**Universidade de São Paulo
Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz"**

**Exigências térmicas e monitoramento de *Diatraea saccharalis*
(Fabricius, 1794) (Lepidoptera: Crambidae), como suporte ao seu
controle biológico**

Bruno Freitas De Conti

Tese apresentada para obtenção do título de Doutor
em Ciências Área de concentração: Entomologia

**Piracicaba
2012**

Bruno Freitas De Conti
Engenheiro Agrônomo

**Exigências térmicas e monitoramento de *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794)
(Lepidoptera: Crambidae), como suporte ao seu controle biológico**

Orientador:
Prof. Dr. **JOSÉ ROBERTO POSTALI PARRA**

Tese apresentada para obtenção do título de Doutor
em Ciências. Área de concentração: Entomologia

Piracicaba
2012

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
DIVISÃO DE BIBLIOTECA - ESALQ/USP**

De Conti, Bruno Freitas

Exigências térmicas e monitoramento de *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794)
(Lepidoptera: Crambidae), como suporte ao seu controle biológico / Bruno Freitas De
Conti. - Piracicaba, 2012.
120 p: il.

Tese (Doutorado) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", 2012.

1. Brocas - Insetos nocivos 2. Cana-de-açúcar 3. Controle biológico 4. Criação
massal 5. Insetos parasitóides I. Título

CDD 632.78
D296e

"Permitida a cópia total ou parcial deste documento, desde que citada a fonte – O autor"

AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador, Prof. Dr. José Roberto Postali Parra, pela infinita paciência e compreensão, que foram fundamentais no desenvolvimento da tese. Assim como, pelos ensinamentos e pelo exemplo de ética na vida e na profissão;

À Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", da Universidade de São Paulo (ESALQ/USP), pela oportunidade de realizar o curso de pós-graduação;

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de estudos;

À todos os professores do PPG Entomologia pelos valiosos ensinamentos nas disciplinas, por todas as conversas enriquecedoras e experiências compartilhadas;

À Dra. Marinéia Haddad, pelo auxílio nas análises estatísticas;

À todos os funcionários do setor de Entomologia, com os quais compartilhei momentos de alegria e preocupação ao longo do desenvolvimento do trabalho e que foram grandes colaboradores das pesquisas desenvolvidas;

À todos os amigos da graduação e pós-graduação pelo convívio diário, pelas conversas sérias sobre pesquisa e pelos papos furados no café;

Aos amigos com quem morei em Piracicaba, Beronha, Gutela, Xoiu, Tchê e Barbudinho, pela convivência, churrascos, fraternidade e grande apoio em momentos difíceis;

À minha orientadora da graduação e do mestrado, Prof. Dra. Vanda Helena Paes Bueno, por toda sua contribuição em minha formação profissional e pessoal;

À minha melhor amiga e noiva, Ana Luísa, por quem tive a sorte de me apaixonar e dividir minha vida desde os 18 anos, por todo amor, carinho e apoio nos momentos difíceis.

SUMÁRIO

RESUMO	7
ABSTRACT.....	9
1 INTRODUÇÃO	11
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	13
2.1 Biologia e controle biológico de <i>Diatraea saccharalis</i> (Fabricius, 1794) em cana-de-açúcar.....	13
2.2 Criações de insetos e o Controle Biológico Aplicado.....	18
2.3 Dinâmica populacional e monitoramento de <i>D. saccharalis</i> em cana-de-açúcar.....	21
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	29
3.1 Criação estoque de <i>Diatraea saccharalis</i> (Fabricius, 1794).....	29
3.2 Experimentos de laboratório	30
3.2.1 Influência da temperatura no desenvolvimento e reprodução de <i>D. saccharalis</i>	31
3.2.2 Desenvolvimento e reprodução de <i>D. saccharalis</i> em diferentes temperaturas constantes.....	33
3.2.3 Efeito da alternância de temperatura, após o desenvolvimento larval, no desenvolvimento pupal e reprodução de <i>D. saccharalis</i>	34
3.2.4 Efeito da alternância de temperatura, após o desenvolvimento pupal, na reprodução de <i>D. saccharalis</i>	35
3.2.5 Efeito da temperatura utilizada no desenvolvimento larval e pupal de <i>D. saccharalis</i> em seus parâmetros reprodutivos a 22 e 25°C	35
3.2.6 Análises estatísticas	36
3.2.7 Desenvolvimento e reprodução de <i>D. saccharalis</i> criada em diferentes densidades e regimes térmicos	37
3.3 Experimentos em semi-campo	39
3.3.1 Efeito da temperatura na biologia de <i>D. saccharalis</i> em plantas de cana-de-açúcar.....	39
3.4 Experimentos de campo.....	40
3.4.1 Flutuação populacional de <i>D. saccharalis</i> em cana-de-açúcar	40
3.4.2 Raio de ação de uma armadilha contendo fêmeas virgens de <i>D. saccharalis</i>	43
4 RESULTADOS.....	47
4.1 Experimentos de Laboratório	47

4.1.1	Desenvolvimento e reprodução de <i>Diatraea saccharalis</i> (Fabricius, 1794) em diferentes temperaturas constantes	47
4.1.2	Efeito da alternância de temperatura, após o desenvolvimento larval, no desenvolvimento pupal e reprodução de <i>D. saccharalis</i>	59
4.1.3	Efeito da alternância de temperatura, após o desenvolvimento pupal, na reprodução de <i>D. saccharalis</i>	66
4.1.4	Efeito da temperatura utilizada no desenvolvimento larval e pupal de <i>D. saccharalis</i> em seus parâmetros reprodutivos, a 22 e 25°C.....	71
4.1.5	Desenvolvimento e reprodução de <i>D. saccharalis</i> criada em diferentes densidades e regimes térmicos	82
4.2	Experimentos em semi-campo	92
4.2.1	Efeito da temperatura na biologia de <i>D. saccharalis</i> em plantas de cana-de-açúcar.....	92
4.3	Experimentos de campo	98
4.3.1	Flutuação populacional de <i>D. saccharalis</i> em cana-de-açúcar.....	98
4.3.2	Raio de ação de armadilhas contendo fêmeas virgens de <i>D. saccharalis</i>	109
5	CONCLUSÕES	111
	REFERÊNCIAS.....	113

RESUMO

Exigências térmicas e monitoramento de *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794) (Lepidoptera: Crambidae), como suporte ao seu controle biológico

O incremento aos programas de bioenergia em nosso país, aponta para uma provável duplicação da área plantada de cana-de-açúcar, num futuro bastante próximo. Neste contexto, a sustentabilidade da cultura deve ser preservada, evitando-se que sejam colocados em risco os avanços obtidos nas últimas cinco décadas no Controle Biológico de suas pragas. Para tanto, são necessárias pesquisas que atendam às necessidades das diversas etapas de um programa de Controle Biológico. No presente estudo, avaliou-se o uso de temperaturas diferentes para criar cada fase do desenvolvimento de *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794), com o objetivo de fornecer informações importantes para sua criação massal. Avaliou-se também, o raio de ação de uma armadilha contendo fêmeas virgens, a dinâmica populacional de *D. saccharalis* e o seu desenvolvimento em plantas de cana-de-açúcar, visando desenvolver um modelo de previsão da praga, com vistas ao seu controle biológico pelos parasitoides *T. galloi* e *C. flavipes*. As combinações de temperaturas 28°C-25°C-25°C, 28°C-28°C-28°C, 30°C-25°C-25°C e 30°C-22°C-22°C para criar lagartas, pupas e adultos, respectivamente, destacaram-se das demais por promover rápido desenvolvimento aliado a altas taxas reprodutivas e podem assim, serem utilizadas para a criação massal de *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794) e de seu parasitoide *Cotesia flavipes* (Cameron, 1891). O aumento de densidade de criação de 1 lagarta por tubo para 250 lagartas por frasco, não afetou o desenvolvimento e reprodução de *D. saccharalis*. Foi possível prever o momento de liberação de *C. flavipes* em cana-de-açúcar com base em modelos de exigências térmicas, assim como, orientar as liberações de *T. galloi* ao definir o período de ocorrência dos ovos de *D. saccharalis*. Os parâmetros climáticos determinaram uma faixa térmica de atuação para as armadilhas contendo fêmeas virgens (temperatura média acima de 24°C), faixa na qual foram observadas altas correlações entre a captura de machos e amostragem de lagartas, realizada 21 dias após a captura dos machos de *D. saccharalis*. De acordo com a dinâmica populacional de *D. saccharalis*, foram identificadas quatro gerações ao longo do ciclo da cultura. Para a utilização do parasitoide de ovos *T. galloi* deve-se usar uma armadilha contendo 4 fêmeas virgens de *D. saccharalis* para amostrar 12,5 ha, área determinada em função do raio de ação de 200 metros.

Palavras-chave: Cana-de-açúcar; *Cotesia flavipes* (Cameron, 1891); Criação massal; *Trichogramma galloi* Zucchi, 1988

ABSTRACT

Thermal requirements and monitoring of *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794) (Lepidoptera: Crambidae), as support for its biological control

The increase of bioenergy programs in our country indicates a probable duplication of the planted area with sugar cane in a near future. In this context, the sustainability of the culture must be preserved, avoiding the risk of loose the progress achieved in the last five decades in the Biological Control of its pests. For this, it is necessary researches that attend the needs of the various steps of a biological control program. In this study, was evaluated the use of different temperatures to rear each phase of the development of *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794), aimed to provide important informations for its mass rearing. It was also evaluated the radius of action of a trap containing virgin females, the population dynamics of *D. saccharalis* and its development in sugar cane, aimed the development of a prediction model of the occurrence of *D. saccharalis* in sugar cane, supporting its biological control by the parasitoids *T. galloi* and *C. flavipes*. The temperatures combination 28°C-25°C-25°C, 28°C-28°C-28°C, 30°C-25°C-25°C, and 30°C-22°C-22°C used to rear caterpillar, pupae and adults stood out from the others by promoting fast development combined with high reproductives rates and can be used for mass rearing of *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794) and its parasitoids *Cotesia flavipes* (Cameron, 1891). The rearing of caterpillars individually or in groups of 250 did not interfere in the development and reproduction of *D. saccharalis*. It was possible to predict the release time of *C. flavipes* in sugar cane based in thermal requirements models and advise the releases of *T. galloi* defining the period of occurrence of *D. saccharalis* eggs. The climatic parameters determined a temperature range of action for the pheromone traps with the virgin females (average temperatures above 24°C), range at which high correlations were observed between the males capture and caterpillar sampling performed 21 days after the capture of the *D. saccharalis* males. According to the population dynamics of *D. saccharalis*, four generations have been identified during the crop cycle. For the use of the egg parasitoid *T. galloi*, it should be used a trap containing four virgin females of *D. saccharalis* to sample 12.5 ha, area determined by the action radius of 200 meters.

Keywords: *Cotesia flavipes* (Cameron, 1891); Massal rearing; Sugar cane
Trichogramma galloi Zucchi, 1988

1 INTRODUÇÃO

O sucesso e o estabelecimento de programas de Controle Biológico dependem de diversas etapas, que devem ser cumpridas de forma adequada e sequencial (PARRA et al., 2002b). Casos bem sucedidos, como o controle biológico da broca-da-cana-de-açúcar, *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794) pelo parasitoide larval *Cotesia flavipes* (Cameron, 1891), hoje utilizado em 3.000.000 ha (PARRA; BOTELHO; PINTO, 2010), são resultados de muita pesquisa, produção massal de qualidade e entendimento da dinâmica populacional da praga e de seus inimigos naturais.

Para viabilizar criações em escala massal, foi fundamental a pesquisa sobre dietas artificiais para insetos, principalmente a partir da década de 1960, possibilitando que, atualmente sejam criadas em meio artificial, mais de 1.300 espécies de insetos (PARRA, 2009). Nas criações massais de inimigos naturais, criar o hospedeiro em dieta artificial é um grande passo para que estas se tornem economicamente viáveis (LENTEREN; TOMMASINI, 2003), objetivo já alcançado na produção massal de *C. flavipes* e do parasitoide de ovos *Trichogramma galloi* Zucchi, 1988, inimigo natural que já é utilizado em cerca de 500.000 ha (PARRA; BOTELHO; PINTO, 2010) e se associado à *C. flavipes* pode causar redução de 60% na intensidade de infestação da broca-da-cana-de-açúcar (BOTELHO et al., 1999).

Estudos da dinâmica populacional e flutuação de adultos de *D. saccharalis* na cultura da cana-de-açúcar são fundamentais para o adequado manejo da praga e emprego de diversos métodos de controle (BOTELHO; MAGRINI; SILVEIRA-NETO, 1993). O sucesso na utilização de *Trichogramma* em liberações inundativas depende de uma coincidência temporal, espacial e numérica entre o hospedeiro e o parasitoide (LOPES, 1988). Para identificar o momento desta coincidência, o monitoramento de machos adultos, mostra-se como uma das formas de maior potencial de utilização (BATISTA-PEREIRA et al., 2002).

Apesar dos avanços obtidos em criações massais, dinâmica populacional e o uso de armadilhas contendo fêmeas virgens, ainda persistem muitas dúvidas sobre estes temas. Sendo assim, este estudo teve por objetivo avaliar a influência de diferentes combinações de temperatura no desenvolvimento e reprodução de *D. saccharalis*, assim como, avaliar o raio de ação de uma armadilha contendo fêmeas virgens e, por meio da avaliação da dinâmica populacional de *D. saccharalis*,

identificar as épocas em que a praga está em uma fase adequada de desenvolvimento para controle biológico por *T. galloi* e *C. flavipes*, indicando o momento adequado para a liberação destes inimigos naturais.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Biologia e controle biológico de *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794) em cana-de-açúcar

Apesar de o Brasil ser o maior produtor mundial de açúcar e álcool (FAO, 2010), esta produção poderia ser ainda maior se não fosse o ataque de pragas às suas raízes, colo, colmo e folhas, causando significativas reduções na produtividade (PARRA; BOTELHO; PINTO, 2010). A cultura da cana-de-açúcar é atacada por diversas pragas, sendo descritas 24 espécies como as mais importantes (GALLO et al., 2002).

Com as perspectivas de duplicação da área plantada de cana-de-açúcar em um curto espaço de tempo, existe uma preocupação de que, com a abertura de novas áreas, não se respeite a produção sustentável da cultura e que sejam aplicados indiscriminadamente produtos químicos, especialmente com pulverizações na parte aérea (PARRA; BOTELHO; PINTO, 2010).

A aplicação de determinados produtos químicos para controlar saúvas (*Atta* spp.) e mesmo outras pragas da parte aérea, tem destruído populações de predadores, especialmente outras formigas (PARRA; BOTELHO; PINTO, 2010), como por exemplo as dos gêneros, *Solenopsis*, *Pheidole* e *Dorymyrmex* (ROSSI; FOWLER, 2004).

Tal método de controle leva ao surgimento de "novas pragas", tais como *Hyponeuma taltula* (Schaus, 1904), a broca-peluda, que em algumas regiões do Brasil já é considerada praga primária (PARRA; BOTELHO; PINTO, 2010). Outras lagartas também podem aumentar consideravelmente sua densidade populacional, dentre elas *Spodoptera frugiperda* (Smith, 1797) e *Pseudaletia sequax* Franclemont, 1951 (PARRA; BOTELHO; PINTO, 2010).

Felizmente, embora existam peculiaridades regionais, as principais pragas da cultura são controladas com alternativas biológicas (PARRA; BOTELHO; PINTO, 2010), seja por meio de outros insetos ou entomopatógenos (PARRA et al., 2002a; ALVES; LOPES, 2008), fazendo da cana-de-açúcar uma das poucas culturas no Brasil, em que desde a década de 1970, busca-se o desenvolvimento sustentável (GALLO, 1980). Esta visão estratégica é responsável por consolidar alguns dos

maiores programas de controle biológico do mundo, dando ao nosso país posição de destaque no controle sustentável de pragas.

Os programas de controle biológico da cigarrinha-das-raízes, *Mahanarva fimbriolata* (Stal, 1854), pelo fungo verde, *Metarhizium anisopliae* (Metschnikoff, 1879) e o controle da broca-da-cana, *D. saccharalis* (Fabricius, 1794), pelo parasitoide larval *Cotesia flavipes* (Cameron, 1891), são referências pela grande área tratada e pelos resultados atingidos. Na região Sudeste do Brasil, essas são consideradas as principais pragas da cultura, e se não forem controladas adequadamente, causam grandes prejuízos à produção de álcool e açúcar.

A cigarrinha das raízes, *M. fimbriolata*, causa toxicidade, alterações no fluxo de água e nutrientes, redução de sacarose nos colmos e queda no rendimento agrícola industrial (MADALENO et al., 2008). Atualmente, são tratados mais de 2.000.000 ha com *M. anisopliae*, promovendo um controle eficiente, além de seguro ao meio ambiente e ao homem .

A broca-da-cana-de-açúcar, *D. saccharalis*, é um lepidóptero pertencente à família Crambidae, cuja mariposa tem, aproximadamente, 25 mm de envergadura, com asas anteriores de coloração amarelo palha, com alguns desenhos pardacentos e asas posteriores esbranquiçadas (GALLO et al., 2002) (Figura 1). Após a cópula, a fêmea deposita, nas folhas da cana, ovos agrupados em números variáveis de cinco a 50 ovos (BOTELHO et al., 1999; GALLO et al., 2002). Os ovos são depositados em forma imbricada e seu período de desenvolvimento é muito influenciado pela temperatura, podendo variar de 12 dias a 20°C a quatro dias a 30°C (MÉLO; PARRA, 1988) (Figura 1).

As lagartas recém-eclodidas se alimentam do parênquima foliar e após a primeira ecdise, penetram no colmo pela sua parte mais tenra, próxima à bainha da planta, fazendo perfurações de baixo para cima (GALLO et al., 2002) (Figura 1). O período de desenvolvimento de *D. saccharalis* é bastante variável ao longo do ano. Segundo (BOTELHO, 1985), a duração do estágio larval oscila de 50 a 90 dias, o pupal de dez a 11 dias e a longevidade das mariposas de três a sete dias. Nas condições climáticas do estado de São Paulo, geralmente ocorrem quatro gerações anuais (MÉLO; PARRA, 1988), podendo haver, em condições favoráveis, a quinta geração (Figura 1), o que deve se tornar mais frequente com o aquecimento global, assunto tão discutido atualmente (BRADSHAW; HOLZAPFEL, 2001; DAVIS; SHAW; ETTERSON, 2005).

A alimentação das lagartas causa prejuízos diretos, devido à perda de peso na abertura de galerias. Entretanto, são os prejuízos indiretos, causados por microrganismos que invertem a sacarose presente nos colmos e contaminam o caldo no processo de fermentação alcoólica, que causam as maiores perdas na produção de álcool e açúcar (MACEDO; BOTELHO, 1988b).

Figura 1 - Ciclo biológico de *D. saccharalis* em cana-de-açúcar com as respectivas durações por fase de desenvolvimento

1-Adulto; 2-Ovos (postura imbricada); 3-Orifício de entrada de lagarta pequena; 4-Corte do colmo mostrando a lagarta em galeria aberta em cana-de-açúcar; 5-Pupa no orifício preparado pela lagarta para a saída do adulto da planta (Adaptado de (MACEDO; BOTELHO, 1988a; MÉLO; PARRA, 1988).

O programa de controle biológico de *D. saccharalis* com o parasitoide larval *C. flavipes* é reconhecido pelos excelentes resultados assim como pelos 3.000.000 de hectares tratados por este inimigo natural atualmente e que tem atendido às expectativas do agricultor há mais de 30 anos.

São liberados cerca de 6.000 parasitoides por hectare, a um custo de US\$ 7,00/ha (PARRA; BOTELHO; PINTO, 2010). As fêmeas, ao parasitarem uma lagarta, depositam cerca de 60 ovos (CAMPOS-FARINHA; CHAUD-NETTO; GOBBI, 2000). As larvas do parasitoide desenvolvem-se no interior do corpo da lagarta e próximo à transformação em pupas abandonam o corpo das lagartas, agrupando-se como

pupas protegidas por casulos, de onde emergem os adultos que se apresentam como microimenópteros de 3 mm de comprimento.

Macedo, Araujo e Botelho (1993) ao publicarem os resultados obtidos em 15 anos do programa de controle biológico de *D. saccharalis*, entre os anos de 1975 e 1990, relataram que a área tratada com inimigos naturais cresceu 246%, de aproximadamente 800.000 ha em 1975 para 2.000.000 ha em 1990. Apesar do intenso crescimento da área plantada, neste mesmo período a intensidade de infestação pela broca da cana-de-açúcar decresceu de 6,64% para 3,70% e o parasitismo cresceu de 13,77% para 33,37% (MACEDO; ARAUJO; BOTELHO, 1993). Tendo em vista o intenso crescimento da área plantada, os resultados obtidos tornam-se ainda mais relevantes, pois grande parte dos dados utilizados no cálculo da intensidade de infestação e parasitismo foram oriundos de áreas recém tratadas com controle biológico, que normalmente apresentam maiores infestações da praga do que áreas tratadas por longos períodos. A conservação da eficiência no controle, concomitante ao intenso aumento da área tratada, demonstram claramente o enorme sucesso deste programa.

Avaliando o parasitismo de *Lydella minense* (1927), *Billaea claripalpis* (Wulp, 1895) e *C. flavipes* em áreas tratadas com esses inimigos naturais de 1975 a 1990, Macedo, Araujo e Botelho (1993), relataram que o parasitismo total aumentou de 18,28% para 57,76% e no mesmo período, a participação de *C. flavipes* neste parasitismo aumentou de 33,26% para 77,61%, evidenciando sua adaptação e "conquista" deste nicho ecológico, promovendo eficiente controle de *D. saccharalis*.

A queda da intensidade de infestação de *D. saccharalis* no interior do estado de São Paulo, devido à grande adesão ao programa de controle biológico da praga é demonstrada em resultados como os de Botelho, Magrini e Silveira-Neto (1993). Em amostragens realizadas com armadilhas contendo fêmeas virgens durante 14 anos (de 1976 a 1990) em Araras-SP, Botelho, Magrini e Silveira-Neto (1993) relataram intensa diminuição da população de adultos machos na região.

Entretanto, em situações específicas, parasitoides larvais como *C. flavipes*, podem não deter o crescimento populacional da broca-da-cana da forma desejada. Isto pode acontecer especialmente quando a predação de ovos da broca-da-cana-de-açúcar é baixa, pois esta é a fase do desenvolvimento considerada como fator chave para seu crescimento populacional (BOTELHO, 1985).

