pinto et al., 2006; Macedo & Araujo, 2000).

As larvas empupam bem próximas à lagarta de *D. saccharalis* (Pinto et al., 2006). A pupa é protegida por um casulo construído pela larva com fios de seda, sendo que os indivíduos provenientes de um mesmo hospedeiro geralmente se dispõem agrupadamente, formando uma massa de coloração branca. Os insetos permanecem nessa fase por período variável, dependendo da temperatura, em média cinco dias (Wiendenmann et al., 1992).

Os adultos são pretos e tem de 2 a 3 mm (Pinto et al., 2006). É de coloração preta com asas hialinas e apresenta dimorfismo sexual; a fêmea possui antenas menores quando comparadas às dos machos. A sobrevivência média do adulto em laboratório é de

cerca de 24 horas a uma temperatura de $24 \pm 2^\circ\text{C}$ (Wiendenmann et al., 1992). A faixa favorável para o desenvolvimento de *C. flavipes* situa-se entre 20 e 30°C (Pádua et al., 1994), sendo tolerante a baixas umidades (Mohyuddin, 1971).

No campo, a emergência de *C. flavipes* concentrou-se entre seis e sete horas da manhã; após a emergência os adultos permanecem andando sobre a superfície inferior da folha de cana-de-açúcar, a cerca de 50 cm da massa de pupas, sendo a primeira cópula observada 10 minutos depois do início da emergência e todas as fêmeas copularam em um período de 40 minutos (Arakaki & Ganaha, 1986).

2.4 CONTROLE DE *Diatraea saccharalis* COM *Cotesia flavipes*

O controle biológico pode ser definido como a ação de determinados organismos conhecidos como parasitóides, predadores e patógenos na manutenção da densidade de outros organismos numa média bem abaixo daquela que ocorreria na ausência destes (DeBach, 1964). É um processo natural de regulação populacional de insetos através de inimigos naturais, os quais se constituem nos agentes de mortalidade biótica. A utilização desses inimigos naturais propiciou o surgimento do controle biológico aplicado, que se trata de liberações inundativas de parasitóides ou predadores após a sua produção massal em laboratório, com objetivo de reduzir, rapidamente, a população da praga para seu nível de equilíbrio (Parra et al, 2002).

Há uma grande quantidade de entomopatogênicos, predadores e parasitoides de ovos e larvas que ocorrem naturalmente, alimentando-se da *D. saccharalis* (Mendonça, 1996). Patógenos como os *Bacillus thuringiensis kurstaki*, *Bacillus thuringiensis thuringiensis*, *Beauveria bassiana* e o *Fusarium oxysporum*; Parasitóides, tais como, *Alabagrus stigma*, *Cotesia chilonis*, *Cotesia diatraeae*, *Cotesia Flavipes*, *Cotesia sesamiae*, *Lixophaga diatraeae*, *Trichogramma atopovirilia*, *Trichogramma brasiliense* e o *Trichogramma chilonis*; Predadores como o *Doru lineare*, o *Phorastes femoratus*, o *Polybia sericea* e o *Tytthus mundulus* (Cab International, 2005).

O controle biológico de *D. saccharalis*, por meio de parasitoides, é bastante utilizado 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 (Teran & Novaretti, 1980; Parra, 2000). A eficiência e rentabilidade desse controle 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).

O termo parasitoide se aplica a espécies Hymenoptera e Díptera, que em sua fase larval se alimentam dos tecidos de hospedeiros vivos, normalmente os ovos, larvas e pupas de outros insetos, levando estes inevitavelmente a morte, normalmente quando a larva do parasitoide já tenha empupado (Ricklefs, 2003). Os adultos dos parasitoides são de vida livre e sua ação assemelha-se a de um predador (Doutt, 1959).

O parasitoide larval *Cotesia flavipes* (Cameron, 1891) (Hymenoptera: Braconidae) é o mais utilizado para o manejo da broca-da-cana, por ser mais eficiente na diminuição da população da *D. saccharalis* (Macedo, 2000).

No Brasil, as primeiras tentativas de introdução de *C. flavipes* foram realizadas pela Esalq/USP e COPERSUCAR, em 1971 importando-as de Trinidad e Tobago. 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). A utilização desta vespa foi aumentando gradativamente e os índices de parasitismo passaram de 0,14% em 1979 para 30 a 40% no fim da década de 90. O sucesso na utilização da *C. flavipes* foi devido às facilidades da produção massal em laboratórios de criação e a sua capacidade de localização da praga (Botelho & Macedo, 2002).

A vespinha *C. flavipes* foi introduzida pela primeira vez no Estado de São Paulo, em 1971, sem sucesso (Pinto, 2006), e somente em 1978, houve o aperfeiçoamento na tecnologia, o que tornou sua produção em laboratório mais simples.