Nessas situações recomendam-se métodos de controle que sejam complementares ao controle com *C. flavipes*, como por exemplo, o parasitoide de ovos *Trichogramma galloi* Zucchi, 1988. Este inimigo natural é liberado por volta de 200.000 parasitoides por hectare em três liberações consecutivas, com intervalo de uma semana entre cada liberação (BOTELHO et al., 1999). Atualmente, *T. galloi* já é utilizado em cerca de 500.000 ha (PARRA; BOTELHO; PINTO, 2010) e se associado à *C. flavipes* pode causar redução de 60% na intensidade de infestação (BOTELHO et al., 1999).

T. galloi tem sido objeto de estudo de importantes projetos de pesquisa nos últimos 30 anos, fazendo com que desde sua criação massal, taxas de liberação, número e intervalo entre liberações, até seu desenvolvimento em produto comercial, seja reflexo das informações obtidas pela pesquisa. Sua produção é realizada por duas empresas em nosso país (PARRA; BOTELHO; PINTO, 2010) e é oferecido ao produtor normalmente na forma de pupas protegidas, tática que se mostra indispensável para evitar a predação das mesmas (PINTO et al., 2003). Tal fato foi observado em estudo realizado por Pinto et al. (2003), no qual foi constatado que liberações de *T. galloi* com a proteção de pupas é uma tática importante para suportar variações térmicas ou ocorrência de chuvas após as liberações, assim como para evitar a predação. Os mesmos autores ressaltaram que a liberação com dispersão dos adultos ou em ponto fixo proporcionaram a mesma eficiência em parcelas de 400 m².

A taxa de liberação a ser utilizada foi estudada por Broglio-Micheletti et al. (2007), que se baseando na regressão da taxa de parasitismo em áreas infestadas artificialmente com *D. saccharalis*, indicaram taxas de liberação de *T. galloi* entre 150.000 e 175.000 parasitoides/ha. Em estudo referente ao efeito de liberações sucessivas de *T. galloi* em intervalos semanais, (BOTELHO et al., 1999), concluíram que para manter o parasitismo elevado no período crítico de oviposição de *D. saccharalis*, são necessárias três liberações sucessivas de *T. galloi*.

Apesar de existirem diversos estudos sobre *T. galloi* e *D. saccharalis*, para a máxima eficiência dos parasitoides de ovos é fundamental que a liberação coincida com o estágio de desenvolvimento adequado da praga. Determinar o momento adequado para a liberação de *T. galloi* visando ao controle biológico de *D. saccharalis*, é uma informação de grande importância sobre a qual ainda permanecem algumas dúvidas, faltando estudos mais aprofundados.

Para tanto, o monitoramento de machos adultos mostra-se como uma das técnicas de maior potencial para que seja determinado o momento correto para a liberação dos parasitoides de ovos (BATISTA-PEREIRA et al., 2002).

2.2 Criações de insetos e o Controle Biológico Aplicado

As criações de insetos podem ser classificadas quanto ao seu tamanho em 3 categorias: a) criações em pequena escala; b) criações de médio porte; e c) criações massais (PARRA, 2009).

Em criações em pequena escala, como aquelas utilizadas em pesquisas, normalmente são utilizados ambientes controlados e em muitos casos, apenas uma pessoa trabalha na criação, fazendo com que as chances de problemas no decorrer da criação sejam reduzidas. À medida que cresce o número de insetos criados (criações massais) aumentam os problemas de instalações, sanidade, custo, necessidade de automatização, armazenamento e previsão de produção (PARRA, 2007). Em criações massais, atividades rotineiras tomam grandes proporções, fazendo com que se assemelhem àquelas executadas em fábricas. Algumas biofábricas chegam a ter mais de 300 funcionários e produzem milhões de insetos (PARRA, 2009).

Existem diversas definições de criação massal; (FINNEY; FISHER, 1964) definiram criação massal como a produção econômica de milhões de insetos benéficos em uma linha de montagem com o objetivo de produzir, com o mínimo de homens/hora e de espaço, o número máximo de fêmeas férteis no tempo mais curto possível e com um baixo custo. A criação massal de um inseto é uma atividade sistemática, automatizada, em instalações integradas, com o objetivo de produzir um suprimento relativamente grande de insetos para distribuição (PARRA, 2008).

A despeito de particularidades das diversas definições disponíveis na literatura, criações massais servem de suporte a programas de controle biológico e a outros métodos de controle (PARRA, 2009), fazendo com que estes se consolidem como parte fundamental do manejo de pragas.

No Brasil, o primeiro inseto a ser criado em dieta artificial foi *D. saccharalis* em 1969, para estudos de controle biológico realizados no Departamento de Entomologia da ESALQ/USP, utilizando-se a dieta de Hensley e Hammond (1968). Em estudo realizado por Parra e Mihsfeldt (1992), foram avaliadas diversas dietas

artificiais para *D. saccharalis* que variavam desde fonte protéica a custo de seus componentes.

Estudos desta natureza permitiram que hoje a criação do hospedeiro em dieta artificial seja uma realidade nas criações massais de *C. flavipes*. Embora existam e tenham ocorrido avanços nas dietas para parasitoides (CÔNSOLI; PARRA, 2002; CÔNSOLI; GRENIER, 2010) e predadores (COHEN, 2004), 85% das dietas artificiais são para insetos fitófagos das Ordens Lepidoptera, Coleoptera e Diptera (PARRA, 2009).

Os parasitoides *C. flavipes* e *T. galloi* são inimigos naturais liberados de forma inundativa (MACEDO, 2000), método que envolve a coleta, criação massal e liberações periódicas de grandes quantidades de inimigos naturais, visando ao controle imediato da praga (LENTEREN; BUENO, 2003). Em liberações inundativas, a maior parte do controle realizado deve-se aos indivíduos liberados, e não às suas gerações subseqüentes (LENTEREN; BUENO, 2003), fazendo com que neste método de controle, a qualidade do inimigo natural produzido seja de fundamental importância.

Os parasitoides da família *Trichogrammatidae*, principalmente espécies do gênero *Trichogramma*, são um dos grupos de inimigos naturais, atualmente, mais estudados e utilizados no mundo. Os insetos desse gênero são parasitoides de ovos de ampla distribuição e gama hospedeira (HAJI et al., 2002).

A possibilidade de criação em hospedeiros alternativos é uma das grandes vantagens da criação massal desses parasitoides, uma vez que apresenta custos inferiores à criação em hospedeiro natural (PARRA, 1997). Hoje, nos diferentes países onde se mantêm criações massais de *Trichogramma* são utilizados hospedeiros alternativos, dentre os quais se destacam *Anagasta kuehniella* (Zeller, 1879) e *Sitotroga cerealella* (Oliver, 1819) como os mais utilizados (HAJI et al., 2002). Para a espécie *T. galloi*, normalmente são utilizados os hospedeiros alternativos *A. kuehniella* e *Corcyra cephalonica* (Stainton, 1865), apesar de ser possível criá-los em seu hospedeiro natural, *D. saccharalis* (SALES-Jr, 1992).

No Brasil já existem nos dias de hoje laboratórios de Entomologia avançados, com técnicas de criação de insetos sofisticadas (PARRA, 2009). Entretanto, esta não é a regra e tudo deve ser feito para mudar esta tendência, pois a manutenção de colônias de insetos é imprescindível às modernas estratégias de controle de pragas (PARRA, 2009).

Apesar disso, a constatação de Lenteren (2003), de que a criação massal de inimigos naturais comumente é realizada em pequenas empresas, com poucos conhecimentos técnicos e entendimento das diferentes condições que influenciam a performance do inimigo natural, ainda aplica-se à realidade brasileira atual, assim como permanece atual a observação feita por (PARRA et al., 2002a) de que no país em que não houver uma legislação, poderão surgir aventureiros nesse mercado, o que poderá diminuir a credibilidade no controle biológico. A produção de insetos nestas condições tem o risco de produzir inimigos naturais de baixa qualidade e de se obter insucesso no controle da praga pretendida (LENTEREN, 2003). Diversos fatores devem ser considerados em criações massais de insetos e dentre eles, a temperatura apresenta papel fundamental, pois em criações nessas escalas, a relação de insetos produzidos e tempo podem determinar a viabilidade econômica da atividade. Portanto, busca-se a maior produção de insetos no menor tempo possível, objetivo que só pode ser atingido ao se compreender amplamente o efeito da temperatura na biologia do inseto produzido.

A temperatura é um dos fatores de maior influência na biologia dos insetos, determinando sua sobrevivência, desenvolvimento, reprodução e comportamento; portanto, para a adequada criação de insetos, deve ser profundamente compreendida. Em âmbito internacional, destacam-se os estudos realizados por Miskimen (1965) sobre a influência da temperatura no desenvolvimento de *D. saccharalis*, no qual foi observado que a temperatura mais adequada à criação do inseto foi a de 26°C, condição em que foram observadas as maiores viabilidades e as menores porcentagens de deformações em adultos. King; Brewer; Martin (1975), em estudo de técnicas de criação de *D. saccharalis* em dieta artificial, concluíram que as temperaturas mais adequadas foram as de 26°C para desenvolvimento embrionário e pupal, 28°C para a fase larval e 24°C para postura.

Dentre as pesquisas realizadas no Brasil, que tratam da influência da temperatura e que sejam de importância à criação massal de *D. saccharalis*, destaca-se o estudo realizado por Mélo e Parra (1988), que utilizaram temperaturas constantes entre 20 e 32°C para os estudos biológicos da broca-da-cana-de-açúcar. Os autores observaram períodos embrionários de 4,27 a 10,60 dias, desenvolvimento larval de 22,89 a 45,40 dias, período pupal de 7,16 a 14,06 dias, longevidade de 7,69 a 16,60 dias e produção de ovos variáveis de 283,10 a 607,80 ovos por fêmea, concluindo que a temperatura de 30°C é a mais adequada à criação

de lagartas e pupas e as temperaturas de 20°C e 22°C são as mais adequadas à obtenção de ovos.

Em decorrência destas recomendações, atualmente nas criações massais de *D. saccharalis* realizadas no Brasil, normalmente recomendam-se as temperaturas de 20°C e 22°C para a obtenção dos ovos e 30°C para desenvolvimento larval e pupal (MÉLO; PARRA, 1988; PARRA, 2009). Estes resultados indicam, portanto, a necessidade de pelo menos duas salas com temperaturas controladas para a criação massal de *D. saccharalis*.

2.3 Dinâmica populacional e monitoramento de *D. saccharalis* em cana de açúcar.

Estudos a respeito da dinâmica populacional e flutuação de adultos de *D. saccharalis* na cultura da cana-de-açúcar são fundamentais para o adequado manejo da praga e emprego de diversos métodos de controle (BOTELHO; MAGRINI; SILVEIRA-NETO, 1993). Devido ao grande número de fatores que influenciam a dinâmica populacional de *D. saccharalis*, pesquisas realizadas em condições naturais e em grandes áreas, além de fundamentais, são especialmente desafiadoras. Em estudo realizado em cana-de-açúcar, Terán (1979) alertou para o fato de as flutuações populacionais de *D. saccharalis* terem se mostrado muito inconstantes e imprevisíveis, o que de acordo com o autor, causaria certa desorientação nos esforços para o controle prático e econômico deste inseto.

Em flutuação populacional realizada em quatro regiões canavieiras do estado de São Paulo, Terán (1979), relatou que, sem dúvida, são vários os fatores que modificam esta dinâmica, sejam climáticos, edáficos ou biológicos. De acordo com o mesmo autor, esta grande variação faz com que apesar de *D. saccharalis* ter sido muito estudada, os dados sobre as suas flutuações populacionais são muitas vezes só de valor local e por isso mesmo dispersos e até discrepantes. De acordo com o mesmo autor, espera-se que o conjunto de fatores que afetam a dinâmica populacional de *D. saccharalis* em um determinado local e momento, sejam diferentes de qualquer outro, e conseqüentemente sua dinâmica seria própria deste local e momento.

A provável causa destas diferenças e a conseqüente necessidade de se obter dados em diferentes localidades, justifica-se pela grande variação de características

de cada região produtora, existindo desde diferenças climáticas e de variedades cultivadas, até de nutrição do canavial, tipo de solo, época de cultivo, forma de colheita, dentre outros. Sendo assim, apesar de terem passado 32 anos da publicação do estudo realizado por Terán (1979), a observação de que ainda era preciso acumular maiores dados para descobrir as causas dessas variações permanece atual.

Os diversos fatores que afetam a dinâmica populacional de *D. saccharalis* na cultura da cana-de-açúcar, têm sido objeto de estudo em pesquisas que, nas últimas décadas, promoveram grandes avanços neste tema. Diversos autores que estudaram a dinâmica populacional de ovos de *D. saccharalis* e o parasitismo natural por *T. galloi* relataram que ambos são dependentes da fenologia da cultura e da variedade cultivada (CUEVA, 1979; MICHELETTI, 1987). A fenologia da cultura apresenta grande influência na dinâmica populacional de *D. saccharalis*, uma vez que com o crescimento da cultura, além de aumentar a massa verde que sustenta a população da praga, modifica o microclima do cultivo com o fechamento das plantas, promovendo condições de umidade ideal para o desenvolvimento da praga.

Em estudo sobre a dinâmica populacional de *D. saccharalis* em cana-de-açúcar, Lopes (1988) observou as primeiras posturas em plantas de 40 a 50 dias de idade. O mesmo autor relatou que a dinâmica populacional de *D. saccharalis* foi muito mais correlacionada com a fenologia da cultura do que com parâmetros climáticos. Lopes (1988) ainda observou que o pico de oviposição coincide com a terceira geração da praga, que corresponde a plantas com idade de 9 a 10 meses.

Na cultura da cana-de-açúcar são definidas quatro fases de desenvolvimento ou estágios fenológicos. O primeiro estágio é caracterizado pela brotação e emergência dos colmos primários, que corresponde ao período de 20 a 40 dias após o plantio (GASCHO; SHIH, 1983; SEGATO; MATTIUZ; MOZAMBANI, 2006). O segundo estágio fenológico é caracterizado pelo perfilhamento dos colmos primários e estabelecimento da cultura e o terceiro, por intenso crescimento e máximo perfilhamento. No quarto estágio, denominado maturação, ocorre grande concentração de sacarose a partir da base dos colmos (GASCHO; SHIH, 1983; SEGATO; MATTIUZ; MOZAMBANI, 2006).

O tempo decorrido entre o plantio e a colheita da cultura é variável de acordo com a época do plantio. Na região Centro-Sul do Brasil, o cultivo de cana-de-açúcar é normalmente realizado em duas épocas do ano (SEGATO; MATTIUZ;

MOZAMBANI, 2006). Na primeira época, também conhecida como cana de ano, o plantio é realizado entre os meses de setembro e novembro, no início da estação chuvosa, condições nas quais a cultura apresenta ciclo de aproximadamente 12 meses (GASCHO; SHIH, 1983; SEGATO; MATTIUZ; MOZAMBANI, 2006). Já na segunda época, também denominada de cana de ano e meio, o plantio é realizado do mês de janeiro a início de abril, no meio da estação chuvosa. Sendo assim, a cultura passa em repouso a primeira estação de inverno e é colhida na segunda estação, apresentando um ciclo variável de quatorze a vinte e um meses (GASCHO; SHIH, 1983; SEGATO; MATTIUZ; MOZAMBANI, 2006).

No estado de São Paulo, em áreas plantadas nos meses de setembro-outubro (cana de ano), os problemas se acentuam no início do ano seguinte e são crescentes até o começo do inverno (junho-julho) (MACEDO; MACEDO, 2004). Quando o plantio é realizado nos primeiros meses do ano (cana de ano e meio), a ocorrência de lagartas é mais frequente no início da primavera (setembro-outubro), atingindo os mais altos índices no começo do ano seguinte, coincidente com o verão nessa região (MACEDO; MACEDO, 2004).

Em certas variedades, regiões ou anos, porém, o ataque é quase constante ao longo do ano, com ligeira queda no inverno e aumento nos períodos quentes e úmidos (final e começo de ano, na região Centro-Oeste) (MACEDO; MACEDO, 2004). Em estudo realizado por Walder (1976), foi observado que *D. saccharalis* desenvolveu quatro gerações ao longo do ano, sendo a primeira nos meses de outubro e novembro, a segunda nos meses de dezembro e janeiro, a terceira em fevereiro e março e a quarta em abril e maio. Os mesmos autores relataram que parte das lagartas pertencentes à última geração entraram em diapausa e que os fatores climáticos foram os que mais afetaram a flutuação populacional desta praga.

No Brasil, os primeiros estudos sobre monitoramento populacional de *D. saccharalis* foram realizados na década de 1960, amostrando adultos da broca-da-cana-de-açúcar com armadilhas luminosas (GALLO et al., 1964; SILVEIRA-NETO; CARVALHO; PARANHOS, 1968). De acordo com Botelho; Magrini; Silveira-Neto (1993), em levantamento realizado com armadilhas contendo fêmeas virgens durante 14 anos no município de Araras-SP, foram observados dois picos de ocorrência, nos meses de setembro e fevereiro, assim como observou-se a menor ocorrência no mês de junho, coincidente com baixas temperaturas e o início do inverno. Utilizando armadilhas de feromônio sexual, Terán (1979) relatou picos de

captura de machos adultos nos meses de setembro a dezembro, mesmos meses em que Gallo et al. (1964) e Silveira-Neto, Carvalho e Paranhos (1968), observaram picos de captura de adultos de *D. saccharalis* em armadilhas luminosas. Terán (1979) observou grande variação na captura de machos em função do número de fêmeas utilizadas por armadilha; sendo assim, deve ser ressaltada a grande importância de se padronizar o número de fêmeas utilizadas nas armadilhas em levantamentos populacionais de *D. saccharalis*.

O uso de armadilhas para amostragens de adultos de *D. saccharalis* é uma técnica que vem sendo estudada na cultura da cana-de-açúcar ao longo de décadas (GALLO et al., 1964; RISCO et al., 1975; BOTELHO et al., 1977). Utilizando armadilhas luminosas no levantamento populacional de *D. saccharalis*, Mendes et al. (1976) correlacionaram a coleta de adultos e intensidade de infestação, encontrando correlação positiva entre estes dois fatores.

O uso de armadilhas luminosas e armadilhas de feromônio para o monitoramento de adultos do hospedeiro tem possibilitado o planejamento das liberações de *Trichogramma* para o controle de diversas pragas (WITZ et al., 1985; SMITH; HUBBES; CARROW, 1986). Ao longo dessas décadas foram realizados estudos com armadilhas luminosas e de fêmeas virgens, sendo que atualmente, as armadilhas contendo fêmeas virgens são as mais utilizadas para amostrar machos adultos de *D. saccharalis*. Entretanto, parâmetros relevantes ao uso destas armadilhas não foram completamente esclarecidos, tais como a distância ideal entre as armadilhas.

Dentre os fatores que afetam a dinâmica populacional de *D. saccharalis*, destaca-se a realização de cortes anteriores, ou seja, se a área é composta por canas plantas ou soqueiras. De acordo com Parra, Zucchi e Silveira-Neto (1987) e Macedo e Botelho (1988b), as canas plantas sofrem um maior ataque de *D. saccharalis* do que as soqueiras por apresentarem maior vigor vegetativo, por permanecerem mais tempo expostas à pragas e pelo complexo de inimigos naturais ser mais reduzido, devido às práticas culturais realizadas com vistas à instalação da lavoura. Outros autores relataram influência de fatores climáticos (BOTELHO et al., 1977), composição vegetal de áreas vizinhas e anos climaticamente distintos (Terán, 1979). Os fatores climáticos são determinantes na flutuação populacional de *D. saccharalis* e de acordo com Terán (1979), são, sem dúvida, os fatores que mais modificam essas flutuações populacionais de *D. saccharalis*.

Após dois anos de levantamentos populacionais no estado de São Paulo, Terán (1979) constatou que a flutuação de adultos de *D. saccharalis* correlacionou-se com temperatura e precipitação pluviométrica, atribuindo aos anos climaticamente atípicos a quantidade total de machos coletados ao longo do ano, assim como os meses que apresentaram picos de coleta. Em contrapartida, estudos realizados por Micheletti (1987) indicaram que não houve correlação da flutuação de ovos de *D. saccharalis* e parâmetros climáticos (temperatura, umidade relativa e precipitação pluviométrica).

Além da dinâmica populacional de *D. saccharalis*, é de fundamental importância compreender a flutuação populacional de seu parasitoide, *T. galloi*. Inicialmente, os estudos relacionados ao parasitismo natural de *T. galloi* utilizaram ovos de *D. saccharalis* depositados em folhas de papel e posteriormente levados ao campo, observando valores de parasitismo natural inferiores a 5% (MACEDO; BOTELHO; MENDES, 1978; TERÁN, 1980; DEGASPARI et al., 1987). Entretanto, Degaspari et al. (1987) concluíram que esta técnica provavelmente afetava o parasitismo natural de *T. galloi*, levando a observação de baixos índices de parasitismo. Após desenvolver uma técnica que permitiu a realização de posturas diretamente nas folhas das plantas de cana-de-açúcar, Micheletti (1987) observou taxas de parasitismo natural de ovos de *D. saccharalis* próximas a 80%.

Nesse sentido, destaca-se os estudos realizados por Magrini (1988), que ao comparar diferentes tipos de papel com a folha de cana-de-açúcar, indicaram este último substrato como o único adequado para a obtenção de ovos de *D. saccharalis* visando aos estudos de campo com parasitoides do gênero *Trichogramma*. Tais considerações basearam-se no grande ressecamento dos ovos provocado por todos os tipos de papel avaliados.

Posteriormente, em estudo realizado por Parra et al. (1999), comprovou-se por meio de microscopia eletrônica o grande número de aerópilas presentes em ovos de *D. saccharalis*, assim como o consequente ressecamento de ovos depositados em papel.

O sucesso na utilização de *Trichogramma* em liberações inundativas depende de uma coincidência temporal, espacial e numérica entre o hospedeiro e o parasitoide (LOPES, 1988). Tendo em vista o longo ciclo da cultura da cana-de-açúcar, ocorrem normalmente quatro gerações de *D. saccharalis* (MÉLO; PARRA, 1988). De acordo com Lopes (1988), o aumento do parasitismo por *T. galloi*

acompanhou o crescimento populacional da broca da cana-de-açúcar e que o pico de parasitismo ocorre na terceira ou quarta geração da praga, quando já houve o "fechamento" da cultura.

Entretanto, devido às recentes alterações climáticas, envolvendo o aquecimento global, abre-se a possibilidade de que um maior número de gerações possam se desenvolver ao decorrer do ciclo da cultura.

A variedade utilizada no cultivo da cana-de-açúcar é outro fator importante na dinâmica populacional dos parasitoides de *D. saccharalis*. As diferentes variedades disponíveis no mercado apresentam, dentre outras diferenças, taxas de crescimento e arquiteturas distintas. Desta forma, diferentes cultivares propiciam microclimas mais ou menos adequados à atuação de parasitoides e em fases diferentes da fenologia da planta. Diversos autores relatam o efeito varietal e associam o fechamento da cultura e a criação das condições de umidade adequadas ao desenvolvimento dos ovos de *D. saccharalis* e consequentemente de seu parasitoide *T. galloi*, a maiores taxas de parasitismo natural (BOTELHO, 1985; ALMEIDA; PARRA, 1987; MICHELETTI, 1987).

A tomada de decisão quanto ao momento e frequência das liberações são determinadas pela fenologia do hospedeiro, especialmente a densidade de ovos da praga. Sendo assim, a ocorrência dos ovos do hospedeiro deve ser regularmente avaliada, para que as liberações de parasitoides do gênero *Trichogramma* sejam realizadas em coincidência com os primeiros ovos da praga (SMITH; HUBBES; CARROW, 1986; VOEGELÉ, 1988). Em levantamento populacional de *D. saccharalis*, Botelho (1985) e Micheletti (1987), relataram predominância de posturas nos meses de janeiro a março para os municípios paulistas de Araras e Iracemápolis. Quanto à quantidade de ovos depositados por postura em condições de campo, existe uma grande variação nos valores observados por diferentes autores, variando de 5 a 50 ovos por postura, em um total de 300 ovos em média por fêmea (PINTO et al., 2003).

Os inimigos naturais de *D. saccharalis*, especialmente os predadores e parasitoides de ovos, contribuem decisivamente para o controle desta praga na cultura da cana-de-açúcar (DEGASPARI et al., 1987). O parasitismo de ovos de *Diatraea* sp. por *Trichogramma* sp. é citado por vários autores em diferentes países, como um dos principais agentes de controle (DEGASPARI et al., 1987). Os artrópodes exercem importante papel no controle natural de *D. saccharalis*, agindo

sobre todas as fases de desenvolvimento. No entanto, a participação mais significativa ocorre na fase de ovo. Nesse caso, os predadores, parasitoides e patógenos efetuam um eficiente controle, muitas vezes superior a 80% (MACEDO; MACEDO, 2004).

De acordo com Knipling (1977), o desenvolvimento da cultura é o principal fator a influenciar a eficiência e dinâmica populacional de espécies do gênero *Trichogramma*. Em estudo realizado ao longo de dois anos no município de Iracemápolis-SP, Micheletti (1987) observou as maiores taxas de parasitismo de 7 a 12 meses após o plantio, destacando que o mesmo foi observado em áreas de cana soca.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Criação estoque de *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794)

Os ovos de *D. saccharalis* foram obtidos da criação do Laboratório de Biologia de Insetos (Departamento de Entomologia e Acarologia - LEA; ESALQ/USP), mantidos em dieta artificial de Hensley; Hammond (1968) - modificada (Tabela 1). Quatro lagartas provenientes destes ovos foram “inoculadas”, em dieta artificial merídica e axênica (Tabela 1), colocadas em tubos de vidro (25 mm de diâmetro por 85 mm de altura). Os tubos, contendo as lagartas “inoculadas” em dieta artificial, foram mantidos em sala regulada a $25 \pm 3^{\circ}\text{C}$, UR de $70 \pm 10\%$ e fotofase de 14 horas até a obtenção das pupas.

Com o auxílio de uma pinça devidamente esterilizada, as pupas foram retiradas dos tubos e lavadas em água corrente para a retirada do excesso de dieta aderido às mesmas. Imediatamente após a lavagem, as pupas de ambos os sexos foram acondicionadas em gaiolas de emergência, constituídas por um tubo de PVC (10 cm de diâmetro por 20 cm de altura) com uma placa de Petri (15 cm de diâmetro) forrada com papel filtro na parte de baixo do tubo e outra na parte de cima, utilizada como tampa. Os tubos estavam forrados com folhas de papel do tipo ofício (21,5 cm de largura por 31,5 cm de comprimento) onde foram realizadas as posturas. As folhas foram trocadas e umedecidas diariamente.

Os ovos obtidos foram tratados com solução de sulfato de cobre e água a 1% e colocados em placas de Petri (15 cm de diâmetro) forradas com papel filtro umedecido. As placas com os ovos foram mantidos em sala climatizada regulada a $25 \pm 3^{\circ}\text{C}$, UR de $70 \pm 10\%$ e fotofase de 14 horas. As lagartas obtidas desses ovos foram “inoculadas” em número de quatro lagartas por tubo de vidro (25 mm de diâmetro por 85 mm de altura) contendo dieta artificial (Tabela 1), para dar continuidade à criação.

Tabela 1 - Composição da dieta artificial utilizada na criação de *D. saccharalis* [HENSLEY; HAMMOND (1968) - modificada]

Componentes	Quantidade
Farelo-de-soja	54,00g
Germe-de-trigo	15,00g
Açúcar	52,50g
Sais-de-Wesson	7,50g
Ácido ascórbico	1,90g
Cloreto-de-colina	0,40g
Vita Gold®	0,40mL
Solução vitamínica*	11,30mL
Formaldeído (37,2%)	0,75mL
Tetraciclina	0,13g
Metilparahidroxibenzoato (nipagin)	3,00g
Ágar	13,00g
Água destilada	900mL
*Solução Vitamínica	
Niacinamida	1,00g
Pantotenato de cálcio	1,00g
Riboflavina	0,50g
Tiamina	0,25g
Piridoxina	0,25g
Biotina	0,02mg
Vitamina B12 (1000 mg/mL)	2,00mL

3.2 Experimentos de laboratório

Os experimentos foram realizados no Laboratório de Biologia de Insetos do Departamento de Entomologia e Acarologia (LEA) da ESALQ/USP.

3.2.1 Influência da temperatura no desenvolvimento e reprodução de *D. saccharalis*

Foram realizados quatro experimentos com diferentes combinações de temperatura ao longo do ciclo biológico de *D. saccharalis* (Figura 2). No primeiro experimento, foram utilizadas sete temperaturas constantes ao longo de todo ciclo de *D. saccharalis*, sendo elas, 18, 20, 22, 25, 28, 30 e 32°C (Figura 2).

A partir dos dados originados do primeiro experimento (item 3.2.2), foi selecionada uma temperatura para o desenvolvimento larval de *D. saccharalis*. A escolha da temperatura levou em consideração o período de desenvolvimento, a viabilidade e o peso de pupas.

No segundo experimento (item 3.2.3), as lagartas desenvolveram-se a 30°C e logo após a formação das pupas foram distribuídas nas temperaturas de 18, 20, 22, 25, 28, 30 e 32°C para o desenvolvimento pupal e reprodução (Figura 2).

No terceiro experimento (item 3.2.4), lagartas e pupas se desenvolveram a 30°C e apenas após a emergência dos adultos eles foram distribuídos em diferentes temperaturas (Figura 2).

No quarto e último experimento (item 3.2.5), grupos de lagartas e pupas se desenvolveram em diferentes temperaturas constantes, sendo elas, 18, 20, 22, 25, 28, 30 e 32°C e logo após a emergência foram transferidas para câmaras climatizadas ajustadas a 22 e 25°C para reprodução (Figura 2). As temperaturas utilizadas para a fase reprodutiva de *D. saccharalis*, neste último experimento foram baseadas nos resultados obtidos nos itens 4.1.1, 4.1.2, 4.1.3.

Figura 2 - Esquema experimental do uso de diferentes temperaturas (°C) no desenvolvimento e reprodução de *D. saccharalis*

3.2.2 Desenvolvimento e reprodução de *D. saccharalis* em diferentes temperaturas constantes

Os estudos foram conduzidos nas temperaturas de 18, 20, 22, 25, 28, 30 e 32°C. Para o desenvolvimento embrionário foram utilizadas cinco repetições por temperatura, sendo que cada repetição constituiu-se de, aproximadamente 200 ovos de *D. saccharalis*, contados com o auxílio de um microscópio estereoscópico quando as cápsulas cefálicas eram visíveis. Para a fase larval foram utilizadas 100 repetições por temperatura, constituídas por uma lagarta recém eclodida de *D. saccharalis* "inoculada" em dieta artificial (Tabela 1) colocada em um tubo de vidro de 25 mm de diâmetro e 85 mm de altura.

O número de repetições utilizadas para a fase pupal variou de acordo com a viabilidade da fase larval de cada tratamento, ou seja, todos os tratamentos foram iniciados com 100 lagartas; assim, o número de pupas utilizadas variou de acordo com o número de lagartas que completaram seu desenvolvimento em cada temperatura. Sendo assim, foram utilizadas 73, 77, 83, 88, 93, 94 e 68 pupas, respectivamente, nas temperaturas de 18, 20, 22, 25, 28, 30 e 32°C.

As avaliações foram realizadas diariamente observando-se o período de desenvolvimento e viabilidade das fases embrionária, larval e pupal. As pupas formadas em cada tratamento foram individualizadas em copos de material plástico de 50 mL e mantidas na mesma temperatura até completarem seu desenvolvimento. Quarenta e oito horas após a formação, cada pupa foi pesada e separada por sexo, voltando ao copo de material plástico devidamente identificado, onde foi mantida até a emergência. Com os adultos oriundos de cada temperatura foram formados 25 casais por tratamento, exceto a 32°C, que devido à baixa viabilidade do período larval, permitiu a formação de apenas 18 casais. Os insetos foram mantidos em gaiolas de PVC (10 cm de diâmetro por 20 cm de altura), forradas com papel do tipo ofício (21,5 cm de largura por 31,5 cm de comprimento), com uma placa de Petri (15 cm de diâmetro) forrada com papel filtro na parte de baixo do tubo e fechadas em sua parte superior com tecido "voile", preso com o auxílio de elásticos.

As posturas foram coletadas diariamente, contadas e sua viabilidade avaliada. Para tanto, os ovos foram mantidos em placas de Petri (15 cm de diâmetro) forradas com papel filtro e umedecidos diariamente até a eclosão das lagartas. O umedecimento diário faz-se necessário devido ao grande número de aerópilas

existentes nos ovos de *D. saccharalis* (PARRA et al., 1999). O delineamento experimental e as análises estatísticas aplicadas aos dados estão descritas no item 3.2.1.5.

3.2.3 Efeito da alternância de temperatura, após o desenvolvimento larval, no desenvolvimento pupal e reprodução de *D. saccharalis*

Foi avaliado o efeito da alternância da temperatura após o desenvolvimento larval de *D. saccharalis*. Durante o desenvolvimento larval foi utilizada a temperatura de 30°C (Figura 2), iniciando-se o experimento com 700 repetições. Cada repetição foi constituída de um tubo de vidro (25 mm de diâmetro por 85 mm de altura), contendo dieta artificial (Tabela 1), onde foi “inoculada” uma lagarta recém eclodida de *D. saccharalis*. As lagartas foram mantidas nos tubos de vidro até completarem o desenvolvimento larval. Foram realizadas avaliações diárias e as pupas formadas em um mesmo dia foram distribuídas em números iguais em cada temperatura estudada, sendo tais temperaturas as de 18, 20, 22, 25, 28, 30 e 32°C.

As pupas obtidas foram individualizadas em copos de material plástico de 50 mL sobre bandejas forradas com papel filtro, onde foram mantidas até a emergência. Para o desenvolvimento pupal foram utilizadas 91, 92, 93, 94, 94, 89 e 79 pupas, respectivamente, nas temperaturas de 18, 20, 22, 25, 28, 30 e 32°C.

Foram formados 25 casais mantidos em gaiolas de PVC (10 cm de diâmetro por 20 cm de altura), forradas com papel do tipo ofício (21,5 cm de largura por 31,5 cm de comprimento), com uma placa de Petri (15 cm de diâmetro) forrada com papel filtro na parte de baixo do tubo e fechadas em sua parte superior com tecido "voile", preso com o auxílio de elásticos. Na temperatura de 32°C foram formados 19 casais.

Diariamente, as posturas foram coletadas e os ovos mantidos em placas de Petri forradas com papel filtro umedecidos para serem posteriormente contados. O delineamento experimental e as análises estatísticas aplicadas aos dados estão descritas no item 3.2.1.5.

3.2.4 Efeito da alternância de temperatura, após o desenvolvimento pupal, na reprodução de *D. saccharalis*

Foi avaliado o efeito da alternância da temperatura após o desenvolvimento pupal de *D. saccharalis*. Os desenvolvimentos larval e pupal se deram na temperatura de 30°C. Foram utilizadas 700 repetições, sendo estas constituídas por uma lagarta recém eclodida de *D. saccharalis* “inoculada” em dieta artificial (Tabela 1) em um tubo de vidro (25 mm de diâmetro por 85 mm de altura).

As lagartas foram mantidas nos tubos até a formação das pupas, quando foram individualizadas em copos de 50 mL, feitos de material plástico, sobre bandejas forradas com papel filtro umedecido diariamente até a emergência. Com os adultos obtidos foram formados 25 casais por temperatura, sendo que, foram utilizadas as temperaturas de 18, 20, 22, 25, 28, 30 e 32°C. Os casais foram mantidos em gaiolas de PVC (20 cm de altura por 10 cm de diâmetro) fechadas em sua parte inferior por placas de Petri (15 cm de diâmetro) e em sua parte superior por tecido "voile" preso com o auxílio de elásticos. Diariamente, as posturas foram coletadas e os ovos foram mantidos em placas de Petri forradas com papel filtro umedecido, para que fossem posteriormente contados.

O delineamento experimental e as análises estatísticas aplicadas aos dados estão descritas no item 3.2.1.5.

3.2.5 Efeito da temperatura utilizada no desenvolvimento larval e pupal de *D. saccharalis* em seus parâmetros reprodutivos a 22 e 25°C

Foram avaliados parâmetros reprodutivos tais como razão sexual, período de realização de posturas e longevidade nas temperaturas de 22 e 25°C, de fêmeas de *D. saccharalis* que completaram seu desenvolvimento em diferentes temperaturas constantes. O desenvolvimento larval e pupal ocorreram em diferentes temperaturas, sendo elas 18, 20, 22, 25, 28, 30 e 32 °C. Foram utilizadas 150 repetições por temperatura, cada uma delas representada por uma lagarta recém eclodida de *D. saccharalis* “inoculada” em dieta artificial (Tabela 1) contida em um tubo de vidro (25 mm de diâmetro por 85 mm de altura).

As lagartas foram mantidas nos tubos até a formação das pupas, quando foram individualizadas em copos de 50 mL feitos de material plástico, sobre

bandejas forradas com papel filtro, umedecido diariamente até a emergência. Com os adultos obtidos de cada temperatura foram formados 40 casais, sendo 20 acondicionados a 22 °C e os demais a 25 °C. Os casais foram mantidos em gaiolas de PVC (20 cm de altura por 10 cm de diâmetro) fechadas na parte de baixo por uma placa de Petri (15 cm de diâmetro) e na parte de cima por tecido "voile" preso com o auxílio de elásticos.

As posturas foram coletadas diariamente e os ovos mantidos em placas de Petri forradas com papel filtro umedecido, para que fossem posteriormente contados.

3.2.6 Análises estatísticas

Os experimentos descritos nos itens 3.2.1; 3.2.2; 3.2.3 e 3.2.4 foram conduzidos em delineamento inteiramente casualizado.

Apenas no item 3.2.1.1 foram realizadas análise de regressão para os períodos de desenvolvimento embrionário, larval e pupal. A temperatura base e as exigências térmicas foram determinadas por meio do método da hipérbole para as fases de ovo, lagarta, pupa e ovo-adulto, descrito em Haddad e Parra (1984).

Nos demais itens, os dados obtidos para as durações das fases larval e pupal de *D. saccharalis*, assim como, a viabilidade dos períodos embrionário, larval e pupal, peso de pupas e duração do período de postura e viabilidade de posturas, foram submetidos aos testes de normalidade Shapiro-Wilk e Kolmogorov-Smirnov. Quando foi detectada distribuição normal nos testes de normalidade utilizados, foi realizado o teste de Tukey (5% de probabilidade). Quando apenas um dos testes de normalidade utilizados, indicasse que o conjunto de dados avaliados não possuía distribuição normal, aplicou-se a transformação para a escala logarítmica (log na base 10) para a normalização dos dados e aplicou-se o teste de Tukey (5% de probabilidade) para comparação das médias.

O crescimento populacional foi estimado a partir da tabela de vida de fertilidade, utilizando-se os seguintes parâmetros: taxa líquida de reprodução (R_0), taxa intrínseca de aumento (r_m), intervalo médio entre gerações (T), razão finita de crescimento (λ) e tempo necessário para que a população duplique em número (TD) (MAIA; LUIZ, 2006). O procedimento JackKnife foi utilizado para calcular a variância dos parâmetros obtidos, aplicando-se teste t - Student (MAIA; LUIZ, 2006).

Para a análise da longevidade de *D. saccharalis*, foi elaborado um modelo de sobrevivência considerando a distribuição de Weibull. As estimativas dos parâmetros de forma ($\hat{a}$) e de escala (b) foram obtidas pelo método dos quadrados mínimos, após a linearização do modelo de Weibull, em que: $\ln$ = logaritmo neperiano; (P_x) = probabilidade de sobrevivência; x = tempo (dias); $\hat{a} = B$ e $b = e^{-A/B}$. A longevidade média (l_m) foi estimada através dos parâmetros $\hat{a}$ e b com a utilização da função gama. Os dados foram analisados através do programa MOBAE (HADDAD; MORAES; PARRA, 1995).

Realizaram-se análises de agrupamento ("cluster analysis"), utilizando-se o programa *Statistica*, sendo a mínima distância euclidiana considerada, indicada por uma seta nos dendogramas gerados. Para a escolha da temperatura de criação de lagartas, foram considerados os parâmetros duração e viabilidade da fase larval e peso das pupas. Quando avaliou-se a reprodução foram utilizados os parâmetros taxa líquida de reprodução (R_0), taxa intrínseca de aumento (r_m) e razão finita de crescimento (λ). A mínima distância euclidiana considerada foi definida arbitrariamente.

3.2.7 Desenvolvimento e reprodução de *D. saccharalis* criada em diferentes densidades e regimes térmicos

Levando-se em consideração que, nos experimentos descritos no item 3.2.1, buscou-se isolar o efeito da temperatura na biologia de *D. saccharalis*, foi "inoculada" apenas uma lagarta por tubo. Para saber se os modelos propostos teriam resultados diferentes em criações massais, comparou-se o desenvolvimento e reprodução de *D. saccharalis* criada de forma isolada e em alta densidade de lagartas.

De acordo com os resultados obtidos para viabilidade, período de desenvolvimento e reprodução nos experimentos descritos no item 3.2.1, foram selecionados 4 regimes térmicos para criação de *D. saccharalis* que mantiveram altas taxas reprodutivas concomitante a um rápido desenvolvimento e alta viabilidade das diferentes fases do ciclo biológico de *D. saccharalis*, sendo eles: a) Desenvolvimento e reprodução a 28°C; b) Desenvolvimento a 28°C e reprodução a 25°C; c) Desenvolvimento larval a 30°C e desenvolvimento pupal e reprodução a

25°C e d) Desenvolvimento larval a 30°C e desenvolvimento pupal e reprodução a 22°C.

Lagartas recém eclodidas de *D. saccharalis* da criação estoque foram “inoculadas” individualmente em tubos (25 x 80mm), sendo 100 tubos por tratamento, e também foram “inoculadas” em frascos maiores (500 mL) em grupos de 250 lagartas por frasco, sendo 8 frascos por tratamento.

As pupas oriundas das lagartas “inoculadas” de forma individual nos tubos de 25 x 80 mm foram pesadas, identificadas por sexo, individualizadas em copos plásticos de 50 mL e mantidas sobre bandejas forradas com papel filtro, umedecido diariamente, até a emergência.

As lagartas remanescentes daquelas “inoculadas” em grupos de 250 indivíduos foram transferidas para dieta de realimentação em placas de Petri (10 cm de diâmetro) e mantidas até a formação das pupas. A transferência ocorreu quinze dias após a eclosão das lagartas dos tratamentos C e D e dezessete dias após a eclosão das lagartas dos tratamentos A e B, quando as lagartas de todos os tratamentos estariam com 258 GD e em fase apta à transferência para placas de Petri contendo dieta de realimentação de acordo com o modelo de exigências térmicas proposto no item 4.1.1. As pupas obtidas foram distribuídas nas temperaturas correspondentes a cada tratamento e individualizadas em copos plásticos de 50 mL mantidas sobre bandejas forradas com papel filtro umedecido diariamente. Quarenta e oito horas após a formação das pupas foi realizada a pesagem e identificação por sexo.

Com os adultos de *D. saccharalis* obtidos, foram formados 25 casais por tratamento. Os casais foram mantidos em gaiolas de PVC (20 cm de altura por 10 cm de diâmetro) fechadas em sua parte inferior por placas de Petri (15 cm de diâmetro) e em sua parte superior por tecido "voile" presos com o auxílio de elásticos. As posturas foram coletadas diariamente e os ovos mantidos em placas de Petri forradas com papel filtro umedecido, para posterior contagem dos ovos.

O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado. Os dados referentes à viabilidade e desenvolvimento larval e pupal, assim como, a duração do período de postura e viabilidade de posturas, foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey (5 % de probabilidade).

O crescimento populacional foi estimado a partir da tabela de vida de fertilidade, utilizando os parâmetros taxa líquida de reprodução (R_0), taxa intrínseca de aumento (r_m), intervalo médio entre gerações (T), razão finita de crescimento (λ) e tempo necessário para que a população duplique em número (TD) (MAIA; LUIZ, 2006). O procedimento JackKnife foi utilizado para calcular a variância dos parâmetros obtidos (MAIA; LUIZ, 2006).

Para a análise da longevidade de *D. saccharalis*, foi elaborado um modelo de sobrevivência considerando a distribuição de Weibull. As estimativas dos parâmetros de forma ($\hat{a}$) e de escala (b) foram obtidas pelo método dos quadrados mínimos, após a linearização do modelo de Weibull, em que: $\ln$ = logaritmo neperiano; (P_x) = probabilidade de sobrevivência; x = tempo (dias); $\hat{a} = B$ e $b = e^{-A/B}$. A longevidade média (lm) foi estimada através dos parâmetros $\hat{a}$ e b com a utilização da função gama. Os dados foram analisados através do programa MOBAE (HADDAD; MORAES; PARRA, 1995).

Foram realizadas análises de agrupamento ("cluster analysis"), utilizando-se o programa *Statística*, sendo a mínima distância euclidiana considerada, indicada por uma seta nos dendogramas gerados.