O bom desempenho do agente de controle biológico, no campo, depende de variáveis ambientais, climáticas e da qualidade do próprio agente, entendida como a sua capacidade de localizar e parasitar o hospedeiro. No caso da *C. flavipes*, a qualidade depende de uma série de cuidados durante o processo de produção, desde a obtenção do hospedeiro até o acondicionamento do agente para o campo e sua liberação (Macedo, 2002).

2.4,1 Liberação de *C. flavipes* a campo

Conforme Pinto (2006), o monitoramento da população da praga, realizado por meio de levantamentos da quantidade de lagartas, serve para definir o momento certo para

a adoção de uma medida de controle. Esse monitoramento é efetuado durante a fase vegetativa da cultura, até sua maturação. A estimativa de danos é realizada no momento da colheita, na frente de corte, ou na chegada da cana na usina, servindo para identificar as áreas-problema que deverão ser monitoradas na safra seguinte. (LVA et al. 2010).

A amostragem para a liberação de cotesias é realizada caminhando-se nas entrelinhas da cultura de maneira aleatória, abrindo-se o colmo da cana longitudinalmente a 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). A temperatura exerce forte influência em sua capacidade de procura e sobrevivência, devendo-se evitar as liberações nas horas mais quentes do dia.

Em determinadas regiões ou épocas do ano a liberação, quando efetuada no final da tarde, propicia melhor condição para a sobrevivência do que a realização no início da manhã (Botelho & Macedo, 2002). Os parasitoides são levados ao campo para a liberação quando no mínimo 80% tiverem emergidos no laboratório. No caminho, não podem sofrer variações bruscas de temperatura, nem estresses como agitação física. É indicado que os parasitoides sejam armazenados de forma que ofereça boas condições de ambiente para que o mesmo mantenha sua capacidade de vôo para um melhor índice de parasitismo. Para isso, devem ser efetuadas em uma hora que a temperatura do canavial se assemelha á temperatura do laboratório, ou seja, na parte da manhã ou no fim da tarde.

As fêmeas de *C. flavipes* utilizam estímulos olfativos para localizar plantas infestadas por hospedeiros. Em experimento com olfatômetro de tubo Y, Potting *et al.* (1995) demonstraram que a maior fonte de voláteis do complexo planta-hospedeiro é o colmo injuriado pela lagarta, incluindo-se também as fezes produzidas. Esses autores observaram que a produção de substâncias voláteis atrativas para os parasitoides não se restringe apenas à parte infestada, mas também pode ocorrer sistematicamente em toda a planta.

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 voo da vespa, que cobre mais de 25 metros (Botelho et al., 1980). O comportamento de localização do hospedeiro é mediado por uma substância hidrossolúvel presente nas fezes da lagarta de *D. saccharalis*, e o contato com estas induz a procura, caracterizada pela redução da locomoção e tratamento das fezes com as antenas (Van Leerdam *et al.*, 1986).

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).

3 MATERIAL E MÉTODOS

Os ensaios foram realizados no laboratório biológico da Usina Jalles Machado, localizado em Goianésia no Estado de Goiás, Brasil. O laboratório tem como objetivo a produção massal de *C. flavipes* para o controle de *D. Saccharalis* nos canaviais das Usinas do grupo Jalles Machado. Seu uso é feito de forma intensiva principalmente na cana-de-açúcar orgânica, quando há a presença da praga na área.

A fase de montagem e observação ocorreu entre os meses de junho a setembro de 2014. Foram comparadas duas formas de inoculação: espontânea e direta, utilizando lagartas criadas em dieta artificial. A dieta utilizada pelo laboratório é a de Hensley e Hammond (1968), modificada para a criação das lagartas e descritas em Cano et al, 2006. Duas dietas são utilizadas: a de criação, adotada no início da alimentação da lagarta até a seleção para inoculação ou obtenção de pupas e a dieta de realimentação, que é utilizada para as lagartas inoculadas ou para as que continuam o ciclo para se transformarem em pupa (Macedo, 2002).

3.1 INOCULAÇÃO ESPONTÂNEA

Foram utilizadas lagartas de 4, 6, 8, 10, 14 dias de idade. Uma lagarta de cada idade foi exposta, individualmente em placas de petri, a cinco cotésias fêmeas, de 24 horas de idade, para a observação de parasitismo. Após inoculação, a lagarta foi transferida para a dieta de realimentação. Foram colocadas 5 lagartas da mesma idade em cada placa, com 10 repetições. As placas foram armazenadas em temperatura e umidade ambiente (25°C, 30-70% de umidade relativa).

Após 14 dias foram feitas avaliações visuais e as lagartas que formaram massas (clusters) de *C. flavipes* foram colocadas em um copo de plástico, separadas por idade e com tampa perfurada para aeração. Lagartas mortas e lagartas que formaram crisálidas foram descartadas. Após 5 dias os adultos começaram a emergir das massas, 3 dias após emergência, foi feita a contagem de machos e fêmeas contidos em cada copo.