3.3 Experimentos em semi-campo

3.3.1 Efeito da temperatura na biologia de *D. saccharalis* em plantas de cana-de-açúcar

Os estudos foram conduzidos em câmaras climatizadas ajustadas a 20, 22, 25, 28 e 30°C, sendo utilizadas 20 plantas por tratamento. Foram selecionadas mudas de até 1 metro de altura, retiradas do campo e transplantadas para vasos de 10L contendo terra preparada (60% latossolo vermelho escuro, 40% substrato comercial Plantmax). As mudas recém transplantadas foram mantidas em casa de vegetação por uma semana para que fosse verificado o "pegamento" das mesmas. Após esse período, 20 mudas foram selecionadas, vistoriadas quanto à presença de outros insetos, limpas, desbastadas de suas folhas secas e transferidas para a câmara climatizada.

Após 24 horas da instalação do experimento, com o auxílio de uma pequena gaiola, uma fêmea acasalada de *D. saccharalis*, proveniente da criação

estoque em dieta artificial, foi mantida por planta para que fosse realizada a postura. A fim de se evitar a postura em excesso, foram utilizadas no experimento fêmeas com mais de 72 horas de vida, que realizam posturas menores que as mais jovens (PINTO et al., 2003). Logo após a realização da postura, a fêmea e a gaiola foram retiradas e os ovos contados. Foram determinadas as exigências térmicas para as fases de ovo, larva, pupa e para o ciclo ovo-adulto de *D. saccharalis* em plantas de cana-de-açúcar (HADDAD; PARRA, 1984), com o intuito de verificar se o modelo determinado em plantas de cana-de-açúcar se ajustava aos dados de dinâmica populacional da praga em condições de campo (itens 3.4.1.1; 3.4.1.2; 3.4.1.3). Tal estudo servirá para a previsão de ocorrência das diferentes fases do desenvolvimento da praga, com vistas ao controle biológico da broca da cana-de-açúcar. Com base nas exigências térmicas será possível prever o momento mais adequado para a liberação de *T. galloi* e *C. flavipes*, visando respectivamente, aos ovos e lagartas de *D. saccharalis*.

O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado. Os dados referentes à viabilidade dos ovos, das lagartas e pupas foram submetidos ao teste de Tukey (5% de probabilidade). A temperatura base e as exigências térmicas foram determinadas por meio do método da hipérbole, descrito em Haddad e Parra (1984).

3.4 Experimentos de campo

3.4.1 Flutuação populacional de *D. saccharalis* em cana-de-açúcar

Em área de cultivo de cana-de-açúcar pertencente à Usina Rio Brilhante, localizada no município de Rio Brilhante (MS) (21°48'07" Sul e 44°32'47" Oeste), foram realizadas amostragens de ovos, lagartas, pupas e adultos de *D. saccharalis*, sendo iniciadas a partir do aparecimento das primeiras folhas e terminadas no momento da colheita. As coletas ocorreram de 25 de outubro de 2002 a 30 de junho de 2003.

Devido a instalação da estação meteorológica no município de Rio Brilhante (MS) ter ocorrido no ano de 2006, os dados meteorológicos utilizados referem-se à estação meteorológica automática da Embrapa Agropecuária Oeste, localizada a 60 km da Usina Rio Brilhante, no município de Dourados (MS) (22°16'30.70" Sul e

54°49'5.65" Oeste), disponíveis no endereço eletrônico <http://www.cpao.embrapa.br/clima>.

3.4.1.1 Amostragens de posturas de *D. saccharalis*

As amostragens de posturas foram realizadas semanalmente em cinco pontos ao acaso em cada área experimental. Em cada ponto de amostragem foram avaliados cinco metros de plantas na linha de plantio da seguinte forma: partindo do carreador, entravam-se 10 metros dentro do canavial (seguindo a linha de plantio) e avaliava-se o primeiro metro linear de plantas; andavam-se mais 10 metros e avaliava-se outro metro linear e assim por diante até completar cinco metros lineares. Terminando uma amostragem, caminhava-se ao redor da área e, ao acaso, escolhia-se outro ponto de amostragem onde era repetida a metodologia anterior. Esse sistema foi repetido até completar cinco pontos amostrais.

Durante as avaliações foram observadas todas as plantas do metro linear procurando posturas de *D. saccharalis*. Quando encontradas, as posturas eram contadas, com o auxílio de um plástico quadriculado (LOPES, 1988) e coletadas aderidas as plantas, ou seja, recortando-se a porção vegetal na qual estava a postura. Elas eram acondicionadas em sacos plásticos e levadas ao laboratório. No laboratório, as posturas foram colocadas em caixas plásticas (9 cm de diâmetro x 2 cm de altura) e mantidas em temperatura de 25°C, UR de 70% e fotofase de 14 horas. Após 5 dias, as posturas foram novamente analisadas para quantificação dos ovos parasitados e dos ovos não parasitados. As amostragens de ovos tiveram início em outubro e terminaram em março; nos meses de abril, maio e junho foram realizadas apenas amostragens de adultos e lagartas que já haviam adentrado no colmo e amostradas pupas.

3.4.1.2 Amostragens de lagartas e pupas de *D. saccharalis*

Lagartas recém eclodidas foram amostradas na parte externa da planta; lagartas que já haviam penetrado no colmo também foram amostradas e separadas em menores e maiores que 1,5 cm e foram também amostradas pupas. Para as lagartas recém-eclodidas, foram realizadas amostragens semanais da mesma forma que em 3.4.1.1, ou seja, foram avaliadas as canas de cinco pontos amostrais, sendo

que cada ponto era constituído de cinco metros lineares de planta espaçados de 10 em 10 metros.

Para a contagem do número de lagartas recém-eclodidas, em cada metro linear de amostragem foram observados os entrenós na região da primeira bainha que estava afastada do colmo. Neste local, foi contado o número de lagartas recém-eclodidas e/ou o número de orifícios de entrada no entrenó.

Para a amostragem das lagartas que já tivessem perfurado o colmo e amostragem das pupas, quinzenalmente foram coletados 100 colmos ao acaso em cada área experimental. Os colmos foram abertos com o auxílio de um facão e foi contado o número de internódios total, o número de internódios broqueados, o número de lagartas e o número de pupas, assim como o número de lagartas mortas devido a parasitoides. Nos meses de abril, maio e junho foram amostradas apenas lagartas que já haviam penetrado o colmo, além de pupas.

3.4.1.3 Amostragem de machos adultos de *D. saccharalis*

Para avaliar a flutuação na quantidade de adultos, foram utilizadas armadilhas contendo fêmeas virgens para a coleta de machos. Para tanto, duas fêmeas virgens de *D. saccharalis* obtidas em laboratório, foram levadas ao campo logo após a emergência e foram aprisionadas em gaiolas teladas fixadas às armadilhas.

As armadilhas foram compostas por uma base metálica utilizada como suporte para uma bandeja com água e detergente (para quebrar a tensão superficial da água), onde os machos foram capturados. As fêmeas foram posicionadas cerca de 15 cm acima da bandeja com água, sendo protegidas por um telhado de folha de zinco, posicionado sobre as mesmas. As laterais das armadilhas foram abertas para facilitar a dispersão do feromônio das fêmeas e a aproximação dos machos, que eram atraídos pelas mesmas e capturados na bandeja. A armadilha foi sustentada na área por um cano de ferro rosqueado em outro de menor diâmetro, permitindo assim a regulação da altura, mantendo as armadilhas sempre tangenciando a cultura. Foram realizadas vistorias a cada três dias em cada armadilha, sendo retirados e quantificados os machos atraídos e substituídas as fêmeas virgens.

3.4.1.4 Análises estatísticas

Foram realizados testes de correlação de Pearson comparando-se as coletas de lagartas e pupas com machos capturados, assim como, de machos capturados com parâmetros climáticos. Levando-se em consideração o ciclo biológico observado, foram realizados testes correlacionando o número de machos capturados com lagartas ou pupas coletadas na mesma semana, na semana seguinte, duas e três semanas à frente. Para a correlação de machos capturados com fatores climáticos, correlacionou-se, por exemplo, a temperatura média de determinada semana com a coleta de machos na mesma semana, na semana seguinte, duas e três semanas à frente. Assim como correlacionou-se machos capturados de *D. saccharalis*, dentro das faixas de atuação determinadas pelos fatores climáticos, com lagartas pequenas, lagartas grandes e pupas de *D. saccharalis*, na mesma semana, na semana seguinte, duas e três semanas à frente.

Verificou-se o ajuste do modelo de exigências térmicas descrito no item 3.3.1 aos dados obtidos a respeito da dinâmica populacional de *D. saccharalis* em cana-de-açúcar, visando a previsão das diferentes fases do desenvolvimento de *D. saccharalis* e seu controle biológico.

3.4.2 Raio de ação de uma armadilha contendo fêmeas virgens de *D. saccharalis*

Para a realização de estudos desta natureza é primordial viabilizar uma forma de marcar os insetos a serem liberados (Figura 3), permitindo assim diferenciá-los dos insetos já presentes no agroecossistema (Figura 4). Isto se faz necessário, pois os experimentos são executados em áreas extensas de cana-de-açúcar, que normalmente já abrigam populações da praga.

Figura 3 - Lagartas de *D. saccharalis*, 24 horas após a inoculação, alimentando-se de dieta artificial acrescida do corante Calco Oil Red (COR) (B) e locomovendo-se isolada no tubo (A)

Para a obtenção dos adultos que foram liberados, lagartas recém eclodidas de *D. saccharalis* foram “inoculadas” em tubos de vidro de fundo chato (25 x 80 mm) contendo dieta artificial (PARRA; MIHSFELDT, 1992) acrescida do corante Calco Oil Red (COR), dissolvido em óleo de germe de trigo, na concentração de 1%. Ao se alimentarem da dieta artificial acrescida do corante, as lagartas se tornam vermelhas (Figura 3) e a coloração persiste nas fases de pupa, adulto (Figura 4) e até mesmo nos ovos gerados pelas fêmeas coloridas.

Foto: Laboratório de Biologia de Insetos ESALQ/USP

Figura 4 - Armadilha contendo fêmeas virgens de *D. saccharalis* e machos capturados, destacando em A - Macho marcado com corante Calco Oil Red e B - Macho pertencente à população natural

Foram “inoculadas” ao todo aproximadamente 37.000 lagartas, divididas em três lotes de criação preparadas a cada 30 dias, com 12.210, 13.000 e 11.750 lagartas “inoculadas” respectivamente. Os tubos foram mantidos em sala climatizada regulada a $25 \pm 3^{\circ}\text{C}$, UR de $70 \pm 10\%$ e fotofase de 14 horas. As pupas obtidas foram separadas por sexo (BUTT; CANTU, 1962) e os machos mantidos em tubos de PVC (30x15 cm) a 30°C . Os machos emergidos foram diariamente retirados e levados a uma câmara climatizada ajustada a 22°C com o intuito de diminuir o metabolismo dos machos e acumular insetos a serem liberados. Machos adultos com diferença etária máxima de 72 horas foram utilizados para liberações no campo. As liberações ocorreram em cultivo comercial de cana-de-açúcar pertencente à Usina Iracema, instalada no município de Iracemápolis, estado de São Paulo ($22^{\circ} 34' 53''$ Sul, $47^{\circ} 31' 11''$ Oeste). Com o auxílio de um GPS foram marcados no campo os pontos de liberação. Estes pontos foram colocadas a 100 e 200 metros da armadilha contendo fêmeas virgens (dependendo do tratamento), no sentido norte, sul, leste e oeste (Figura 5).

Legenda:

(1) Diâmetro da área de bordadura

(2) Raio da área de liberação

♀ Localização da armadilha contendo fêmeas virgens de *Diatraea saccharalis*

♂ Local da liberação de machos adultos de *Diatraea saccharalis*

Figura 5 - Croqui das liberações de machos de *D. saccharalis* marcados com Calco Oil Red, realizadas em cultivo de cana-de-açúcar, para a avaliação do raio de ação de armadilhas contendo fêmeas virgens, em Iracemápolis-SP, 2010

A liberação dos machos adultos marcados foi realizada de acordo com o esquema apresentado na Figura 5, onde podem ser vistos quatro pontos de liberação, posicionados a 100 ou 200 metros da armadilha, na disposição de uma cruz, com a armadilha no ponto central. Os insetos foram liberados cerca de três horas antes do crepúsculo e a recaptura foi avaliada na manhã seguinte à liberação (Figura 4). Para verificar se os machos capturados eram pertencentes à população natural ou aos insetos criados em dieta acrescida do corante, foi levado ao campo um frasco contendo acetona e com o auxílio de um bastonete de algodão foi aplicado o solvente na região ventral dos insetos. Sendo o corante COR solúvel em acetona, insetos que apresentaram uma intensa coloração vermelha, foram identificados como pertencentes à criação em dieta artificial acrescida do corante.

4 RESULTADOS

4.1 Experimentos de Laboratório

4.1.1 Desenvolvimento e reprodução de *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794) em diferentes temperaturas constantes

4.1.1.1 Desenvolvimento embrionário, larval e pupal

Foram avaliadas as durações das fases embrionária, larval e pupal de *D. saccharalis* em sete temperaturas constantes (Tabela 2). Na faixa de 18 a 32 °C, as durações de todas as fases do desenvolvimento avaliadas foram decrescentes com o aumento da temperatura. Entre as temperaturas de 30 e 32 °C ocorreu estabilização da velocidade de desenvolvimento, indicando que 32 °C está próximo ao limite térmico superior para o desenvolvimento embrionário, larval e pupal de *D. saccharalis* (Figura 6).

A estabilização da velocidade de desenvolvimento indica a temperatura a partir da qual o incremento térmico, ao invés de acelerar o desenvolvimento, promoverá efeitos deletérios. Em criações de insetos, é importante conhecer esta temperatura, pois indica o limite térmico a ser utilizado na criação de determinada fase do ciclo do inseto. Altas temperaturas podem afetar mitoses oogoniais que ocorrem no início das fases de larva e pupa, levando à perda de fertilidade dos insetos na fase adulta (MISKIMEN, 1973). Os dados obtidos indicam que, para o desenvolvimento embrionário, larval e pupal de *D. saccharalis*, não se devem utilizar temperaturas superiores a 30°C.

Tabela 2 - Duração das fases embrionária, larval e pupal de *D. saccharalis* e seus respectivos erros-padrão, em diferentes temperaturas constantes, UR 70±10% e fotofase de 14 horas

Temperatura (°C)	Duração da fase do desenvolvimento (dias)		
	Ovo	Larva	Pupa
18	17 ± 0,64 a	86,3 ± 0,48 a	30,2 ± 0,50 a
20	11,8 ± 0,11 b	54,5 ± 0,99 b	20,1 ± 0,16 b
22	7,9 ± 0,06 c	38,7 ± 0,50 c	13,3 ± 0,15 c
25	6,1 ± 0,01 d	27,9 ± 0,40 d	10,5 ± 0,09 d
28	5,1 ± 0,02 e	24,5 ± 0,20 e	8,2 ± 0,21 e
30	4,0 ± 0,01 f	21,1 ± 0,18 f	7,9 ± 0,16 e
32	4,0 ± 0,01 f	20,4 ± 0,32 g	7,9 ± 0,50 e

Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey (5% de probabilidade).

Devido à estabilização do período de desenvolvimento nas fases embrionária, larval e pupal, para o cálculo da constante térmica e temperatura base, eliminaram-se os dados de 32 °C. Os valores calculados para constante térmica (K) e temperatura base inferior (Tb) foram de 66,0 GD e 14,0 °C para fase embrionária, de 345 GD e 13,7 °C para fase larval e de 123,5 GD e 13,4 °C para fase pupal. Considerando o ciclo total, ou seja, de ovo a adulto, foram determinados 526,3 GD para constante térmica e 13,4 °C para temperatura base. Em estudo realizado por Mélo e Parra (1988), a constante térmica e a temperatura base de *D. saccharalis* foram determinadas em 67,5 GD e 11,2 °C para a fase embrionária, 517 GD e 7,3 °C para a fase larval e 126,1 GD e 10,6 °C para a fase pupal. Destaca-se que variações nas exigências térmicas e temperatura base são comuns em diferentes populações de Lepidoptera (HONEK, 1996).

Figura 6 - Duração e velocidade de desenvolvimento das fases de ovo, lagarta, pupa e do período ovo-adulto de *D. saccharalis* em diferentes temperaturas constantes, UR 70±10% e fotofase de 14 horas. A seta indica o limiar térmico inferior de desenvolvimento (Tb)

Apesar da estabilização da velocidade de desenvolvimento entre 30 e 32°C, as temperaturas avaliadas não foram um fator limitante ao desenvolvimento embrionário de *D. saccharalis*. Entretanto, ressalta-se que para manter os altos níveis de umidade exigidos, apenas na temperatura de 32°C, foi necessário umedecer o papel filtro contido nas placas de Petri, duas vezes ao dia. Os altos níveis de umidade precisam ser mantidos porque os ovos de *D. saccharalis* desidratam-se facilmente, devido ao grande número de aerópilas (PARRA et al., 1999).

Os efeitos prejudiciais causados ao desenvolvimento de *D. saccharalis* pela temperatura de 32°C, são perceptíveis pela viabilidade das fases larval e pupal, que foram bastante reduzidas nesta temperatura. Para a fase pupal, também foram observadas baixas viabilidades nas temperaturas de 18 e 20°C. As maiores viabilidades para as fases larval e pupal foram obtidas nas temperaturas de 25, 28 e 30°C (Figura 7).

Em todas as temperaturas testadas, pupas do sexo feminino foram mais pesadas do que as do sexo masculino. Na faixa térmica avaliada, a temperatura não

influenciou o peso das pupas do sexo masculino (Figura 8). Para as pupas do sexo feminino, nas temperaturas de 25, 28 e 30°C, foram observados pesos semelhantes (Figura 8). Levando-se em consideração que pupas mais pesadas dão origem à fêmeas maiores, que geralmente possuem maior capacidade reprodutiva (PARRA, 2009), o peso das pupas do sexo feminino, constitui-se em um importante parâmetro de qualidade de insetos produzidos para criação de laboratório (Figura 8).

Figura 7 - Viabilidade de ovos, lagartas e pupas de *D. saccharalis* em diferentes temperaturas constantes, UR 70±10% e fotofase de 14 horas. Médias seguidas pelas mesmas letras não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade

Figura 8 - Peso de pupas de *D. saccharalis* em diferentes temperaturas constantes, UR 70±10% e fotofase de 14 horas. Médias seguidas pela mesma letra maiúscula ou minúscula, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade

Letras maiúsculas comparam pesos de machos ou de fêmeas nas diferentes temperaturas avaliadas. Letras minúsculas comparam pesos de machos com fêmeas obtidos em uma mesma temperatura.

4.1.1.2 Fase adulta

A razão sexual de *D. saccharalis* nas diferentes temperaturas avaliadas variou de 0,41 a 20°C até 0,56 a 22°C. Entretanto, segundo o teste χ^2 , a frequência observada não foi diferente da esperada. Sendo assim, para todas as temperaturas, considera-se que a razão sexual foi igual a 0,5 (Tabela 3), indicando que não houve influência na razão sexual de *D. saccharalis* na faixa térmica estudada.

Tabela 3 - Razão sexual de *D. saccharalis* criada em diferentes temperaturas constantes, UR 70±10% e fotofase de 14 horas

Temperatura (°C)	Razão Sexual	χ^2 (Chi-Quadrado)	
18	0,43	1,96	NS
20	0,41	3,24	NS
22	0,56	1,44	NS
25	0,46	0,64	NS
28	0,52	0,16	NS
30	0,52	0,16	NS
32	0,46	0,64	NS

NS - Não significativo pelo Teste χ^2 (Chi-Quadrado)

Os maiores períodos de postura foram observados a 18 e 22 °C e o menor a 32 °C. Nas demais temperaturas, 20, 25, 28 e 30 °C, foram observados valores intermediários (Figura 9). Destaca-se que, devido à variação dos dados (alto desvio padrão), não ocorreram diferenças significativas de acordo com o teste de Tukey ($p < 0,05$), entre as temperaturas de 18 e 20 °C, assim como entre 20 e 32 °C.

Figura 9 - Período de postura de *D. saccharalis*, em diferentes temperaturas constantes, UR 70±10% e fotofase de 14 horas. Médias seguidas pelas mesmas letras não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade

De acordo com os parâmetros da tabela de vida de fertilidade, a temperatura de 28 °C destacou-se das demais, pelos altos valores para taxa líquida de reprodução (R_0), taxa intrínseca de aumento (r_m) e razão finita de crescimento (λ), assim como, pelos baixos valores para intervalo médio entre gerações (IMG) e tempo para duplicar em número (TD) (Tabela 4).

A taxa líquida de reprodução (R_0) representa o número de vezes que a população aumenta a cada geração e a razão finita de crescimento (λ) é um fator de multiplicação da população a cada intervalo de tempo, sendo ambos importantes fatores de crescimento populacional (SILVEIRA NETO; CARVALHO; PARANHOS, 1976). A taxa intrínseca de aumento (r_m) é considerada um parâmetro fundamental

na seleção de inimigos naturais, que devem preferencialmente, apresentar r_m superior àquele apresentado pela praga (LENTEREN, 2000).

Os altos valores observados para estes parâmetros na temperatura de 28°C indicam grande aumento da população a cada geração (R_o), com grande número de fêmeas e rápido crescimento populacional (r_m e λ). Os baixos valores de IMG e TD observados a 28°C indicam rápido desenvolvimento (IMG), concomitante às altas taxas de viabilidade (Tabela 4).

Nas temperaturas de 30 e 25°C observaram-se desempenhos reprodutivos intermediários, pois apesar dos altos valores de r_m e λ , e dos baixos valores de IMG e TD, foram constatados taxas líquidas de reprodução (R_o) bastante inferiores àquela observada a 28°C. Apesar da grande diferença entre os valores de R_o obtidos a 28 e 22°C, não foram observadas diferenças estatisticamente significativas (Table 4). Tal fato, explica-se pela maior variação dos dados de produção de ovos na temperatura de 22°C.

Os piores resultados foram obtidos na temperatura de 32°C, que apresentou baixas taxas líquidas de reprodução (R_o) e taxas intrínsecas de aumento (r_m), além de, altos valores para TD (Tabela 4).

Tabela 4 - Tabela de vida de fertilidade de *D. saccharalis* criada em diferentes temperaturas constantes, UR 70±10% e fotofase de 14 horas

Temperatura (°C)	R_o		r_m		IMG		TD		λ	
18	37,753	c	0,044	d	82,481	a	15,750	a	1,044	d
20	42,152	c	0,048	d	77,580	a	14,373	a	1,049	d
22	336,829	ab	0,109	c	53,503	b	6,373	b	1,115	c
25	304,557	b	0,140	b	40,819	c	4,947	c	1,150	b
28	409,771	a	0,170	a	35,428	d	4,082	d	1,185	a
30	233,120	b	0,173	a	31,544	e	4,011	d	1,189	a
32	7,056	d	0,062	d	31,593	de	11,208	ab	1,064	d

Médias seguidas pelas mesmas letras não diferem estatisticamente pelo teste de T a 5% de probabilidade, aplicado pelo método Jackknife.