3.2 INOCULAÇÃO DIRETA

Foram utilizadas lagartas de 4, 6, 8, 10, 14 dias. Uma lagarta de cada idade foi exposta a uma *C. flavipes* fêmea de 24 horas de idade. A inoculação direta consistiu em segurar cada lagarta, entre o polegar e o indicador, e expô-la às cotesias até que uma fêmea introduzisse o ovipositor na mesma. Após a inoculação, as lagartas foram transferidas para placas de petri contendo realimentação. Tais placas continham 5 lagartas parasitadas, com 10 repetições por idade.

As placas foram transferidas para um ambiente com temperatura média de $25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}$, a uma umidade de 30% a 70%. Após 14 dias foram feitas avaliações visuais e as lagartas que formaram massas (clusters) de *C. flavipes* foram colocadas em um copo de plástico, separadas por idade e com tampa perfurada para aeração. Lagartas mortas e lagartas que formaram crisálidas foram descartadas. Após 5 dias os adultos começaram a emergir das massas, 3 dias após a emergência, foi feita a contagem de machos e fêmeas.

3,3 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Todos os dados obtidos foram submetidos à análise de variância (ANOVA). Quando o Teste F da ANOVA indicou significância de 5% de probabilidade de erro. Os dados foram avaliados no programa SAS.

4.RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 INOCULAÇÃO DIRETA

Os principais resultados relativos ao parasitismo em inoculação direta para as diferentes idades de *D.saccharalis* são apresentados na tabela 1. Observa-se que *C.flavipes* foi capaz de parasitar todas as idades avaliadas (4, 6, 8,10 e 14 dias) sendo que a mortalidade de lagartas de 4 e 6 dias diferiu estatisticamente das outras idades estudadas, sendo superior a 65%. Uma das explicações para esta alta mortalidade pode ser o estresse e a perda de água provocadas pelas perfurações das cotesias no ato de inoculação de ovos. Quanto menor o inseto maior a tendência de perda de água.

Tabela 1. Parasitismo de *C. flavipes* em diferentes idades de *D. saccharalis* com inoculação direta.

Idade das lagartas	Quantidade de Lagartas avaliadas	% Lagartas Mortas	% Crisalidas	% Massa Formada	Número médio de Machos/5 massas	Número médio de fêmeas/5 massas	Relação Macho/Fêmea
4	47	82.00 ± 4.67a	0.00 ± 0.00b	18.00 ± 4.67c	21.30 ± 8.44c	45.70 ± 14.90c	0.32 ± 0.09b
6	36	65.00 ± 5.43a	0.00 ± 0.00b	35.00 ± 5.43c	63.20 ± 10.43bc	125.40 ± 19.19b	0.46 ± 0.07ab
8	45	10.50 ± 3.53b	0.00 ± 0.00b	89.50 ± 3.53ab	82.30 ± 7.46b	150.20 ± 11.07b	0.55 ± 0.04ab
10	32	8.33 ± 8.33b	20.83 ± 10.92a	70.83 ± 14.23b	65.00 ± 12.34bc	101.67 ± 20.64bc	0.67 ± 0.07a
14	48	0.00 ± 0.00b	2.00 ± 2.00b	98.00 ± 2.00a	171.40 ± 24.09a	249.30 ± 23.28a	0.68 ± 0.08a
F		70,3	5,69	40,11	16,04	17,94	4,49
Valor de P > F		<0,0001	0,001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	0,0042

Alem disso, durante a oviposição, os ovos não são os únicos elementos introduzidos dentro do hospedeiro. Antes de serem inoculados passam pelo cálix, o qual contém um líquido que contém polydnavirus (PDV), viróides (Vinson y Scott 1979, Vinson 1993) e proteínas secretadas do ovário (Stoltz et al. 1984, Buron y Beckage 1992). Este líquido e seu conteúdo são colocados dentro do hospedeiro no momento da ovipostura e são descritos como os responsáveis pela supressão da resposta imune do hospedeiro. (Davies et al. 1987, Vinson et al. 1979, Fleming 1991). Provavelmente esta supressão de resposta imune foi mais intensa nas lagartas de menor idade.

Lagartas de 4 e 6 dias possibilitaram o completo desenvolvimento de *C. flavipes* com produção de 18 e 35%, de massas, respectivamente. O total de indivíduos produzidos por lagarta foi significativamente menor do que em lagartas de maiores idades. Parasitóides podem adequar os hospedeiros às necessidades do seu desenvolvimento manipulando a fisiologia do mesmo. *C. flavipes* é um parasitóide cenobionte, suas larvas se desenvolvem dentro do hospedeiro que permanecerá vivo e continuará a crescer até chegar ao seu estado nutricional ideal ao do momento do parasitismo (Pennachio; Iwantsch, 1980).