De modo geral, houve uma queda da viabilidade com o passar do tempo (Figura 10). Em biofábricas, de um modo geral, coletam-se ovos apenas nos 3

primeiros dias do período de postura, uma vez que a maior parte dos ovos é produzida neste período. Sendo assim, destacaram-se as temperaturas de 22, 25 e 28 °C, pela alta viabilidade nos 3 primeiros dias do período reprodutivo e por mantê-la em valores próximos a 50% até o final do período reprodutivo. As temperaturas de 22, 25 e 28 °C proporcionam viabilidades adequadas à atual forma de utilização de adultos de *D. saccharalis* em biofábricas. A temperatura de 30 °C caracterizou-se pela queda constante na viabilidade dos ovos com o tempo. Entretanto, ressalta-se que nos três primeiros dias de postura, a viabilidade foi de respectivamente, 82,6; 67,1 e 51,3% para o primeiro, segundo e terceiro dias. Nas temperaturas de 20 e 32 °C, foram observadas as menores viabilidades (Figura 10).

Com a diminuição da temperatura, foi observado o alongamento das curvas de sobrevivência para as longevidades de machos e fêmeas de *D. saccharalis*. Para as fêmeas, em todas as temperaturas avaliadas, exceto a 32°C, foram observadas curvas de sobrevivência do tipo I, que indicam maior mortalidade em indivíduos mais velhos (SILVEIRA-NETO; CARVALHO; PARANHOS, 1976). A temperatura de 32°C provocou mortalidade desde os primeiros dias da fase adulta de *D. saccharalis*, fazendo com que a curva de sobrevivência estimada fosse do tipo II, que indica mortalidade constante ao longo da fase adulta nesta temperatura.

Para machos, foram observadas curvas de sobrevivência do tipo I nas temperaturas de 18, 20, 22, 25 e 28°C; por outro lado, nas temperaturas de 30 e 32°C, foram observadas curvas do tipo II (SILVEIRA-NETO; CARVALHO; PARANHOS, 1976).

Figura 10 - Viabilidade das posturas de *D. saccharalis* em diferentes temperaturas constantes, UR 70±10% e fotofase de 14 horas. Médias seguidas pelas mesmas letras não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade

Figura 11 - Curva de sobrevivência de machos e fêmeas de *D. saccharalis* em diferentes temperaturas constantes, com suas respectivas longevidades, estimadas segundo a distribuição de Weibull. UR 70±10% e fotofase de 14 horas

Visando identificar as melhores temperaturas para o desenvolvimento larval de *D. saccharalis*, foi realizada análise de agrupamento considerando parâmetros da fase larval. As análises indicaram, na menor distância euclidiana considerada (Figura 12), a formação de seis grupos, diferenciando as temperaturas de 28 e 30°C das demais. Apesar de na temperatura de 30°C a duração da fase larval de *D. saccharalis* ter sido menor do que a obtida a 28°C, ambas as temperaturas caracterizaram-se por rápido desenvolvimento, alta viabilidade e alto peso de pupas produzidas, destacando-se como as melhores temperaturas para o desenvolvimento larval de *D. saccharalis*.

Figura 12 - Dendrograma baseado no desenvolvimento de *D. saccharalis* criada em diferentes temperaturas constantes, UR 70±10% e fotofase de 14 horas. Utilizou-se o método de aglomeração de Ward com a medida de dissimilaridade euclidiana. A linha pontilhada indica a distância euclidiana considerada na separação dos grupos

Ao considerar-se para as análises de agrupamento parâmetros referentes ao desenvolvimento e reprodução, foram definidos 4 grupos na menor distância euclidiana considerada (Figura 13). De acordo com estes parâmetros, agruparam-se as temperaturas de pior desempenho reprodutivo, 18, 20 e 32 °C e as temperaturas

de 22 e 25 °C, que foram muito semelhantes em todos os parâmetros avaliados. As temperaturas de 28 e 30 °C formaram os dois grupos restantes (Figura 13).

Devido ao rápido desenvolvimento, alto peso de pupas e alto desempenho reprodutivo, dentre as temperaturas avaliadas, considera-se 28°C como a mais adequada à criação de *D. saccharalis*.

Figura 13 - Dendrograma baseado no desenvolvimento e reprodução de *D. saccharalis* criada em diferentes temperaturas constantes, UR $70 \pm 10\%$ e fotofase de 14 horas. Utilizou-se o método de aglomeração de Ward com a medida de dissimilaridade euclidiana. A linha pontilhada indica a distância euclidiana considerada na separação dos grupos

4.1.2 Efeito da alternância de temperatura, após o desenvolvimento larval, no desenvolvimento pupal e reprodução de *D. saccharalis*

4.1.2.1 Desenvolvimento larval e pupal

Como mencionado nos itens 3.2.1 e 3.2.4, o desenvolvimento larval de todos os insetos observados neste experimento ocorreu a 30°C. O período de desenvolvimento larval médio foi de 19,5 dias, com viabilidade de 94%. Destaca-se

que o período de desenvolvimento e viabilidade observados foram comparáveis àqueles descritos no item 4.1.1.1 para a temperatura de 30°C.

Criando-se as lagartas a 30°C e as pupas em diferentes temperaturas, observaram-se durações da fase pupal decrescentes com o aumento da temperatura. Entretanto, nas temperaturas de 28, 30 e 32°C, o período pupal apresentou valores muito próximos, indicando a estabilização da velocidade de desenvolvimento de *D. saccharalis* entre as temperaturas de 28, 30 e 32°C.

Nos resultados descritos no item 4.1.1.1, foram obtidos longos períodos de desenvolvimento pupal nas temperaturas de 18, 20 e 22°C. No presente experimento, ao criarem-se as lagartas a 30°C e apenas as pupas nas temperaturas de 18, 20 e 22°C, observou-se redução do período de desenvolvimento pupal, demonstrando a influência da temperatura de criação das lagartas na fase de pupa de *D. saccharalis*.

Provavelmente, este fato se deve às altas taxas metabólicas das lagartas que foram criadas na temperatura de 30°C antes de serem transferidas para as diferentes temperaturas avaliadas. A temperatura afeta profundamente a fisiologia dos insetos, influenciando toda sua biologia, como por exemplo, os sistemas respiratório, endócrino (NEVEN, 2000) e enzimático (HOFFMAN, 1984). O aumento de temperatura afeta, por exemplo, o consumo e digestão do alimento ingerido por *D. saccharalis* (SOUZA et al., 2001).

Figura 14 - Duração da fase pupal de *D. saccharalis* em diferentes temperaturas constantes após a criação das lagartas a 30 °C, UR 70±10% e fotofase de 14 horas. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si segundo teste de Tukey a 5% de probabilidade

O efeito da temperatura de criação das lagartas, torna-se perceptível nas viabilidades da fase de pupa, que nas temperaturas de 18, 20 e 22 °C foram superiores às aquelas observadas no item 4.1.1.1, no qual utilizou-se a mesma temperatura para criarem-se lagartas e pupas. A viabilidade da fase de pupa foi alta em todas as temperaturas avaliadas, sendo a menor viabilidade observada a 32 °C (79,5%) (Figura 14). Nas demais temperaturas utilizadas, foram observadas viabilidades superiores a 97 % (Figura 14).

Figura 15 - Viabilidade de pupas de *D. saccharalis* ao criar-se lagartas a 30°C e pupas em diferentes temperaturas constantes, UR 70±10% e fotofase de 14 horas. Médias seguidas pelas mesmas letras não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade

4.1.2.2 Fase adulta

A razão sexual de lagartas criadas a 30°C e distribuídas em diferentes temperaturas logo após a formação das pupas, de acordo com o teste de χ^2 (Chi-Quadrado), não diferiu da frequência esperada de 0,5 (Tabela 5). Assim como discutido no item 4.1.1.2, a temperatura não influenciou a razão sexual de *D. saccharalis*.

Tabela 5 - Razão sexual de *D. saccharalis* ao criar-se lagartas a 30 °C e as pupas em diferentes temperaturas, UR 70±10% e fotofase de 14 horas

Temperatura	Razão Sexual	χ^2 (Chi-Quadrado)	
18	0,46	0,64	NS
20	0,47	0,36	NS
22	0,51	0,04	NS
25	0,45	1,00	NS
28	0,46	0,64	NS
30	0,44	1,44	NS
32	0,46	0,64	NS

NS - Não significativo pelo teste χ^2 (Chi-Quadrado)

O período de postura de *D. saccharalis* foi mais longo nas temperaturas de 20 e 22 °C (Figura 16). De 25 a 32 °C o período de postura foi decrescente, sendo que, entre as temperaturas de 28 e 30 °C, não ocorreram diferenças estatisticamente significativa. Nas temperaturas de 25, 28 e 30 °C foram observados períodos de postura muito semelhantes, com durações entre 6 e 8 dias (Figura 16).

Figura 16 - Período de postura *D. saccharalis* ao criar-se lagartas a 30 °C e as pupas e os adultos em diferentes temperaturas, UR 70±10% e fotofase de 14 horas. Médias seguidas pelas mesmas letras não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade

Quanto aos parâmetros da tabela de vida de fertilidade, as temperaturas de 22, 25 e 28°C destacaram-se pelas altas taxas líquidas de reprodução (R_o), que indicam grande aumento a cada geração. Nas temperaturas de 28 e 30°C observaram-se altas taxas intrínsecas de aumento (r_m) e altas razões finitas de crescimento (λ), além de baixos valores para intervalo médio entre gerações (IMG ou T), indicando rápido crescimento populacional de *D. saccharalis* nestas temperaturas (Tabela 6).

Apesar de a 32°C terem sido observados altos valores de r_m e λ , além de, baixos valores de IMG e TD, esta temperatura apresentou os valores mais baixos de R_o , indicando-a como a pior condição testada para a reprodução de *D. saccharalis*. Nas temperaturas de 18 e 20°C também foram obtidos desempenhos reprodutivos insatisfatórios à criação de *D. saccharalis* (Tabela 6).

Embora atualmente seja utilizada a temperatura de 22°C para a obtenção de ovos de *D. saccharalis*, os resultados obtidos indicam que, além da referida temperatura, poderiam ser utilizadas as temperaturas de 25 e 28°C, por proporcionarem produção de ovos semelhante àquelas obtidas a 22 °C. Entretanto, a escolha da temperatura para oviposição dependerá do planejamento e das características de cada laboratório.

Tabela 6 - Tabela de vida de fertilidade de *D. saccharalis* ao criar-se lagartas a 30 °C e as pupas e os adultos em diferentes temperaturas, UR 70±10% e fotofase de 14 horas

Temperatura (°C)	R_o		r_m		IMG		TD		λ	
18	70,700	cd	0,094	d	45,230	a	7,360	a	1,100	d
20	96,720	c	0,112	c	40,820	b	6,190	b	1,120	c
22	257,529	ab	0,163	b	34,020	c	4,250	c	1,180	b
25	295,680	a	0,169	b	33,620	c	4,090	cd	1,180	b
28	256,600	ab	0,189	a	29,320	d	3,660	d	1,200	a
30	214,220	b	0,189	a	28,410	d	3,670	d	1,210	a
32	55,860	d	0,152	b	26,520	e	1,160	e	1,160	b

Médias seguidas pelas mesmas letras não diferem estatisticamente pelo teste t a 5% de probabilidade, aplicado pelo método Jackknife.

Nas temperaturas de 25, 28 e 30°C as idades máximas alcançadas pelos machos de *D. saccharalis* foram bastante semelhantes, indicando longevidade máxima em torno de 15 dias. Nas temperaturas de 20 e 22°C, foi observado o

alongamento das curvas de sobrevivência estimadas, que estenderam-se por 22 e 20 dias, respectivamente.

Em todas as temperaturas, foram identificadas curvas de sobrevivência do tipo I, ou seja, com mortalidade concentrada nos indivíduos mais velhos da população.

A longevidade de fêmeas de *D. saccharalis* apresentou resultados semelhantes nas temperaturas de 20 e 22°C, assim como, nas temperaturas de 25, 28 e 30°C (Figura 17). Nestas temperaturas, além de longevidades médias semelhantes, as curvas de sobrevivência resultantes apresentaram durações parecidas com, respectivamente, 21 e 19 dias para as temperaturas de 20 e 22°C e 12 dias para as temperaturas de 25, 28 e 30°C (Figura 17).

De acordo com análise de agrupamento, na distância euclidiana mínima considerada, foram definidos 4 grupos (Figura 18). Foram agrupadas as combinações de temperaturas de pior desempenho reprodutivo, 30°C-18°C-18°C, 30°C-20°C-20°C e 30°C-32°C-32°C (temperaturas utilizadas, respectivamente, nas fases larval, pupal e reprodutiva). Foram reunidas em outro grupo as combinações de 30°C-22°C-22°C e 30°C-28°C-28°C, que foram muito semelhantes em todos os parâmetros avaliados (Figura 18). As temperaturas de 30°C-25°C-25°C e 30°C-30°C-30°C, formaram os dois grupos restantes (Figura 18).

Figura 17 - Curva de sobrevivência e respectivas longevidades de machos e fêmeas de *D. saccharalis* estimadas segundo a distribuição de Weibull, ao criarem-se lagartas a 30 °C e as pupas e os adultos em diferentes temperaturas, UR 70±10% e fotofase de 14 horas

Figura 18 - Dendrograma baseado no desenvolvimento e reprodução de *D. saccharalis* ao criar-se as lagartas a 30 °C e as pupas e os adultos em diferentes temperaturas, UR 70±10% e fotofase de 14 horas. Utilizou-se o método de aglomeração de Ward com a medida de dissimilaridade euclidiana. A linha pontilhada indica a distância euclidiana considerada na separação dos grupos

4.1.3 Efeito da alternância de temperatura, após o desenvolvimento pupal, na reprodução de *D. saccharalis*

4.1.3.1 Desenvolvimento Larval e Pupal

Conforme descrito nos itens 3.2.1 e 3.2.4, para o desenvolvimento larval e pupal, foi utilizada a temperatura de 30 °C para o desenvolvimento larval e pupal. O período de desenvolvimento larval médio foi de $23,8 \pm 0,23$ dias e o período de desenvolvimento pupal foi de $6,0 \pm 0,08$ dias. A viabilidade observada para a fase larval foi de 99% e para fase pupal de 91,8 %. Os valores observados para duração e viabilidades larval e pupal foram semelhantes àqueles descritos nos itens 4.1.1.1 e 4.1.2.1.

4.1.3.2 Fase adulta

A razão sexual de lagartas e pupas criadas a 30 °C foi de 0,44, não diferindo estatisticamente, pelo teste χ^2 (Chi-Quadrado), da frequência esperada de 0,5 (Tabela 7), assim como observado nos itens 4.1.1.2 e 4.1.2.2.

Tabela 7 - Razão sexual de *D. saccharalis* criada na temperatura de 30°C nas fases de lagarta e pupa, UR 70±10% e fotofase de 14 horas

Temperatura	Razão Sexual	χ^2 (Chi-Quadrado)	
30	0,44	1,44	NS

Quanto aos parâmetros da tabela de vida de fertilidade, aqueles relacionados ao tempo, ou seja, o intervalo médio entre gerações (IMG ou T) e o tempo para duplicar em número (TD), apresentaram valores muito semelhantes nas diferentes temperaturas avaliadas para a reprodução de *D. saccharalis* (Tabela 8). A semelhança destes parâmetros já era esperada, tendo em vista que os insetos utilizados foram criados na maior parte de seu ciclo, ou seja, como lagartas e pupas a 30°C, sendo transferidos para as diferentes temperaturas avaliadas apenas como adultos.

As temperaturas de 22, 25 e 28°C destacaram-se pelas altas taxas líquidas de reprodução (R_0) e altas taxas intrínsecas de aumento (r_m), indicando alta produção de fêmeas e rápido crescimento populacional nestas temperaturas (Tabela 8). A temperatura de 30°C apesar do alto valor de r_m , apresentou baixo valor de R_0 , indicando baixa produção de fêmeas nesta temperatura. A temperatura de 32°C apresentou o pior desempenho reprodutivo, com baixos valores de R_0 , r_m e λ , assim como, altos valores de IMG e TD (Tabela 8).

Tabela 8 - Tabela de vida de *D. saccharalis* ao criar-se lagartas e pupas a 30 °C e os adultos em diferentes temperaturas, UR 70±10% e fotofase de 14 horas

Temperatura (°C)	Ro		r_m		IMG		TD		λ	
18	97,080	d	0,136	c	33,740	ab	5,110	b	1,145	c
20	211,070	b	0,166	ab	32,180	b	4,170	cd	1,180	b
22	237,090	b	0,167	b	32,810	a	4,160	c	1,181	ab
25	255,950	a	0,168	a	32,980	ab	4,120	d	1,183	a
28	223,410	ab	0,167	ab	32,330	b	4,140	cd	1,182	ab
30	202,370	c	0,168	ab	31,520	b	4,110	cd	1,183	ab
32	39,500	e	0,112	d	32,820	b	6,190	a	1,119	c

Médias seguidas pelas mesmas letras não diferem estatisticamente pelo teste de T a 5% de probabilidade, aplicado pelo método Jackknife.

O período de postura de *D. saccharalis* foi decrescente de 18 a 32°C, sendo que, não houve diferença significativa entre as temperaturas de 20, 22 e 25°C, assim como, entre 25, 28 e 30°C (Figura 19). Destaca-se que, para as temperaturas na faixa de 25 a 32°C ocorreram períodos de postura semelhantes, com durações entre 4 e 6 dias (Figura 19).

Figura 19 - Período de postura de *D. saccharalis* ao criar-se lagartas e pupas a 30°C e os adultos em diferentes temperaturas, UR 70±10% e fotofase de 14 horas. Médias seguidas pelas mesmas letras não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade

A curva de sobrevivência de fêmeas a 18°C apresentou a maior duração, com 14 dias, sendo identificada como do tipo I, ou seja, com mortalidade concentrada em indivíduos mais velhos (Figura 20). Nas demais temperaturas foram observadas longevidades médias e durações semelhantes da curva de sobrevivência, que foram identificadas como sendo do tipo II (Figura 20).

Quanto a longevidade, as curvas de sobrevivência para machos adultos apresentaram duração de 10 dias a 18, 20, 22, 25 e 28°C, enquanto nas temperaturas de 30 e 32°C, foram observadas durações de 7 dias (Figura 20). As semelhanças quanto a duração das curvas de sobrevivência e dos valores médios observados para machos de *D. saccharalis*, provavelmente se deve ao fato de lagartas e pupas terem sido criadas na mesma temperatura. Em todas as temperaturas, foi observada mortalidade desde o início da fase adulta, fazendo com que fossem observadas curvas de sobrevivência do tipo II, ou seja, com mortalidade constante ao longo da fase adulta (Figura 20).

Por meio da análise de agrupamento, na mínima distância euclidiana considerada, foram definidos 3 grupos (Figura 21). As combinações de temperatura 30°C-30°C-18°C e 30°C-30°C-22°C formaram 2 grupos, sendo o terceiro, formado pelo agrupamento dos tratamentos 30°C-30°C-20°C, 30°C-30°C-22°C, 30°C-30°C-25°C, 30°C-30°C-28°C (Figura 21). Devido ao desenvolvimento larval e pupal ter ocorrido na mesma temperatura em todos os tratamentos avaliados, foram observados resultados muito semelhantes, mesmo nos parâmetros da tabela de vida de fertilidade.

Figura 20 - Curva de sobrevivência e respectivas longevidades de machos e fêmeas de *D. saccharalis* estimadas segundo a distribuição de Weibull, ao criar-se lagartas e pupas a 30 °C e os adultos em diferentes temperaturas, UR 70±10% e fotofase de 14 horas

Figura 21 - Dendrograma baseado no desenvolvimento e reprodução de *D. saccharalis* criada quando lagartas e pupas a 30°C e quando adultos em diferentes temperaturas constantes, UR 70±10% e fotofase de 14 horas. Utilizou-se o método de aglomeração de Ward com a medida de dissimilaridade euclidiana. A linha pontilhada indica a distância euclidiana considerada na separação dos grupos

4.1.4 Efeito da temperatura utilizada no desenvolvimento larval e pupal de *D. saccharalis* em seus parâmetros reprodutivos, a 22 e 25°C

4.1.4.1 Desenvolvimento larval e pupal

A duração do período larval e pupal foram decrescentes com o aumento da temperatura na faixa de 18 a 30°C, sendo que não foram constatadas diferenças estatísticas entre as temperaturas de 30 e 32°C (Figura 22). Assim como descrito no item 4.1.1.2 e 4.1.1.3, ocorreu estabilização do período de desenvolvimento larval e pupal, indicando os efeitos prejudiciais da temperatura de 32°C para estas fases do desenvolvimento de *D. saccharalis* (Figura 22).

Figura 22 - Duração dos períodos larval e pupal de *D. saccharalis* em diferentes temperaturas constantes, UR 70±10% e fotofase de 14 horas. Médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas para lagartas e minúsculas para pupas, não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade

4.1.4.2 Fase adulta

Em todas as temperaturas avaliadas a razão sexual não diferiu significativamente, segundo o teste χ^2 (Chi-Quadrado), da frequência esperada de 0,5 (Tabela 9). Assim como, no item 4.1.1.2, a temperatura não influenciou a razão sexual de *D. saccharalis*.

Tabela 9 - Razão sexual de *D. saccharalis* criada em diferentes temperaturas, UR 70±10% e fotofase de 14 horas

Temperatura	Razão Sexual	χ^2 (Chi-Quadrado)	
18	0,44	1,44	NS
20	0,48	0,16	NS
22	0,48	0,16	NS
25	0,50	0,00	NS
28	0,49	0,04	NS
30	0,51	0,04	NS
32	0,45	1,00	NS

NS - Não significativo pelo teste χ^2 (Chi-Quadrado).

A combinação de temperatura de 30°C para lagartas, 30°C para pupas e 22°C para a reprodução (30°C-30°C-22°C), destacou-se do demais regimes testados, pelas altas taxa líquida de reprodução (R_o), taxa intrínsecas de aumento (r_m) e alta razão finita de crescimento (λ), além dos baixos valores para o intervalo entre gerações (IMG ou T) e tempo para duplicar em número (TD) (Tabela 10).

As combinações de temperaturas 28°C-28°C-22°C e 25°C-25°C-22°C, apresentaram resultados próximos à combinação de temperatura 30°C-30°C-22°C, diferindo principalmente na taxa intrínseca de aumento (r_m) (Tabela 10). Os piores desempenhos reprodutivos a 22 °C foram observados quando as temperaturas de 18, 20 e 32 °C foram utilizadas para o desenvolvimento de lagartas e pupas (Tabela 10).

Tabela 10 - Tabela de vida de fertilidade de *D. saccharalis* criada na fase adulta a 22°C e nas fases de lagarta e pupa em diferentes temperaturas, UR 70±10% e fotofase de 14 horas

Temperatura (°C)	R_o		r_m		IMG		TD		λ	
18	43,560	c	0,071	g	53,180	a	9,770	a	1,074	g
20	134,310	b	0,098	f	50,820	ab	7,080	b	1,103	f
22	241,740	a	0,112	e	48,870	b	6,170	c	1,119	e
25	272,590	a	0,143	c	39,090	c	4,830	d	1,154	c
28	156,360	b	0,170	b	29,640	d	4,060	e	1,186	b
30	203,820	a	0,198	a	28,860	e	3,500	f	1,219	a
32	37,560	c	0,138	d	26,270	e	5,020	d	1,148	d

Médias seguidas pelas mesmas letras não diferem estatisticamente pelo teste de T a 5% de probabilidade, aplicado pelo método Jackknife.

Quando a temperatura de 25°C foi utilizada para a reprodução de *D. saccharalis*, os melhores desempenhos reprodutivos foram observados para aqueles insetos que desenvolveram-se nas temperaturas de 22 e 25°C (Tabela 11). Para estas temperaturas foram observados altas taxas líquidas de reprodução (R_o), altas taxas intrínsecas de aumento (r_m), altas razões finitas de crescimento (λ) e baixos valores para o intervalo médio entre gerações (IMG ou T) e tempo para duplicar em número (TD) (Tabela 11). Sendo assim, destacaram-se as combinações de temperaturas 22°C-22°C-25°C e 25°C-25°C-25°C.

O uso de 28 ou 30°C para o desenvolvimento larval e pupal de *D. saccharalis* e 25°C para sua reprodução apresentou altos valores de r_m e λ , além de, baixos valores de IMG e TD, porém estes regimes térmicos (28°C-28°C-25°C e 30°C-30°C-25°C), apresentaram baixa produção de fêmeas, indicado pelos baixos valores de R_o , que indica o número de vezes que a população aumenta a cada geração (Tabela 11).

Tabela 11 - Tabela de vida de fertilidade de *D. saccharalis* criada na fase adulta a 25°C e nas fases de lagarta e pupa em diferentes temperaturas, UR 70±10% e fotofase de 14 horas

Temperatura (°C)	R_o		r_m		IMG		TD		λ	
18	39,040	c	0,049	d	74,540	a	14,099	a	1,050	d
20	83,650	b	0,091	c	48,458	b	7,588	b	1,096	c
22	283,269	a	0,120	b	47,054	b	5,776	c	1,128	b
25	269,445	a	0,165	a	33,947	c	4,205	d	1,179	a
28	170,848	b	0,180	a	28,569	d	3,852	d	1,197	a
30	70,811	bc	0,184	a	23,198	e	3,774	d	1,202	a
32	12,675	d	0,094	c	27,000	d	7,369	b	1,099	c

Médias seguidas pelas mesmas letras não diferem estatisticamente pelo teste de T a 5% de probabilidade, aplicado pelo método Jackknife.

O período de posturas para aqueles insetos que reproduziram-se na temperatura de 22°C, foi mais longo a 18, 20 e 22°C. Nas temperaturas de 28, 30 e 32°C ocorreram os menores períodos de postura (Figura 23). Os presentes resultados indicam que a temperatura utilizada para o desenvolvimento larval e pupal, influenciam na fase adulta de *D. saccharalis*, modificando seu período de postura (Figura 23). A influência da temperatura de desenvolvimento em parâmetros reprodutivos explica-se por aumento de taxas metabólicas, como mencionado no item 4.1.3.

Figura 23 - Período de postura de *D. saccharalis* criada na fase adulta a 22 e 25 °C e nas fases de lagarta e pupa em diferentes temperaturas, UR 70±10% e fotofase de 14 horas. Médias seguidas pelas mesmas letras não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade

O efeito do metabolismo alterado também pode ser percebido no período de postura, pois, ainda que os insetos tenham passado a fase adulta na mesma temperatura (25°C), observaram-se períodos de posturas variáveis de acordo com a temperatura utilizada na criação das lagartas e pupas de *D. saccharalis* (Figura 23).

Os maiores períodos de postura foram observados à 18, 20 e 22°C. Os menores períodos de realização de posturas foram observados à 28, 30 e 32°C. Na temperatura de 25°C foi observado valor intermediário (Figura 23).

Para os insetos que reproduziram-se a 22°C, a maior duração para a curva de sobrevivência de machos de *D. saccharalis* foi de 10 dias, observada na temperatura de 18°C (Figura 24). Nas temperaturas de 20 e 22°C, foram observadas durações de 8 dias e nas demais temperaturas, durações de 7 dias (Figura 24). Em todas as temperaturas foram observadas curvas de sobrevivência do tipo I, com mortalidade concentrada nos indivíduos de maior idade (Figura 24).

Para as fêmeas que reproduziram-se a 22°C, em todas as temperaturas avaliadas, exceto a de 32°C, foram observadas curvas de sobrevivência do tipo I (Figura 24), que indicam maior mortalidade em indivíduos mais velhos (SILVEIRA-NETO; CARVALHO; PARANHOS, 1976). A temperatura de 32°C provocou mortalidade desde os primeiros dias da fase adulta de *D. saccharalis*, fazendo com que a curva de sobrevivência estimada fosse do tipo II, que indica mortalidade constante ao longo da fase adulta nesta temperatura (Figura 24).

Figura 24 - Curva de sobrevivência de machos e fêmeas de *D. saccharalis* e suas respectivas longevidades estimadas segundo a distribuição de Weibull, para insetos criados na fase adulta a 22°C e nas fases de lagarta e pupa em diferentes temperaturas, UR 70±10% e fotofase de 14 horas

Figura 25 - Curva de sobrevivência de machos e fêmeas de *D. saccharalis* e suas respectivas longevidades estimadas segundo a distribuição de Weibull, para insetos criados na fase adulta a 25°C e nas fases de lagarta e pupa em diferentes temperaturas, UR 70±10% e fotofase de 14 horas

Para fêmeas que reproduziram-se a 25°C (Figura 25), não foi observada mortalidade nos primeiros dias da fase adulta de *D. saccharalis* e as curvas de sobrevivência de fêmeas foram do tipo I em todas as temperaturas avaliadas, indicando para maior mortalidade em indivíduos mais velhos. A maior longevidade média foi observada na temperatura de 22°C, e a menor, na temperatura de 32°C (Figura 25).

Para *D. saccharalis* as curvas de sobrevivência observadas para as longevidade de machos que reproduziram-se a 25°C, em todas as temperaturas avaliadas foi do tipo I, com concentração da mortalidade em indivíduos mais velhos (Figura 25). A maior longevidade média foi observada na temperatura de 18°C, e a menor, na temperatura de 32°C (Figura 25).

A análise de agrupamento aplicada aos insetos que reproduziram-se a 22°C, distinguiu 5 grupos na mínima distância euclidiana considerada, reunindo as combinações de temperaturas 20°C-20°C-22°C e 28°C-28°C-28°C, assim como, 22°C-22°C-22°C e 25°C-25°C-22°C (Figura 26). As demais combinações avaliadas, 18°C-18°C-22°C, 32°C-32°C-22°C e 30°C -30°C -22°C isolaram-se das demais, formando os três grupos restantes (Figura 26). Dentre as combinações de temperaturas que utilizaram 22°C para a reprodução, destacou-se 30°C-30°C-22°C, pelo rápido desenvolvimento, alta viabilidade e desempenho reprodutivo satisfatório (Figura 26).

Figura 26 - Dendrograma baseado no desenvolvimento e reprodução de *D. saccharalis* criada em diferentes temperaturas nas fases de lagarta e pupa, reproduzindo-se a 22°C, UR 70±10% e fotofase de 14 horas. Utilizou-se o método de aglomeração de Ward com a medida de dissimilaridade euclidiana. A linha pontilhada indica a distância euclidiana considerada na separação dos grupos

A análise de agrupamento aplicada aos insetos que reproduziram-se a 25 °C, na mínima distância euclidiana considerada, distinguiu 6 diferentes grupos, reunindo apenas as combinações de temperaturas 22°C-22°C-25°C e 25°C-25°C-25°C (Figura 27). Sendo assim, considera-se que de acordo com os dados referentes ao desenvolvimento e reprodução de *D. saccharalis*, as combinações de temperaturas 22°C-22°C-25°C e 25°C-25°C-25°C foram os mais adequados para sua criação (Figura 27).

Figura 27 - Dendrograma baseado no desenvolvimento e reprodução de *D. saccharalis* criada em diferentes temperaturas nas fases de lagarta e pupa, reproduzindo-se a 25°C, UR 70±10% e fotofase de 14 horas. Utilizou-se o método de aglomeração de Ward com a medida de dissimilaridade euclidiana. A linha pontilhada indica a distância euclidiana considerada na separação dos grupos

São raros os trabalhos semelhantes ao da presente pesquisa, na qual avaliaram-se diferentes temperaturas para cada fase do desenvolvimento de *D. saccharalis*. Devido à ausência de literatura semelhante para comparação dos resultados, não foi possível maior discussão sobre o assunto. Tendo em vista os efeitos observados para *D. saccharalis*, recomendam-se pesquisas nesta direção, permitindo o uso da temperatura na otimização de criações de insetos. É de grande importância destacar que não recomenda-se a alteração das temperaturas atualmente utilizadas nas criações de *D. saccharalis*. Porém, acredita-se ser fundamental que as empresas mantenedoras de criações massais de *D. saccharalis* determinem as exigências térmicas de suas populações, pois podem existir outras combinações de temperatura que permitam a manutenção de altos índices reprodutivos, com durações de ciclo diferentes, permitindo maior flexibilidade na

condução das criações ao enfrentar as sazonalidades do mercado de *T. galloi* e *C. flavipes*.

4.1.5 Desenvolvimento e reprodução de *D. saccharalis* criada em diferentes densidades e regimes térmicos

Baseando-se nos experimentos 4.1.1, 4.1.2; 4.1.3 e 4.1.4, foram selecionadas quatro combinações de temperaturas como as melhores para a criação de *D. saccharalis*. Em cada combinação de temperatura foi avaliado o desenvolvimento individual, como feito até então (testemunha) e em alta densidade criação (250 lagartas), como feito em biofábricas.

Com exceção do desenvolvimento pupal no tratamento 30°C-25°C-25°C, foram observadas diferenças estatísticas entre as densidades de 1 e 250 lagartas em todas as combinações de temperaturas avaliadas (Tabela 12). As diferenças observadas, apesar de estatisticamente significativas, foram inferiores a 10 % do período de desenvolvimento larval e pupal, assim como, inferiores a 5% do peso de pupas (Tabela 12).

O aumento da densidade de criação apresentou pouca influência na reprodução de *D. saccharalis*, pois apenas nas combinações de temperaturas 28°C-28°C-28°C e 30°C-22°C-22°C foram constatadas diferenças significativas para taxa intrínseca de aumento (r_m). Para os demais parâmetros da tabela de vida de fertilidade, não foram constatadas diferenças significativas entre as densidades testadas (Tabela 13).

Considera-se que o aumento da densidade de criação, causou variações tão pequenas no desenvolvimento e reprodução de *D. saccharalis*, que no presente experimento, os resultados obtidos com lagartas criadas individualmente seriam diretamente aplicáveis às criações de alta densidade (Tabelas 12 e 13).

Nesse sentido, destaca-se que em ambas as densidade de criação utilizadas, as maiores durações para o desenvolvimento larval foram obtidas nas combinações de temperatura 28°C-28°C-28°C e 28°C-25°C-25°C (Tabela 14). Nos tratamentos que utilizaram 30 °C para esta fase do desenvolvimento, foram observados as menores durações para a fase larval, fossem os insetos criados individualmente ou em alta densidade (Tabela 14).

A duração da fase de pupa foi maior, em ambas as densidades avaliadas, na combinação de temperaturas 30°C-22°C-22°C. As menores durações da fase pupal ocorreram no tratamento 28°C-28°C-28°C (Tabela 14). Nos tratamentos em que as pupas desenvolveram-se a 25 °C, ou seja, 28°C-25°C-25°C e 30°C-25°C-25°C, não foram constatadas diferenças estatísticas na duração da fase pupal nas duas densidades de criação avaliadas.

O peso das pupas do sexo feminino criadas individualmente e em alta densidade, não foi influenciado pelas diferentes combinações de temperaturas testadas (Tabela 14). Na criação individualizada, as combinações de temperaturas 30°C-22°C-22°C e 30°C-25°C-25°C, produziram machos mais pesados (Tabela 14). Na criação em alta densidade, não foram observadas diferenças para o peso de pupas de machos nas diferentes combinações de temperatura avaliadas (Tabela 14).

Independente da densidade de criação utilizada, os insetos que reproduziram-se no regimes térmicos 28°C-25°C-25°C e 30°C-25°C-25°C apresentaram desempenhos reprodutivos muito semelhantes, ocorrendo diferenças significativas entre esses tratamentos apenas para a taxa líquida de reprodução (R_o) (Tabela 15). Porém, sendo este um importante parâmetro, que representa o aumento da população a cada geração, destaca-se a combinação de temperatura 28°C-25°C-25°C (Tabela 15).

O tratamento 30°C-22°C-22°C, devido ao uso de temperaturas mais baixas para o desenvolvimento pupal e reprodução, apresentou valores mais altos para IMG e TD, assim como, mais baixos para r_m , que são fatores influenciados pela duração das fases de desenvolvimento e reprodução. Mas tendo em vista os altos valores de R_o , este regime térmico destaca-se dos demais por permitir um ciclo um pouco mais longo, indicado pelos valores de IMG e TD e ainda assim, manter intensa produção de fêmeas, indicado pelo alto valor de R_o (Tabela 15).

A combinação de temperatura 28°C-28°C-28°C destacou-se pelo alto desempenho reprodutivo, criando-se todas as fases do desenvolvimento de *D. saccharalis*, em apenas uma temperatura, evitando assim a necessidade de várias salas climatizadas em criações massais de *D. saccharalis*. Os resultados obtidos, abrem possibilidades para o uso de outras combinações de temperaturas em relação àquela atualmente utilizada, mantendo-se altos índices reprodutivos. Qualquer mudança na temperatura utilizada em criações massais, acarreta em mudanças no

ritmo de trabalho das biofábricas e deve ser cuidadosamente avaliada, pois diferentes populações de Lepidoptera apresentam exigências térmicas variáveis (HONEK, 1996).

Tabela 12 - Peso de pupas e duração das fases de lagarta e pupa de *D. saccharalis* criada em diferentes combinações de temperatura e densidades, mantendo-se, UR 70±10% e fotofase de 14 horas

		Combinação de temperatura e Densidade de criação							
		28-25-25		28 -28-28		30-22-22		30-25-25	
		1	250	1	250	1	250	1	250
Lagarta		25,10 b	26,52 a	24,1 b	26,73 a	21,11 b	23,34 a	21,16 b	24,43 a
Pupa		9,80 b	11,18 a	8,3 b	9,41 a	11,63 b	12,74 a	10,84 a	10,76 a
Peso	♂	0,149 a	0,151 a	0,145 a	0,156 b	0,161 a	0,147 b	0,162 a	0,148 b
	♀	0,212 a	0,209 a	0,219 a	0,214 a	0,229 a	0,216 a	0,228 a	0,217 b

*Médias seguidas pela mesma letra não apresentam diferença significativa entre as densidades pelo teste de Tukey (5% de probabilidade)

Tabela 13 - Tabela de vida de fertilidade de *D. saccharalis* criada em diferentes combinações de temperatura e densidades, mantendo-se UR 70±10% e fotofase de 14 horas

Temp. (°C)	Ro		r _m		IMG		TD		λ	
	Densidade de Criação									
	1	250	1	250	1	250	1	250	1	250
28-25-25	326,94 a	312,85 a	0,150 a	0,141 a	38,59 a	40,52 a	4,62 a	4,92 a	1,161 a	1,154 a
28-28-28	385,75 a	368,78 a	0,168 a	0,155 b	35,39 a	38,21 a	4,11 a	4,47 a	1,183 a	1,173 a
30-22-22	310,39 a	293,43 a	0,143 a	0,131 b	40,27 a	43,28 a	4,86 a	5,29 a	1,153 a	1,147 a
30-25-25	283,59 a	263,96 a	0,155 a	0,143 a	36,34 a	39,03 a	4,46 a	4,85 a	1,168 a	1,155 a

*Médias obtidas nas diferentes densidades, seguidas pelas mesmas letras não diferem estatisticamente pelo teste de T a 5% de probabilidade, aplicado pelo método Jackknife.

Tabela 14 - Peso de pupas e duração das fases de lagarta e pupa de *D. saccharalis* criada em diferentes combinações de temperaturas e densidades, mantendo-se, UR 70±10% e fotofase de 14 horas

		Densidades de criação e combinações de temperaturas utilizadas							
		Criação individualizada (1 lagarta/tubo)				Criação em alta densidade (250 lagartas/frasco)			
		28-25-25	28 -28-28	30-22-22	30-25-25	28-25-25	28 -28-28	30-22-22	30-25-25
Lagarta		25,1 a	24,1 a	21,1 b	21,1 b	26,5 A	26,7 A	23,3 B	24,5 B
Pupa		9,8 b	8,3 c	11,6 a	10,8 b	11,1 B	9,4 C	12,7 A	10,8 B
Peso	♂	0,149 b	0,145 b	0,161 a	0,162 a	0,151 A	0,156 A	0,147 A	0,148 A
	♀	0,212 a	0,219 a	0,229 a	0,228 a	0,209 A	0,214 A	0,216 A	0,217 A

*Médias seguidas pela mesma letra não apresentam diferença significativa entre os diferentes regimes térmicos, pelo teste de Tukey (5% de probabilidade).

Tabela 15 - Tabela de vida de fertilidade de *D. saccharalis* criada em diferentes combinações de temperaturas e densidades, mantendo-se, UR 70±10% e fotofase de 14 horas

Temp. (°C)	Densidades de criação e combinações de temperaturas utilizadas							
	Criação individualizada (1 lagarta/tubo)				Criação em alta densidade (250 lagartas/frasco)			
	28-25-25	28-28-28	30-22-22	30-25-25	28-25-25	28-28-28	30-22-22	30-25-25
Ro	326,94 b	385,75 a	310,39 c	283,59 d	312,85 B	368,78 A	293,43 C	263,96 D
r _m	0,150 b	0,168 a	0,143 c	0,155 b	0,141 B	0,155 A	0,131 C	0,143 B
IMG	38,59 b	35,39 c	40,27 a	36,34 b	40,52 B	38,21 C	43,28 A	39,03 BC
TD	4,62 b	4,11 c	4,86 a	4,46 b	4,92 B	4,47 C	5,29 A	4,85 B
λ	1,161 b	1,183 a	1,153 c	1,168 b	1,154 B	1,173 A	1,147 C	1,155 B

*Médias seguidas pelas mesmas letras não diferem estatisticamente pelo teste de T a 5% de probabilidade, aplicado pelo método Jackknife.

Figura 28 - Curva de sobrevivência de machos e fêmeas de *D. saccharalis* criadas individualmente em diferentes regimes térmicos e suas respectivas longevidades, estimadas segundo a distribuição de Weibull. UR 70±10% e fotofase de 14 horas

Figura 29 - Curva de sobrevivência de machos e fêmeas de *D. saccharalis* criadas em alta densidade sob diferentes regimes térmicos e suas respectivas longevidades, estimadas segundo a distribuição de Weibull. UR 70±10% e fotofase de 14 horas

Quanto à longevidade de *D. saccharalis*, nas duas densidades e em todas as combinações de temperaturas avaliadas foram observadas curvas de sobrevivência de machos e fêmeas do tipo I, com mortalidade concentrada nos indivíduos mais velhos (Figuras 28 e 29). Nas duas densidades avaliadas, a maior longevidade média de machos foi observada na combinação de temperatura 30°C-25°C-25°C, e a menor, no tratamento 28°C-25°C-25°C (Figuras 28 e 29). Para fêmeas, a maior longevidade média foi observada nas combinações de temperaturas de 30°C-25°C-25°C para ambas as densidades. A menor longevidade na criação em alta

densidade, foi observada no tratamento 28°C-28°C-28°C. Na criação individualizada, os menores resultados foram obtidos nas combinações 28°C-25°C-25°C e 28°C-28°C-28°C (Figuras 28 e 29).

De acordo com as curvas de sobrevivência, nas duas densidades e em todas as combinações de temperaturas avaliadas, machos e fêmeas apresentaram baixa mortalidade nos 4 primeiros dias da fase adulta (Figura 30). Dessa forma, considera-se todas as combinações de temperaturas avaliados são adequados para a reprodução de *D. saccharalis* em biofábricas, onde utilizam-se ovos depositados nos 3 primeiros dias da fase reprodutiva das fêmeas (Figura 30).

Figura 30 - Dendrograma baseado no desenvolvimento e reprodução de *D. saccharalis* criada em duas densidade e diferentes combinações de temperatura, UR 70±10% e fotofase de 14 horas. Utilizou-se o método de aglomeração de Ward com a medida de dissimilaridade euclidiana. A linha pontilhada indica a distância euclidiana considerada na separação dos grupos

Os dendogramas gerados para as duas densidades avaliadas apresentaram o mesmo resultado, separando os mesmos grupos e foram representados na Figura 30. Na menor distância euclidiana considerada, foram identificados 3 grupos, reunindo apenas as combinações de temperaturas 28°C-25°C-25°C e 30°C-22°C-22°C. Os dois grupos restantes foram formados pelos tratamentos 30°C-25°C-25°C e 28°C-28°C-28°C (Figura 30).

Dentre os tratamentos avaliados, o pior desempenho reprodutivo foi observado para a combinação de temperatura 30°C-25°C-25°C, que apresentou a menor taxa líquida de reprodução e formou um dos grupos. Os tratamentos 30°C-22°C-22°C e 28°C-25°C-25°C, que foram reunidos em um mesmo grupo, apresentaram altos valores de R_o , e durações da fase de desenvolvimento e adulta semelhantes. O melhor desempenho reprodutivo, indicado por altos valores para taxa líquida de reprodução, taxa intrínseca de aumento e razão finita de crescimento, foi observado na combinação de temperatura 28°C-28°C-28°C, ou seja, com a utilização de uma mesma temperatura para todas as fases do desenvolvimento de *D. saccharalis*.