Lagartas de 14 dias apresentaram maior porcentagem de massa formada e maior número de indivíduos machos e fêmeas produzidos, diferindo significativamente dos demais tratamentos. Foram produzidos, em média, 450 cotesias em cinco massas, ou seja, 80 indivíduos/massa. Desta forma, para a produção massal de *C. flavipes*, a melhor idade das lagartas para inoculação foi de 14 dias, idade já normalmente utilizada pelos laboratórios. Este fato se deve ao tamanho do hospedeiro e a disponibilidade de nutrientes para o desenvolvimento do parasitóide. Como as larvas já se encontram bem desenvolvidas a interação patógeno-hospedeiro se dá de maneira mais efetiva, apresentando sinais claros de parasitismo, como a interrupção da alimentação, da muda e do processo de metamorfose (Lawrence, 1986).

Em todas as idades avaliadas, a média de fêmeas foi relativamente maior que a média de machos emergidos. Segundo Kawaguchi e Tanaka (1999), vespas holometabólicas não regulam a razão sexual de sua progênie de acordo com o estágio ou o tamanho do hospedeiro e sim, de acordo com a idade dos parasitoides, que quanto mais velhos, mais a razão sexual fica desviada para fêmeas, diminuindo gradualmente com o tempo de vida restante.

4.2 6 INOCULAÇÃO ESPONTÂNEA

Os principais resultados relativos ao parasitismo em inoculação espontânea para as diferentes idades de *D. saccharalis* são apresentados na tabela 2. Assim como ocorreu para a inoculação direta, na inoculação espontânea *C. flavipes* foi capaz de parasitar lagartas com idade entre 6 e 14 dias. Lagartas de 4 dias apresentaram 100% de mortalidade e isto impossibilitou concluir se houve ou não o parasitismo. As cotesias introduziram o ovipositor tal qual se observa neste tipo de inoculação, mas não foi possível confirmar o desenvol-

vimento larval. As hipóteses discutidas na inoculação direta podem explicar o que ocorreu neste experimento, com o aumento da mortalidade para 100%. Como neste caso mais de uma cotesia pode ter inoculado cada lagarta, fica reforçada a possibilidade da ação de substâncias associadas ao processo e um maior estresse com maior número de picadas e perda de água.

Tabela 2. Parasitismo de *C. flavipes* em diferentes idades de *D. saccharalis* com inoculação espontânea.

Idade das lagartas (dias)	Quantidade de Lagartas avaliadas	% Lagartas Mortas	% Crisalidas	% Massa Formada	Número médio de machos/5 massas	Número médio de fêmeas/5 massas	Relação Macho/Fêmea
4	47	100,00±0,00a	-	-	-	-	-
6	36	60,33± 6,75b	0,00±0,00b	39,67± 6,75b	60,60± 11,00c	117,50± 16,94c	0,46± 0,07
8	45	56,17± 7,01b	0,00±0,00b	46,33± 7,67b	70,90± 12,83bc	145,70± 20,45bc	0,43± 0,07
10	32	8,33± 4,30c	0,00±0,00b	91,67± 4,30a	112,50± 12,24ab	201,50± 17,14ab	0,56± 0,04
14	48	23,00± 7,31c	23,50± 5,17a	53,50± 5,68b	135,00± 14,51a	247,30± 23,03a	0,55± 0,03
De 14 F		38,32	20,69	13,97	7,57	8,77	1,46 ^{ns}
Valor de P > F		<0,0001	<0,0001	<0,0001	0,0005	0,0002	0,2911

Lagartas de 6 e 8 apresentaram mais de 56% de mortalidade, não diferindo entre si, mas sendo significativamente diferente para as outras idades avaliadas. A porcentagem de massas formadas foi significativamente maior na idade de 10 dias em relação às demais, inclusive para 14 dias. Entretanto o número de machos e fêmeas produzidos por cinco massas não diferiu entre as duas idades. Isto pode ser explicado pela alta porcentagem de crisálidas (23,50%) em lagartas de 14 dias. Neste caso pode ter havido falhas durante a inoculação. Além disso, esse fato é reforçado pela maior mortalidade de lagartas de 14 dias (23%).

Segundo Heimpel e Rosenheim (1998), os parasitóides podem reduzir a taxa de oviposição devido ao tamanho e qualidade do hospedeiro. Esse fato fica evidente na quantidade de indivíduos emergidos das massas provenientes de lagartas maiores, ou seja, com mais dias de vida. A idade da fêmea e a qualidade do hospedeiro (espécie e tamanho) são fatores importantes que definem os recursos reprodutivos disponíveis uma vez que contribuem para a maturação dos ovos dos parasitóides (Ramadan, 2004).

Na inoculação espontânea, as lagartas de todas as idades avaliadas se defenderam ao ataque do parasitóide, se esquivando, girando o corpo e até mesmo com a liberação de saliva rica em enzimas e aminoácidos que auxiliam no processo de digestão

do alimento (Fewkes, 1969). Essa saliva é usada também para atacar o endoparasitóide. As lagartas, em todas as idades, atacam a *C. flavipes*, liberando a saliva e imobilizando as asas da vespa impossibilitando a inoculação. Este sistema de defesa impede o desenvolvimento do parasitóide, depende da idade da lagarta e seu estado nutricional, pois é uma defesa externa, a lagarta regurgita o líquido que imobiliza o parasitóide (Scaglia et al. 2005, Lva et al. 2010)

Lagartas de 14 dias são maiores e mais agressivas ao se defenderem, tornando a inoculação mais difícil. Não estando inoculadas, completam seu ciclo formando crisálidas.

Para a produção massal em laboratório, a idade com maior rendimento de *C. flavipes* foi a lagarta de 14 dias, com uma média de 247 fêmeas. Lagartas dessa idade apresentam estrutura corporal bem desenvolvida, grande quantidade de gordura e água nos tecidos internos. De acordo modelo proposto, o tamanho relativo do hospedeiro seria o fator mais importante na determinação da quantidade da progênie depositada em um hospedeiro. As vespas fêmeas adaptam a distribuição da prole no hospedeiro ao tamanho deste e ajustam a razão sexual para maximizar a aptidão de suas crias (Charnov, 1979)..

Ueno (1998) verificou que a média do tamanho da prole de fêmeas oriunda de hospedeiros maiores foi maior, bem como as larvas de machos foram menos eficientes no consumo interno de grandes hospedeiros do que as larvas de fêmeas, este comportamento explica a maior quantidade de parasitóides fêmeas na prole. Na relação macho/fêmea não houve diferença estatística entre as idades estudadas.

Os resultados obtidos neste trabalho, principalmente com inoculação espontânea, permitem inferir que *C. Flavipes* pode parasitar lagartas de primeiros estágios de desenvolvimento no campo. Desta forma, as liberações poderiam ser feitas assim que fossem encontradas infestações com lagartas de qualquer estágio. Se as cotesias parasitarem lagartas de estágios iniciais e provocarem a morte das mesmas, o resultado de controle será mais eficaz, uma vez que impedirá a penetração da lagarta no colmo e os consequentes danos. Entretanto, mais estudos são necessários para comprovação desta possibilidade. Sendo assim, é necessário que se realize uma avaliação a campo para a observação de parasitismo em lagartas pequenas (1° e 2° instares).

5. CONCLUSÃO

- Tanto para a inoculação direta como para a inoculação espontânea, a idade que proporcionou maior número de *Cotesias* foi 14 dias, sendo a idade ideal para produção massal.

- *C. flavipes* foi capaz de parasitar todas as idades avaliadas.

- Lagartas de menor idade apresentaram alta mortalidade após o parasitismo.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABT, M.; RIVERS, D. B. **Characterization of phenoloxidase activity in venom from the ectoparasitoid *Nasonia vitripennis* (Walker) (Hymenoptera: Pteromalidae)**. Journal of Invertebrate Pathology, San Diego, v.94, n.2, p. 108-118, 2007.

ALVES, S. B.; LOPES, R. B. **Controle microbiano de pragas na América Latina: avanços e desafios**. Piracicaba: Fealq/Fapesp, 2008. 414p.

ARAKAKI, N.; GANAHA, Y. **Emergence patten and mating behavior of *Apanteles flavipes* (Cameron) (Hymenoptera: Braconidae)**. Applied Entomology and Zoology, Tokyo, v. 21, n. 3, p. 382-388, 1986.

BENEDINI, M. S. **Controle Biológico de pragas na cana-de-acucar**. 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.

BOTELHO, P. S. M.; MACEDO, N.; MENDES, A. C.; SILVEIRA NETO, S. **Aspects of the population dynamics of *Apanteles flavipes* (Cameron) and support capacity of its host *Diatraea saccharalis* (Fabr.)**. In: CONGRESS OF INTERNATIONAL SOCIETY OF SUGAR CANE TECHNOLOGISTS, 18, 1980, Manila. Proceedingsí Manila, 1980.

BOTELHO, P. S. M.; MACEDO, N. ***Cotesia flavipes* para o controle de *Diatraea saccharalis*** In: PARRA, J. R. P.; BOTELHO, P. S. M.; CORREA-FERREIRA, B. S.; BENTO, J. M. S. (eds.) **Controle biológico no Brasil: parasitoides e predadores**. São Paulo: Manole, 2002. Cap. 25, p. 409-425.