4.2 Experimentos em semi-campo

4.2.1 Efeito da temperatura na biologia de *D. saccharalis* em plantas de cana-de-açúcar

A duração da fase embrionária em ovos depositados diretamente nas folhas de plantas de cana-de-açúcar, foi decrescente com o aumento da temperatura (Figura 31). A maior duração da fase embrionária foi observada na temperatura de 20°C e a menor a 30°C (Tabela 16). Para esta fase do desenvolvimento de *D. saccharalis* a temperatura base (T_b) foi determinada em 14,2°C e a constante térmica (K) em 70,4 GD (Figura 31).

Tabela 16 - Duração da fase embrionária, do período entre a realização da postura até a formação do orifício de entrada e durações das fases larval e pupal de *D. saccharalis* criada em plantas de cana-de-açúcar, em diferentes temperaturas constantes, UR 70±10% e fotofase de 14 horas

Temperatura (°C)	Duração da fase do desenvolvimento (dias)							
	Ovo		ovo - orifício		Lagarta		Pupa	
20	12,4	±0,11 a	36,4	±0,99 a	62,6	±2,59 a	22,3	±1,26 a
22	8,7	±0,06 b	26,7	±1,20 b	44,9	±1,50 b	16,9	±1,15 b
25	6,6	±0,09 c	22,1	±0,90 c	31,0	±0,96 c	11,2	±0,79 c
28	5,2	±0,08 d	18,5	±1,02 d	26,9	±0,70 d	9,9	±0,21 d
30	4,4	±0,09 e	15,7	±0,82 e	23,9	±0,68 e	8,1	±0,16 e

*Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey (5% de probabilidade).

Figura 31 - Duração e velocidade de desenvolvimento embrionário de *D. saccharalis* criada em plantas de cana-de-açúcar, em diferentes temperaturas constantes, UR $70\pm 10\%$ e fotofase de 14 horas. A seta indica o limiar térmico inferior de desenvolvimento (T_b)

Figura 32 - Viabilidade de ovos de *D. saccharalis* criada em plantas de cana-de-açúcar, em diferentes temperaturas constantes, UR $70\pm 10\%$ e fotofase de 14 horas. Médias seguidas pelas mesmas letras não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade

A viabilidade da fase embrionária foi alta em todas as temperaturas avaliadas, sendo observado o pior resultado na temperatura de 20°C, com 79% de ovos viáveis (Figura 32). Destaca-se que devido ao grande número de aerópilas presentes nos ovos de *D. saccharalis* (PARRA et al., 1999), a umidade foi mantida acima de 80% no decorrer do experimento.

Durante as avaliações observou-se que após a eclosão, as lagartas abandonaram a folha onde havia sido realizada a postura e dirigiram-se à bainha da planta. As lagartas abrigaram-se entre o colmo e as bainhas, alimentando-se das mesmas, até a realização do orifício de entrada.

Figura 33 - Lagarta de *D. saccharalis* se movendo em planta de cana-de-açúcar (B) e marcas das tentativas mal sucedidas de abertura do orifício de entrada (A)

Figura 34 - Viabilidade de lagartas de *D. saccharalis* criada em plantas de cana-de-açúcar, em diferentes temperaturas constantes, UR 70±10% e fotofase de 14 horas. Médias seguidas pelas mesmas letras não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade

O tempo decorrido entre a realização das posturas e o aparecimento dos orifícios de entrada variou de 15,7 dias a 30°C até 36,4 dias na temperatura de 20°C (Tabela 16). Em todas as temperaturas avaliadas, aproximadamente 80% lagartas não tiveram sucesso em realizar o orifício de entrada e morreram durante a tentativa, deixando pequenas marcas nas plantas decorrentes dos orifícios incompletos (Figura 33).

A maior parte das lagartas que obtiveram sucesso em penetrar no colmo completaram seu desenvolvimento até a fase de pupa. A duração da fase larval de *D. saccharalis* em plantas de cana-de-açúcar, variou de 23,9 dias a 30°C até 62,5 dias na temperatura de 20°C (Tabela 16). De acordo com os resultados apresentados, as exigências térmicas para o desenvolvimento larval foram determinadas em 384,6 GD e a temperatura base em 12,4°C (Figura 35). Devido ao grande número de lagartas que morreram na tentativa de abertura do orifício de entrada, a viabilidade da fase de lagarta foi baixa em todas as temperaturas avaliadas, sendo a maior viabilidade observada a 30°C (25,2%) (Figura 34). Ressalta-se que Botelho (1985), também observou baixa viabilidade para esta fase do desenvolvimento em plantas de cana-de-açúcar.

Figura 35 - Duração e velocidade de desenvolvimento larval de *D. saccharalis* criada em plantas de cana-de-açúcar, em diferentes temperaturas constantes, UR 70±10% e fotofase de 14 horas. A seta indica o limiar térmico inferior (T_b)

Figura 36 - Duração e velocidade de desenvolvimento pupal de *D. saccharalis* criada em plantas de cana-de-açúcar, em diferentes temperaturas constantes, UR 70±10% e fotofase de 14 horas. A seta indica o limiar térmico inferior (T_b)

Figura 37 - Viabilidade de pupas de *D. saccharalis* criada em plantas de cana-de-açúcar, em diferentes temperaturas constantes, UR 70±10% e fotofase de 14 horas. Médias seguidas pelas mesmas letras não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

A duração da fase de pupa foi decrescente com o aumento da temperatura, variando de 8,1 dias na temperatura de 30°C até 22,3 dias a 20°C (Tabela 16). De acordo com os resultados apresentados, as exigências térmicas para o desenvolvimento pupal foram estimadas em 131,6 GD e a temperatura base em 14,1°C (Figura 36).

A viabilidade desta fase do desenvolvimento foi alta em todas as temperaturas, sendo observado o menor valor a 20°C (79,8%) (Figura 37). Sendo assim, observa-se no presente estudo que as maiores reduções na população de *D. saccharalis* ocorreram na fase de larva, mais especificamente, no momento da abertura dos orifícios de entrada pelas lagartas (Figura 33).

Com as equações originadas pelas análises de regressão dos dados obtidos para desenvolvimento de *D. saccharalis* nas plantas de cana-de-açúcar, torna-se possível estimar a velocidade de desenvolvimento de *D. saccharalis* em cultivos de cana-de-açúcar, com o intuito de estimar com maior precisão o momento de liberação de diferentes parasitoides de *D. saccharalis*.

Tomando-se como exemplo uma situação hipotética, na qual a temperatura média em um cultivo de cana-de-açúcar fosse a de 23°C, seriam acumulados 8,8 GD a cada dia do período embrionário, resultando na eclosão das lagartas em 8 dias. Estima-se que 18,5 dias após a eclosão, as lagartas realizariam os orifícios de entrada (Tabela 16), completando a fase larval em um período total de 36 dias (eclosão até formação da pupa). As pupas formadas dariam origem à adultos em aproximadamente 14,7 dias, completando o ciclo, de ovo à emergência dos adultos, em 58,7 dias.

Neste exemplo, considera-se que o período ideal para a liberação de *T. galloi* ocorreria no início da fase de ovo, aproximadamente nos 4 primeiros dias do período embrionário de *D. saccharalis*, pois com o desenvolvimento dos ovos ocorre o endurecimento do córion (MELLINI, 1986), tornando os mesmos inadequados ao parasitismo (PEREIRA-BARROS et al., 2005). Ressalta-se que o presente exemplo é hipotético e que em condições reais, encontram-se nos cultivos de cana-de-açúcar ovos de diferentes idades (MICHELETTI, 1987) e as liberações devem ser realizadas quando forem observadas capturas sistemáticas de adultos. O modelo proposto pode orientar as liberações de *T. galloi* ao indicar o período de ocorrência dos ovos na cultura.

Para o controle de *D. saccharalis* utilizando-se *C. flavipes*, a realização do orifício de entrada indica o momento a partir do qual as lagartas tornam-se alvos potenciais a este parasitoide, portanto, considera-se que 19 dias após a eclosão das lagartas já seria possível a liberação de *C. flavipes*. Sendo assim, neste exemplo, as liberações de *C. flavipes* poderiam ter início cerca de 27 dias após as liberações de *T. galloi* (4 dias para liberação de *T. galloi*, acrescido de 23 dias para aparecimento do orifício de entrada) (Tabela 16).

4.3 Experimentos de campo

4.3.1 Flutuação populacional de *D. saccharalis* em cana-de-açúcar

Durante todo o ciclo da cultura não foram coletados ovos em folhas e lagartas recém eclodidas na parte externa da planta. As amostragens realizadas indicaram que lagartas pequenas, lagartas grandes, pupas e adultos ocorreram em picos, identificando quatro gerações da praga ao longo do ciclo da cultura (Figura 38).

O início da primeira geração caracterizou-se pela primeira captura de machos adultos, que ocorreu no início do mês de dezembro e em pequeno número, sendo capturados 10 machos em uma semana.

Nos meses seguintes, ocorreram o segundo, terceiro e quarto picos de captura de machos de *D. saccharalis*, nos quais foram coletados mais de 50 indivíduos por semana, identificando o início das demais gerações. O segundo pico de captura de machos ocorreu no final do mês de dezembro, o terceiro ocorreu no mês de janeiro e o quarto estendeu-se por fevereiro e março. Nos meses de abril, maio e junho, quando houve queda acentuada da temperatura, não foram capturados machos adultos nas armadilhas contendo fêmeas virgens (Figura 38).

Em estudo sobre a dinâmica populacional de *D. saccharalis*, Lopes (1988), relatou que o pico de oviposição coincidiu com a terceira geração da praga, que correspondeu a plantas com idade de 9 a 10 meses. No presente estudo, a captura de machos adultos, que identifica o início da terceira geração, foi o maior registrado, com média de 68,5 insetos; entretanto, este ocorreu quando as plantas apresentavam aproximadamente 4 meses de idade. Destaca-se que pouco antes da ocorrência do terceiro pico de captura, ocorreu intenso aumento da temperatura, sendo registradas temperaturas médias de 29 °C. O aumento da temperatura média também foi observado nas semanas anteriores às demais capturas de machos adultos, registrando-se valores de 26,9 °C para a primeira captura, 27,9°C para a segunda e 27,3°C para a quarta.

Apesar da ocorrência de quatro picos de captura de machos adultos, ocorreram apenas três de amostragem de lagartas e dois picos de pupas. A primeira ocorrência de lagartas foi no mês de janeiro, a segunda durou todo o mês de fevereiro e a terceira teve início na segunda quinzena de abril e durou até o fim das coletas em 30 de junho (Figura 38). A coleta de pupas ocorreu em dois picos, que foram coincidentes com a segunda e terceira amostragens de lagartas pequenas e grandes, ou seja, o primeiro pico nas amostragens de pupas ocorreu no mês de fevereiro e o segundo teve início na segunda quinzena de abril e durou até o fim das coletas em 30 de junho (Figura 38).

Observou-se que os machos adultos foram capturados em maiores quantidades cerca de 21 dias antes dos picos populacionais de lagartas e pupas (Figura 38). Provavelmente devido à menor presença de adultos no início do ciclo da cultura, não foram detectadas as lagartas originadas na primeira geração. Ainda

assim, de acordo com as capturas de machos adultos, considera-se que ocorreram quatro gerações da praga ao longo do ciclo da cultura. No estado de São Paulo, Walder (1976) observou que *D. saccharalis* apresentou quatro gerações ao longo do ano, sendo a primeira nos meses de outubro e novembro, a segunda nos meses de dezembro e janeiro, a terceira em fevereiro e março e a quarta em abril e maio. A dinâmica populacional observada no presente estudo, quando o plantio foi realizado do mês de novembro, indica o início da primeira geração apenas no início de dezembro, quando a cultura estava com 42 dias. De acordo com Lopes (1988), as primeiras ocorrências de ovos de *D. saccharalis* em cana-de-açúcar, foram dos 38 aos 42 dias após a emergência das plântulas.

De acordo com Macedo e Macedo (2004) na região Centro-Oeste do Brasil, o ataque é constante ao longo do ano, com ligeira queda no inverno e aumento nos períodos quentes e úmidos. A redução da ocorrência de *D. saccharalis* nos meses mais frios do ano é relatada para o estado de São Paulo, independente se for plantada cana de ano ou cana de ano e meio (MACEDO; MACEDO, 2004). No presente estudo, relata-se a queda no número de lagartas e pupas em amostragens feitas no período de temperaturas mais baixas (Figura 38), assim como, a ausência de capturas de machos no mesmo período. Botelho, Magrini e Silveira-Neto (1993) em levantamento realizado com armadilhas contendo fêmeas virgens durante 14 anos no município de Araras-SP, relataram dois picos de ocorrência, nos meses de setembro e fevereiro, assim como observaram a menor ocorrência no mês de junho, coincidentes com baixas temperaturas e o início do inverno.

Levar em consideração a biologia da praga na cultura da cana-de-açúcar é fundamental para verificar a correlação das capturas de machos e demais fases do desenvolvimento de *D. saccharalis* (lagartas e pupas), assim como, para determinar o momento correto para a tomada de decisões quanto ao controle de pragas, principalmente com parasitoides. Os picos de captura de machos adultos ocorreram cerca de 21 dias antes da ocorrência de lagartas e pupas (Figura 38). Em nenhum intervalo de tempo avaliado, foram constatadas correlações significativas; entretanto, observaram-se os maiores coeficientes de correlação (Tabela 17), nas comparações de machos capturados com lagartas pequenas e lagartas grandes coletadas 21 dias após tal captura.

Figura 38 - Temperatura média e formas biológicas de *D. saccharalis* coletadas em cana-de-açúcar em Rio Brilhante (MS), no ano de 2002 e 2003. Os números romanos de I a IV indicam as possíveis gerações de *D. saccharalis*

Tabela 17 - Correlação de machos de *D. saccharalis* capturados com lagartas pequenas, lagartas grandes e pupas em diferentes intervalos de tempo, no município de Rio Brilhante-MS, nos anos de 2002 e 2003

Correlações	mesmo dia		7 dias após		14 dias após		21 dias após	
	Corr	Prob	Corr	Prob	Corr	Prob	Corr	Prob
♂ x Lagartas Pequenas	-0,12	0,52	-0,09	0,65	0,24	0,23	0,67	0,0002
♂ x Lagartas Grandes	-0,10	0,62	-0,20	0,30	0,07	0,72	0,66	0,0002
♂ x Pupas	-0,26	0,17	-0,31	0,11	-0,12	0,54	0,19	0,34

*Correlações de Pearson significativas apenas para $p < 0,05$

Para todos os intervalos de tempo avaliados, correlações de machos capturados e fatores climáticos não apresentaram altas taxas de correlação (Tabela 18). Apesar dos baixos coeficientes de correlação obtidos (Tabela 18), deve-se levar em consideração que fatores climáticos podem ter grande influência na biologia de *D. saccharalis*, mesmo sem apresentar correlação com a captura de machos.

Em estudo sobre a dinâmica populacional de *D. saccharalis*, Terán (1979), afirmou serem os fatores climáticos determinantes na flutuação populacional de *D.*

saccharalis. Após dois anos de levantamentos populacionais no estado de São Paulo, Terán (1979), constatou que a flutuação de adultos de *D. saccharalis* correlacionou-se com temperatura e precipitação pluviométrica. O mesmo autor observou diferenças na dinâmica populacional de *D. saccharalis* nos dois diferentes anos avaliados no estudo e atribuiu ao clima importantes parâmetros, como a quantidade total de machos coletados e os meses que apresentaram picos de captura.

Tabela 18 - Correlação da captura de machos adultos de *D. saccharalis* e fatores climáticos em diferentes intervalos de tempo no município de Rio Brilhante-MS, nos anos de 2002 e 2003

Machos capturados X Fatores meteorológicos	Mesmo dia		7 dias após		14 dias após		21 dias após	
	Corr.	Prob.	Corr.	Prob.	Corr.	Prob.	Corr.	Prob.
Temperatura mínima	0,36	0,12	0,26	0,28	0,20	0,43	0,21	0,40
Temperatura média	0,13	0,57	0,09	0,72	0,18	0,45	0,35	0,15
Temperatura máxima	0,31	0,14	0,16	0,46	0,16	0,47	-0,03	0,90
UR mínima	0,11	0,59	0,22	0,29	0,20	0,34	0,12	0,59
UR média	0,13	0,55	0,44	0,05	0,34	0,14	0,11	0,65
UR máxima	0,10	0,65	0,32	0,13	0,20	0,40	-0,20	0,43
Vento	0,07	0,73	-0,29	0,13	-0,20	0,32	0,14	0,50
Precipitação Pluviométrica	-0,14	0,46	-0,05	0,80	-0,02	0,93	-0,17	0,40

*Correlações de Pearson significativas apenas para $p < 0,05$

Nesse sentido, ressalta-se os dados apresentados na Tabela 19, onde, pode-se observar, principalmente para temperatura e umidade relativa (UR), que os fatores climáticos apesar de não estarem correlacionados com a coleta de machos adultos, influenciaram diretamente na captura dos insetos, uma vez que estes só

foram capturados em um intervalo determinado de alguns destes parâmetros climáticos.

Tabela 19 - Média de machos capturados em armadilhas contendo fêmeas virgens de *D. saccharlis* e parâmetros climáticos em cultivo de cana-de-açúcar no município de Rio Brilhante-MS, nos anos de 2002 e 2003

Machos Capturados	Temp méd. (°C)	Temp máx. (°C)	Temp mín. (°C)	UR méd. (%)	UR máx. (%)	UR mín. (%)	Vento (m/s)	Precipitação Pluviométrica (mm)
0,00	26,43	35,20	21,45	64,00	86,00	37,00	2,24	0,80
0,00	23,37	30,10	20,63	87,00	98,00	59,00	1,68	40,30
0,00	21,50	29,10	18,50	88,00	99,00	60,00	2,91	105,90
0,00	22,43	29,60	17,67	79,00	94,67	58,33	2,88	11,63
0,00	25,40	31,80	21,60	80,00	99,00	55,00	1,76	9,40
0,00	26,66	33,00	22,65	75,00	93,75	51,50	2,54	19,48
10,00	25,56	31,32	21,42	80,80	97,60	57,00	2,15	25,04
0,50	26,40	34,20	21,30	80,00	98,00	48,00	2,19	25,40
0,00	24,65	31,90	20,10	84,75	98,75	55,00	1,42	27,50
51,00	27,13	33,40	21,50	75,33	96,00	50,00	3,07	9,77
4,50	26,65	33,75	22,15	79,50	97,00	51,50	1,77	5,20
0,00	24,93	29,08	22,30	89,25	97,75	70,75	1,82	21,70
59,00	25,05	31,30	22,00	88,00	99,25	61,50	1,67	13,08
68,50	26,06	32,18	22,64	84,60	98,40	55,80	2,04	13,06
42,00	24,58	30,64	20,34	84,80	97,80	59,20	1,64	26,52
3,50	25,32	32,32	21,50	83,80	98,20	54,60	1,78	13,90
13,00	23,93	28,92	20,55	89,17	99,00	67,33	1,55	20,18
20,50	24,78	31,03	20,95	88,25	99,00	61,50	1,66	33,93
17,50	24,90	33,15	19,60	83,00	99,50	47,50	1,26	40,55
42,50	26,70	34,40	21,80	79,00	98,40	47,40	1,30	6,76
52,00	25,07	31,87	21,17	80,67	99,33	48,67	1,95	13,47
0,00	23,70	29,40	19,27	76,33	97,33	46,33	2,05	14,23
0,00	21,85	26,55	18,80	88,50	100,00	71,50	1,89	39,85
0,00	25,30	32,10	19,80	94,00	100,00	67,00	1,81	41,00
0,00	22,85	27,45	16,75	92,50	100,00	73,50	1,96	27,60
0,00	13,10	21,50	5,10	71,00	96,00	37,00	0,81	0,30
0,00	15,80	22,90	10,10	73,00	99,00	33,00	1,03	0,30
0,00	22,00	29,70	15,40	76,00	100,00	41,00	1,72	0,30

Para a velocidade do vento e precipitação pluviométrica não foi detectada uma faixa de coleta nítida. Considerando-se a temperatura mínima, as capturas de machos adultos ocorreram entre 19,3 e 22,6°C, considerando-se a temperatura média tais capturas ocorreram apenas acima de 24°C e para temperatura máxima entre 28,9 e 34,4°C. Em relação à UR, ocorreram capturas apenas entre UR mínimas de 47,4 a 67,33%, UR média 75,33 até 89,17% e UR máxima de 96,00 a 99,5%.

Utilizando-se para as análises de correlação apenas os dados de coletas pertencentes à faixa determinada por cada fator climático (Tabela 19), os coeficientes obtidos nos testes de correlação (Tabela 20) foram maiores que os observados quando considerado todos os dados de coletas (Tabela 17).

Não é possível determinar se a captura de machos não ocorreu por falta de "chamamento" das fêmeas ou por falta de atividade de voo dos machos. De qualquer forma, tendo em vista que durante oito meses de amostragens não houve captura fora das faixas determinadas pelos fatores climáticos, fica evidente o grande efeito desses fatores no uso das armadilhas de fêmeas virgens, uma vez que determinaram sua faixa de atuação.

Os resultados obtidos ressaltam dois importantes fatores ao correlacionar-se captura de machos com as demais fases do desenvolvimento de *D. saccharalis*: a biologia da praga, que indicou altas correlações em intervalos de 21 dias e os fatores climáticos (temperatura e UR), que determinaram as faixas de captura.

Os resultados observados em função da temperatura média, com intervalo de 21 dias apresentaram altos coeficientes de correlação de Pearson para machos capturados com lagartas pequenas e grandes, ou seja, 0,82 e 0,84 respectivamente (Tabela 20). Tais resultados demonstram a influência da temperatura média, que determinou uma faixa de captura na qual foi observada alta correlação entre captura de machos e lagartas.