BECKAGE, N. E.; GELMAN, D. B. **Wasp parasitoid disruption of host development implication for new biologically based strategies for insect control.** Annual review of entomology, Standford, v.49, p. 299-330, 2004.

BOTELHO, P. S. M.; MACEDO, N. ***Cotesia flavipes* para o controle de *Diatraea saccharalis***In: PARRA, J. R. P.; BOTELHO, P. S. M.; CORREA-FERREIRA, B. S.; BENTO, J. M. S. (eds.). **Controle biológico no Brasil.** São Paulo: Manole, p. 409-425, 2002.

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

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

BREWER, F. D.; KING. E. G. **Food consumption and utilization by sugarcane borers parasitized by *Apanteles flavipes*.** Journal of Georgia Entomology. Society, Athens, v. 16, p. 181-185, 1981.

BOIÇA JUNIOR A.L.; LARA F.M.; BELLODI M.P. (1997) **Influência de variedades de cana-de-açúcar, incorporadas em dieta artificial, no desenvolvimento de *Diatraea saccharalis* (Fabr.) e no seu parasitismo por *Cotesia flavipes* (Cam.).** *An.Soc. Entomol. Brasil* 26: 537-550.

BOTELHO, P. S. M.; MACEDO, N. ***Cotesia flavipes* para o controle de *Diatraea Saccharalis*.** In: PARRA, J. R. P.; BOTELHO, P. S. M.; FERREIRA-CORRÊA, B. S.;

BENTO, J. M. S. (Ed.). **Controle biológico no Brasil *Cotesia flavipes* para o Controle de *Diatraea saccharalis***. Manole, 2002.

BURON I, BECKAGE N.E. 1992. **Characterisation of a polydnavirus (PDV) and virus-like filamentous particles (VLFP) in the braconid wasps *Cotesiacongregata* (Hymenoptera: Braconidae)**. *Journal of Invertebrate Pathology* 59: 315-327.

CARVALHO,G.R.; OLIVEIRA, C. de. **O setor sucroalcooleiro em perspectiva. Campinas: EMBRAPA Monitoramento por satélite**, 2006, 18 p (circular técnica).

DeBACH, P.; SCHLINGER, I.E. **Biological control of insect pests and weeds. London: Chapman and Hall**, 1964. 844 p.

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

FLEMING J.G.W. 1991. **The Integration of polydnavirus genomes in parasitoid genomes: Implications for biological and genetic analysis of parasitoid wasp**. *Biological Control* 1: 127-135.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. **Acompanhamento da Safra Brasileira, Cana-de-açúcar Safra 2014/2015, Segundo Levantamento Agosto de 2014**.

Disponível em:<

http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/14_08_28_08_52_35_boletim_cana_portugues_-_2o_lev_-_2014-15.pdf>. Acessado em: 10 out. 2014.

CAMPOS-FARINHA, A. E. C. **Biologia reprodutiva de *Cotesia flavipes* (Hymenoptera: Braconidae)**. 1996. 97f. Tese (Doutorado em Entomologia) ó Universidade Estadual Paulista, Rio Claro, 1996.

CHARNOV, E.L. **The genetical evolution of patterns os sexuality Darwinian fitness**. *Am. Nat.* v. 113, p.465-480, 1979.

DAVIES D.H.; STRAND M.R. ;VINSON S.B. 1987. **Changes in differential haemocyte count and *in vitro* behaviour of plasmocytes from *Heliothis virescens* caused by *Camponotus sonorensis* polydnavirus.***Journal of Insect Physiology* 33: 143-153.]

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

ELIAS, L. A. **Maize resistance to stalk borer in *Zea diatraea* Box and *Diatraea Guilding* (Lepidoptera: Pyralidae) at five localities in Mexico.** 1970. 172 p. Thesis (Ph. D.) ó Kansas State University, Manhattan. 1970.

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.

GRAÇA, L. R. **Estimativa econômica dos prejuízos causados pelo complexo broca/podridão na cana-de-açúcar no Brasil.** Brasil Açucareiro, Rio de Janeiro, v. 88, p. 12-34, 1976.

GUEVARA, L. A. **Aspectos da biologia em condições naturais e frequência de acasalamento da *Diatraea saccharalis* (Fabr., 1774) (Lepidoptera: Crambidae) a broca da cana-de-açúcar.** 1976. 70p. Dissertação (Mestrado em Entomologia) ó Escola Superior de Agricultura õLuiz de Queiroz,õ Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1976.

HEIMPEL, G.E.; ROSENHEIM, J.A.. **Egg Limitation in Parasitoids: A Review of Evidence and a Casa Study.** Biol. Control, 11, p.160-168,1998

Holloway TE, Haley WE, Loftin UC, Heinrich C. 1928. **The sugar-cane borer in the United States.** USDA Technical Bulletin 41. 77 pp.

J.C.M. et al. **Atualização em produção de cana-de-açúcar.** Piracicaba: CP 2, 2006. Cap. 6, p. 257-280

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

LONG, W. E.; HENSLEY, S.D. **Insect pests of sugar cane.** Annual Review of Entomology, Palo Alto, v. 17, p. 149-176, 1972.

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

MACEDO, N. Método de criação do parasitóide *Cotesia flavipes* (Cameron, 1891). In: BUENO, V. H. P. (Ed.). **Controle biológico de pragas: produção massal e controle de qualidade.** Lavras: UFLA, 2002. p. 161-175

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 out. 2014.

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

MENESES, A.; HIDALGO, H. (Eds.). **Manejo Integrado de barrenadores em caña de azúcar.** Guatemala: CENGICAÑA. 2000. 26 p.

MINISTERIO DA AGRICULTURA PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. **Cana-de-açúcar, 2014.** Disponível em:< <http://www.agricultura.gov.br/vegetal/culturas/cana-de-acucar>>. Acessado em: 03 out. 2014.

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.

PÁDUA, L. E. M; PARRA, J. R. P. **Efeito da temperatura e umidade relativa do ar na biologia de *Cotesia flavipes* (Cameron).**Anais da Sociedade Entomológica do Brasil, Londrina, v. 23, p. 105-114, 1994.

PARRA, J. R. P. **A biologia de insetos e o manejo de pragas: da criação em laboratório a aplicação em campo.** In: GUEDES, J. C.; COSTA, I. D.; CASTIGLIONI, E. (Eds.). Bases técnicas do manejo de insetos. Santa Maria: Universidade Federal de Santa Maria, 2000. cap. 4, p. 59-68.

PEREZ, R.; LONG, H. W. **Sex attractant and mating behaviour in the sugarcane borer.** Journal of Economic Entomology, Lanham, v. 57, n. 5, p. 688-690, 1964.

PINTO, A. S.; GARCIA, J. F.; OLIVEIRA, H. N. de. **Manejo das principais pragas da cana-de-açúcar,** In: SEGATO, S. V.; PINTO, A.S.; JENDIROBA, E.; NÓBREGA,

POTTING, R.P.J., L.E.M. VET & M. DICKE. 1995.**Host microhabitat location location by stemborer parasitoid *Cotesia flavipes*: the role of herbivore volatiles and locally and systemically induced plant volatiles.** J. Chem. Ecol. 21: 525-539.

RAMADAN, M. M. **Mass-rearing biology of *Fopius vandenboschi* (Hym., Braconidae).** Ent. Exp. Appl. v.128. p.226-232, 2004.

REIS, G. P. dos. **Caracterização histológica da glândula mandibular de *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae) parasitada pela *Cotesia flavipes* (Hymenoptera: Braconidae).** Tangará da Serra [MT]: UNEMAT, 2009.

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

TERAN, F. O. Dinâmica populacional de adultos de *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794) em canaviais do estado de São Paulo. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Londrina, v. 8, n. 1, p. 3-17, 1979.

TERAN, 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.

TERAN, F. O. Pragas da cana-de-acucar. In: TERAN, F.O. **Cana-de-açúcar, cultivo e utilização**. Campinas: Fundacao Cargil, v.2, 1987. p. 601-628.

VAN LEERDMAM M.B. (1986) **Bionomics of *Eoreuma loftini*, a pyralid stalk borer of sugarcane. PhD dissertation**, Texas A & M University, College station. 32 p

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 simposio de pesquisa: Biologicas. Resumos... 1999. Disponível em <<http://www.unirpnet.com.br/Pesquisa/Anais/bio.html>>. Acesso em: 01 out. 2014.

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

WIENDENMANN, R. N.; SMITH JR, J. W.; DARNELL, P. O. **Laboratory rearing and biology of the parasite *Cotesia flavipes* (Hym.: Braconidae) using *Diatraea saccharalis* (Lep.: Pyralidae) as a host**. Environmental Entomology, College Park, v. 21, p. 1160-1167, 1992.

MOHYUDDIN, A. L. **Comparative biology and ecology of *Apanteles flavipes* (Cam.) and *Apanteles sesamiae* Cam. as parasites of graminaceous borers.** Bulletin of entomological research, Farnham, Royal, v. 61, p. 33-39, 1971

GALLO, D.; NAKANO, O.; SILVEIRA NETO, S. **Manual de Entomologia Agrícola 3 ed. Piracicaba: Fealq, 2002, 920 p.**

HENSLEY, S. D; HAMMOND, A. M. **Laboratory techniques for rearing the sugar cane borer on an artificial diet.** J. Econ. Entomol., n.61, p. 1742-1743. 1968.

KAWAGUCHI, M.; TANAKA, T. **Time and Location of Larval Emergence of the Endoparasitoid *Cotesia kariyai* (Hymenoptera: Braconidae) from the Lepidopteran Host *Pseudaletia separata* (Lepidoptera: Noctuidae).** Ann. Entomol. Soc. Am., v 92, n.1, 101-107, 1999

LARA, F. M.; BARBOSA FILHO, G. C.; BARBOSA, J.C. **Danos acarretados por *Diatraea saccharalis* (Fabr., 1794) na produção do sorgo granífero.** Científica, São Paulo, v. 8, n. 1/2, p. 105-111, 1980.

LAWRENCE, P.O. **Host-parasite hormonal interection: an overview.** Jounal of insect Physiology, London. v. 32, n. 4. P 295-298, 1986.

LVA J, WILSONA LT, BEUZELIN J.M., WHITE WH, REAGAN TE. 2010. **Impact of *Cotesia flavipes* (Hymenoptera: Braconidae) as an augmentative biocontrol agent for the sugarcane borer (Lepidoptera: Crambidae) on rice.** *Biological Control* 56(2): 159-169

MACEDO, N. Método de criação do parasitóide *Cotesia flavipes* (Cameron, 1891). In: BUENO, V. H. P. (Ed.). **Controle biológico de pragas: produção massal e controle de qualidade.** Lavras: UFLA, 2002. p. 161-175

MENDONÇA, A.F. 1996. Guia **das principais pragas da cana-de-açúcar**, p. 3-48. In A.F. Mendonça (ed.), **Pragas da cana-de-açúcar.** Maceió, Insetos & Cia, 239p.

MENESES, A.; HIDALGO, H. (Eds.). **Manejo Integrado de barrenadores em caña de açúcar**. Guatemala: CENGICAÑA. 2000. 26 p.

NAKANO et al. **Entomologia agrícola**. Piracicaba: FEALQ, 2002, 920p.

PARRA, J. R. P. et al. **Efeito da nutrição de adultos e da umidade na fecundidade de *Diatraea saccharalis***. Sociedade Entomológica do Brasil, Londrina, v. 28, n. 5, mar. 1999

PARRA, J.R.P. **A biologia de insetos e o manejo de pragas: da criação em laboratório à aplicação em campo. O controle biológico e o manejo de pragas: passado, presente e futuro**. In: GUEDES, J.C., COSTA, I.D., CASTIGLIONI, E. (coord.). Bases e técnicas do manejo de insetos. Santa Maria: UFSM/CCR/DFS, cap.4, p.59-61, 63-68, 2000.

PINTO, A. de S.; CANO, M.A.V.; SANTOS, E.M. dos. **A broca-da-cana, *Diatraea saccharalis***. In: PINTO, A. de S. (org.) Controle de pragas da cana-de-açúcar. Sertãozinho: Biocontrol, 2006. p.15-20. (Boletim Técnico Biocontrol, 1)

PINTO, A. de S. **O controle biológico de pragas da cana-de-açúcar**. In: PINTO, A. de S. **Controle de pragas da cana de açúcar**. Sertãozinho: Biocontrol, 2006. p. 9-13.

POLANCZYK, R. A. et al. **Pragas de cana-de-açúcar x métodos alternativos de controle**.

Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento, Brasil, v. 33, p. 12-15, 2004

SCAGLIA M, CHAU-NETTO J, BROCHETTO-BRAGA M, CEREGATO S, GOBBI N, RODRÍGUEZ A. 2005. **Oviposition sequence and offspring of mated and virgin females of *Cotesia flavipes* (Hymenoptera: Braconidae) parasitizing *Diatraea saccharalis* larvae (Lepidoptera: Crambidae)**. *Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases* 11(3): 283-298.

STOLTZ D.B.; KRELL P.J., Summers MD, Vinson SB. 1984. **Polydnaviridae - a proposed family of insect viruses with segmented, double-stranded, circular DNA genomes**. *Intervirology* 21: 1-4.

TÉRAN, F.O.; NOVARETTI, W.R.T **Manejo integrado da *D. saccharalis* da cana-de-açúcar nas usinas cooperadas** Boletim Técnico do COPERSUCAR, São Paulo, v.11, n.3, p.9, jan. 1980.

UENO, T. **Abdominal tip movements during oviposition by two parasitoids (Hymenoptera: Ichneumidae) as an index of predicting the sex of depositing eggs.** *Appl. Entomol. Zool.*, v.30, p.590-592, 1998.

VINSON S.B.; EDSON K.M., STOLTZ D.B.. 1979. **Effect of virus associated with reproductive system of the parasitoid wasp, *Campoletis sonorensis*, on host weight gain.** *Journal of Invertebrate Pathology* 34: 133-137