Tabela 20 - Correlação de machos com lagartas pequenas e grandes, amostradas em cultivo de cana-de-açúcar em função de diferentes fatores climáticos obtidos para Rio Brilhante-MS, nos anos de 2002 e 2003

Temperatura média								
	mesmo dia		7 dias		14 dias		21 dias	
	Corr.	Prob.	Corr.	Prob.	Corr.	Prob.	Corr.	Prob.
♂ vs Lag. Peq.	-0,24	0,36	-0,24	0,43	0,40	0,19	0,82*	0,0006*
♂ vs Lag. Grd.	-0,19	0,47	-0,37	0,22	0,23	0,48	0,84*	0,0003*
Temperatura máxima								
	mesma semana		1 semana		2 semanas		3 semanas	
	Corr.	Prob.	Corr.	Prob.	Corr.	Prob.	Corr.	Prob.
♂ vs Lag. Peq.	-0,08	0,71	-0,10	0,65	0,22	0,30	0,67	0,0005*
♂ vs Lag. Grd.	-0,02	0,93	-0,20	0,34	0,11	0,61	0,71	0,0002*
Temperatura mínima								
	mesma semana		1 semana		2 semanas		3 semanas	
	Corr.	Prob.	Corr.	Prob.	Corr.	Prob.	Corr.	Prob.
♂ vs Lag. Peq.	-0,14	0,54	-0,11	0,63	0,27	0,24	0,68	0,0009*
♂ vs Lag. Grd.	-0,09	0,69	-0,17	0,48	0,10	0,68	0,73	0,0003*
Umidade relativa (semanas)								
	mesma semana		1 semana		2 semanas		3 semanas	
	Corr.	Prob.	Corr.	Prob.	Corr.	Prob.	Corr.	Prob.
♂ vs Lag. Peq.	-0,06	0,78	-0,04	0,84	0,23	0,31	0,67	0,001*
♂ vs Lag. Grd.	0,03	0,88	-0,17	0,44	0,12	0,61	0,77	<0,0001*
Umidade relativa máxima (semanas)								
	mesma semana		1 semana		2 semanas		3 semanas	
	Corr.	Prob.	Corr.	Prob.	Corr.	Prob.	Corr.	Prob.
♂ vs Lag. Peq.	-0,13	0,56	-0,04	0,85	0,30	0,18	0,68	0,0009*
♂ vs Lag. Grd.	-0,10	0,67	-0,16	0,48	0,09	0,68	0,73	0,0003*
Umidade relativa mínima (semanas)								
	mesma semana		1 semana		2 semanas		3 semanas	
	Corr.	Prob.	Corr.	Prob.	Corr.	Prob.	Corr.	Prob.
♂ vs Lag. Peq.	-0,12	0,57	-0,07	0,75	0,30	0,15	0,69	0,0003*
♂ vs Lag. Grd.	-0,12	0,57	-0,17	0,40	0,11	0,61	0,68	0,0004*

*Correlações de Pearson significativas apenas para $p < 0,05$

Figura 39 - Intensidade de infestação de *D. saccharalis* e crescimento da cultura de cana-de-açúcar, expresso pelo número de internódios, em Rio Brilhante (MS), nos anos de 2002 e 2003

A fase de crescimento da cultura ocorreu até abril, quando as plantas atingiram 20 colmos em média; a partir daí, cessou-se o crescimento e teve início a fase de maturação (Figura 39), caracterizando o cultivo de cana planta de ano. Durante o ciclo da cultura, a intensidade de infestação superou o nível de controle recomendado de 3% apenas na amostragem de 17 de fevereiro, ocasião na qual foi coletada a maior quantidade de lagartas grandes (Figura 38). Nas demais amostragens foram detectadas intensidades de infestação inferiores a 2,1%.

As primeiras capturas de machos adultos ocorreram no início do mês de dezembro, ou seja, quando as plantas tinham menos de cinco colmos em média, indicando a presença de *D. saccharalis* desde as primeiras fases do crescimento vegetativo da cultura. Na primeira determinação da intensidade de infestação, realizada cerca de 15 dias após o primeiro pico de machos, apesar de não terem sido coletadas lagartas, já constatou-se o seu ataque, com intensidade de infestação de 1% pela avaliação de colmos com podridão vermelha, corroborando com a existência de quatro gerações.

No final de dezembro, ocorreu o segundo pico de captura de machos, quando as plantas já apresentavam 5 colmos em média. Com o intenso crescimento das plantas de cana-de-açúcar, os outros dois picos de captura de machos ocorreram em janeiro e fevereiro, em plantas com respectivamente, 8 e 10 colmos em média.

No mesmo sentido destaca-se que apesar da presença de machos ser detectada logo no início do ciclo, o primeiro pico de lagartas pequenas e grandes, foi registrado em 17 de janeiro, quando as plantas já tinham em média 10 colmos.

Tabela 20 - Constante térmica teórica (item 4.2.1) e real (de campo) e seus respectivos fatores de correção para as fases ovo-lagarta de *D. saccharalis*

Captura machos	Amostragem pupas	Intervalo (dias)	Temperatura média	Cte. Térmica (k) real	Cte. Térmica (k) teórica
17/01	17/02	31	25,9	418,5	454,4
07/03	15/04	39	24,0	453,4	454,4
14/03	30/04	47	22,2	461,5	454,4

Para verificar o ajuste dos modelos propostos no item 4.2.1, foram identificados os picos de adultos e os picos de amostragens de pupas decorrentes destes, assim como os graus-dia (GD) acumulados no período. Para a validação de modelos de exigências térmicas considera-se variações de até 15% aceitáveis (HIGLEY et al., 1986).

Para o primeiro período avaliado, foram acumulados apenas 412,3 GD em 31 dias (Tabela 20), para as fases embrionária e larval, indicando ajuste satisfatório com o modelo estabelecido no item 4.2.1 (454,4 GD). Apesar de nas semanas seguintes, quando seriam completados 454,4 GD, não terem sido encontradas pupas no cultivo, estas certamente estavam presentes, devido à grande quantidade de lagartas contidas nos colmos na semana anterior.

No segundo período avaliado, o pico de amostragem de pupas ocorreu 39 dias após o pico de amostragem de machos, período no qual foram acumulados 453 GD (Tabela 20), valor muito próximo ao estimado pelo modelo proposto no item 4.2.1., indicando o bom ajuste do modelo.

No terceiro período avaliado, passaram-se 47 dias, mas como a temperatura média foi de 22,2°C acumularam-se 461 GD (Tabela 20). Devido à queda na temperatura, apesar do maior intervalo de tempo entre o pico de captura de adultos e o de amostragem de pupas, acumularam-se quantidades semelhantes de graus-dia aos demais períodos avaliados.

Pode-se afirmar que no presente estudo, os modelos determinados no item 4.2.1 foram adequados para prever a ocorrência de *D. saccharalis* em cana-de-

açúcar, uma vez que apresentaram variações inferiores a 15 % (HIGLEY et al., 1986).

De acordo com os modelos de exigências térmicas propostos, pôde-se indicar, a partir dos picos de captura de adultos em cada uma das quatro gerações da praga, as fases do desenvolvimento de *D. saccharalis* adequadas ao controle por *T. galloi* e *C. flavipes* (Figura 40).

Figura 40 - Dinâmica populacional e previsão de ocorrência de *D. saccharalis* em cana-de-açúcar no município de Rio Brilhante (MS), no ano de 2002 e 2003, com base em exigências térmicas

Pode-se observar que as amostragens de lagartas e pupas ocorreram nos períodos previstos pelos modelos de exigências térmicas propostos no item 4.2.1. (Figura 40). Na quarta geração, a queda acentuada na temperatura provocou o alongamento do ciclo, fazendo com que fossem amostradas lagartas em pequenos números, durante um período no qual não esperava-se encontrar insetos.

A fase de ovo de *D. saccharalis*, durou em média 1 semana nas condições de campo (Figura 40). Sendo assim, o período adequado para a liberação de *T. galloi* ocorreu logo após a captura dos machos adultos. As lagartas permaneceram na parte externa da planta por pouco menos da metade de sua fase larval, período no qual são mais vulneráveis a predadores, incluindo formigas de diversos gêneros

(ROSSI; FOWLER, 2004). As lagartas passaram a maior parte desta fase na parte interna do colmo das plantas, em condições suscetíveis ao parasitismo por *C. flavipes*. Os modelos propostos no item 4.2.1 para as exigências térmicas das fases embrionária, larval e pupal aplicaram-se adequadamente ao presente estudo, tornando possível a previsão dos momentos adequados para a liberação de *T. galloi* e *C. flavipes*, com vistas ao Controle Biológico de *D. saccharalis*.

4.3.2 Raio de ação de armadilhas contendo fêmeas virgens de *D. saccharalis*

A recaptura de insetos marcados foi de 2% e 0,5%, respectivamente, para insetos liberados a 100 e 200 metros da armadilha (Tabela 21). As taxas de recaptura em estudos desta natureza, principalmente quando se usa uma fonte de feromônio natural (fêmeas virgens) são normalmente baixas (LEAL et al., 2001, 2006; CAMPBELL et al., 2002; BACCA et al., 2006; NANSEN et al., 2006), mostrando a necessidade da liberação de um grande número de insetos, pois no presente estudo, foram liberados 1680 machos adultos marcados, recapturando-se uma pequena porcentagem deles (Tabela 21).

Os dados obtidos indicam que machos de *D. saccharalis* são capazes de identificar e localizar uma pluma de feromônio gerada por quatro fêmeas virgens a 200 metros de distância. O fato de que, em duas das quatro liberações realizadas não terem ocorrido recaptura dos insetos liberados a 200 metros, poderia indicar que esta distância é limítrofe para a localização da armadilha utilizada.

Tabela 21 - Número de machos adultos marcados de *D. saccharalis* liberados e recapturados em armadilhas contendo quatro fêmeas virgens instaladas em cultivo de cana-de-açúcar em Iracemápolis-SP

Liberação	Machos liberados		Machos recapturados		% de recaptura	
	100 m	200 m	100 m	200 m	100 m	200 m
1	200	200	3	3	1,5	1,5
2	140	140	3	0	2,1	0
3	260	260	7	1	2,7	0,4
4	240	240	4	0	1,7	0
Total	840	840	17	4	2,0	0,5

Sendo assim, a distância de 400 metros entre armadilhas (200 metros de raio de ação), que cobre uma área de 12,5 ha, é um indicativo para amostragens de

adultos e, conseqüentemente de ovos, com vistas a programas de Controle Biológico com *T. galloi*.

5 CONCLUSÕES

1) As combinações de temperaturas 28°C-25°C-25°C, 28°C-28°C-28°C, 30°C-25°C-25°C e 30°C-22°C-22°C para criar lagartas, pupas e adultos, respectivamente, destacam-se das demais por promover rápido desenvolvimento aliado a altas taxas reprodutivas e podem assim, serem utilizadas

para a criação massal de *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794) e de seu parasitoide *Cotesia flavipes* (Cameron, 1891).

2) O aumento de densidade de criação de 1 lagarta por tubo para 250 lagartas por frasco, não afeta o desenvolvimento e reprodução de *D. saccharalis*.

3) É possível prever-se o momento de liberação de *C. flavipes* em cana-de-açúcar com base em modelos de exigências térmicas, assim como orientar as liberações de *T. galloi* ao definir o período de ocorrência dos ovos de *D. saccharalis*.

4) A análise dos parâmetros climáticos permitiu definir um limite térmico de atração das armadilhas contendo fêmeas virgens, ou seja, temperaturas médias acima de 24°C, pois nessa condição foram observadas altas correlações entre a captura de machos e amostragem de lagartas, realizada 21 dias após a captura dos machos de *D. saccharalis*.

5) De acordo com a dinâmica populacional de *D. saccharalis*, são identificadas quatro gerações ao longo do ciclo da cultura.

6) Para definir o momento de liberação do parasitoide de ovos, *T. galloi*, deve-se colocar uma armadilha, contendo 4 fêmeas virgens de *D. saccharalis*, para uma área de 12,5 ha.

REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, R.P.; PARRA, J.R.P. Efeito da UR na biologia de duas espécies de *Trichogramma* em dois hospedeiros alternativos. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENTOMOLOGIA, 11., 1987, Campinas. **Anais...** Campinas: SEB, 1987. p. 253.
- ALVES, S.B.; LOPES, R.B. **Controle microbiano de pragas na América Latina: avanços e desafios**. Piracicaba: FEALQ; FAPESP, 2008. 414 p..
- BACCA, T.; LIMA, E.; PICANÇO, M.; GUEDES, M.; VIANA, J. Optimum spacing of pheromone traps for monitoring the coffee leaf miner *Leucoptera coffeella*. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, Oxford, v. 119, p. 119-139, 2006.
- BATISTA-PEREIRA, L.G.; SANTANGELO, E.M.; STEIN, K.; UNELIUS, C.R.; EIRAS, A.E.; CORREA, A. Electrophysiological studies and identification of possible sex pheromone components of the Brazilian populations of the sugarcane borer, *Diatraea saccharalis*. **Zeitschrift Naturforschung**, Tübingen, v. 57, p. 753-758, 2002.
- BOTELHO, P.S.M. **Tabela de vida ecológica e simulação da fase larval de *Diatraea saccharalis* (Fabricius 1794) (Lepidoptera: Pyralidae)**. 1985. 110 p. Tese (Doutorado em Entomologia) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1985.
- BOTELHO, P.S.M.; MAGRINI, E.A.; SILVEIRA-NETO, S. flutuação populacional de machos de *Diatraea saccharalis* (FABR., 1794) através de armadilha de feromônio. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Londrina, v. 22, n. 2, p. 293-297, 1993.
- BOTELHO, P.S.M.; MENDES, A.D.; MACEDO, N.; SILVEIRA NETO, S. Influences of climatic factor on the population fluctuations of the sugar cane moth borer, *Diatraea saccharalis* (Fabr. 1794) (Lep. Pyralidae). In: CONGRESS OF THE INTERNATIONAL SOCIETY OF SUGAR CANE TECHNOLOGISTS, 1., 1977, São Paulo. **Proceedings...** São Paulo: ISSCT, 1977. p. 634-655.
- _____. Associação do parasitóide de ovos *Trichogramma galloi* Zucchi (Hymenoptera: Trichogrammatidae) e do parasitóide larval *Cotesia flavipes* (Cam.) (Hymenoptera: Braconidae) no controle de *Diatraea saccharalis*, (Fabr.) (Lepidoptera: Crambidae) em cana-de-açúcar. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Londrina, v. 28, n. 3, p. 491-496, 1999.
- BRADSHAW, W.E.; HOLZAPFEL, C.M. Genetic shift in photoperiodic response correlated with global warming. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, Washington, v. 98, n. 25, p. 14509-14511, 2001.

BROGLIO-MICHELETTI, S.M.F.; PEREIRA BARROS, J.L.; SANTOS, A.J.N.; CARVALHO, L.W.T.; CARVALHO, L.H.T.; OLIVEIRA, C.J.T. Efeito do número de adultos de *Trichogramma galloi* Zucchi, 1988 (Hymenoptera: Trichogrammatidae) liberados em semanas sucessivas, para o controle de *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794) (Lepidoptera: Crambidae). **Ciência e Agrotecnologia**, Piracicaba, v. 31, p. 53-58, 2007.

BUTT, B.A.; CANTU, E. **Sex determination of lepidopterous pupae**. Washington: USDA, 1962. 7 p.

CAMPBELL, J.F.; PRABHAKARAN, S.; SCHNEIDER, B.; ARBOGAST, R.T. Critical issues in the development and interpretation of pest monitoring programs for food processing facilities. In: INTERNATIONAL WORKING CONFERENCE ON STORED PRODUCT PROTECTION, 8., 2002, New York. **Advances in stored product protection: proceedings...** New York: CAB International, 2002. p. 121-127.

CAMPOS-FARINHA, A.E.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 Instituto Biológico**, São Paulo, v. 67, n. 2, p. 229-234, 2000.

COHEN, A.C. **Insect diets: science and technology**. London: CRC Press, 2004. 324 p.

CÔNSOLI, F.L.; GRENIER, S. In vitro rearing of egg parasitoids in agroecosystems with emphasis on *Trichogramma*. In: CONSOLI, F.L.; PARRA, J.R.P.; ZUCCHI, R.A. (Ed.). **Egg parasitoids in agroecosystems with emphasis on *Trichogramma***. Dordrecht: Springer, 2010. p. 293-313. (Progress in Biological Control, 9).

CÔNSOLI, F.L.; PARRA, J.R.P. Criação in vitro de parasitóides e predadores. In: PARRA, J.R.P.; BOTELHO, P.S.M.; CORRÊA FERREIRA, B.S.; BENTO, J.M.S. (Ed.). **Controle biológico no Brasil: parasitóides e predadores**. Piracicaba: Manole, 2002. p. 239-276.

CUEVA, C.M. Estudio preliminar de las poblaciones de huevos de *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794) y sus parasitos naturales en la caña de azúcar. **Revista Peruana de Entomología**, Lima, v. 22, n. 1, p. 25-28, 1979.

DAVIS, M.B.; SHAW, R.G.; ETTERSON, J.R. Evolutionary responses to changing climate. **Ecology**, v. 86, n. 7, p. 1704-1714, 2005. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1890/03-0788>>. Acesso em: 23 fev. 2012.

DEGASPARI, N.; MACEDO, N.; BOTELHO, P.S.M.; ARAUJO, J.R.; ALMEIDA, L.C. Predadores e parasitos de ovos da *Diatraea saccharalis* em cana-de-açúcar. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 22, p. 785-92, 1987.

FAO. **FAOSTAT - Agriculture database**. 2010. Disponível em: <<http://www.fao.org>>. Acesso em: 01 mar. 2012.

FINNEY, G.L.; FISHER, T.W. Culture of entomophagous insects and their host. In: GILBERT, L.E.; RAVEN, P.H. (Ed.). **Biological control of insect pests and weeds**. London: Chapman & Hall, 1964. p. 328-355.

GALLO, D. Situação do controle biológico da broca-da-cana-de-açúcar no Brasil. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Londrina, v. 9, n. 2, p. 303-308, 1980.

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

_____. Influência da armadilha luminosa na população da broca da cana-de-açúcar. **Ciência e Cultura**, Campinas, v. 19, n. 2, p. 307-308, 1964.

GASCHO, G.J.; SHIH, S.F. Sugarcane. In: TEARE, I.D.; PEET, M.M. (Ed.). **Crop water relations**. New York: John Wiley, 1983. p. 445-479.

HADDAD, M.L.; PARRA, J.R.P. **Métodos para estimar as exigências térmicas e os limites de desenvolvimento dos insetos**. Piracicaba: FEALQ, 1984. 45 p.

HADDAD, M.L.; MORAES, R.C.B.; PARRA, J.R.P. **MOBAE, Modelos bioestatísticos aplicados à entomologia**. Piracicaba: FEALQ, 1995. 44 p.

HAJI, F.N.D.; PREZOTTI, L.; CARNEIRO, J.S.; ALENCAR, J.A. Trichogramma pretiosum para o controle de pragas em tomateiro industrial. In: PARRA, J.R.P. (Ed.). **Controle biológico no Brasil: parasitóides e predadores**. São Paulo: Manole, 2002. p. 477-494.

HENSLEY, S.D.; HAMMOND, A.H. Laboratory techniques for rearing the sugar cane borer on an artificial diet. **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v. 61, p. 1742-1743, 1968.

HIGLEY, L.G.; PEDIGO, L.P.; OSTLIE, K.R. DEGDAY: a program for calculating degree-days, and assumptions behind the degree-day approach. **Environmental Entomology**, Columbia, v. 15, p. 999-1016, 1986.

HOFFMAN, K.H. Metabolic and enzyme adaptation to temperature. In: _____. (Ed.). **Environmental physiology and biochemistry of insects**. Berlin: Springer Verlag, 1984. p. 1-32.

HONEK, A. Geographical variation in thermal requirements for insect development. **European Journal of Entomology**, Branisovska, v. 93, p. 303-312, 1996.

KING, E.G.; BREWER, F.D.; MARTIN, D.F. Development of *Diatraea saccharalis* (Lep.: Pyralidae) at constant temperatures. **Entomophaga**, New York, v. 20, p. 301-316, 1975.

KNIPLING, E.F. The theoretical basis for augmentation of natural enemies. In: RIDGWAY, R.L.; VINSON, S.B. (Ed.). **Biological control by augmentation of natural enemies**. New York: Plenum Press, 1977. p. 79-123.

LEAL, W.S.; BENTO, J.M.S.; MURATA, Y.; ONO, M.; PARRA, J.R.P.; VILELA, E.F. Identification, synthesis, and field evaluation of the sex pheromone of the citrus fruit borer *Ecdytolopha aurantiana*. **Journal of Chemical Ecology**, New York, v. 27, n. 10, p. 2041-2051, 2001.

_____. Identification, synthesis, and field evaluation of the sex pheromone from the citrus leafminer, *Phyllocnistis citrella*. **Journal of Chemical Ecology**, New York, v. 32, n. 1, p. 155-168, 2006.

LETEREN, J.C.V. Critérios de seleção para avaliação de inimigos naturais em controle biológico. In: BUENO, V.H.P. (Ed.). **Controle biológico de pragas**. Lavras: Editora UFLA, 2000. p. 1-19.

_____. Need of quality control of mass-produced biological control agents. In: _____. (Ed.). **Quality control and production of biological control agents: theory and testing procedures**. Oxon: CAB International, 2003. p. 1-18.

LETEREN, J.C.V.; BUENO, V. Augmentative biological control of arthropods in Latin America. **BioControl**, Amsterdam, v. 48, n. 2, p. 123-139, 2003.

LETEREN, J.C.V.; TOMMASINI, M.G. Mass production, storage, shipment and release of natural enemies. In: LENTEREN, J.C.V. (Ed.). **Quality control and production of biological control agents theory and testing procedures**. Oxon: CAB International, 2003. p. 181-189.

LOPES, J.R.S. **Estudos bioetológicos de *Trichogramma galloi* Zucchi, 1988 (Hym., Trichogrammatidae) para o controle de *Diatraea saccharalis* (Fabr. 1794) (Lep., Pyralidae)**. 1988. 141 p. Dissertação (Mestrado em Entomologia) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1988.

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: Editora UFLA, 2000. p. 196.

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, p. 2-12, 1988a.

_____. Controle integrado da broca da cana-de-açúcar, *Diatraea saccharalis* (Fabr., 1794) (Lepidoptera: Pyralidae). **Brasil Açucareiro**, Rio de Janeiro, v. 160, p. 2-14, 1988b.

MACEDO, N.; MACEDO, D. As pragas de maior incidência nos canaviais e seus controles. **Visão Agrícola**, Piracicaba, v. 1, p. 38-46, 2004.

MACEDO, N.; ARAUJO, J.R.; BOTELHO, P.S.M. Sixteen years of biological control of *Diatraea saccharalis* (LEPIDOPTERA:PYRALIDAE) by *Cotesia flavipes* (HYMENOPTERA BRACONIDAE) in the state of São Paulo, Brasil. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Londrina, v. 22, n. 3, p. 441-448, 1993.

MACEDO, N.; BOTELHO, P.S.M.; MENDES, A.C. Ação de parasitos e predadores sobre a viabilidade de ovos de *Diatraea saccharalis* (Fabr. 1794), correlacionadas com parâmetros climáticos em Araras, SP. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENTOMOLOGIA, 5, Ilhéus. **Anais...** Ilhéus: SEB 1978. p. 23.

MADALENO, L.L.; RAVANELI, G.C.; PRESOTTI, L.E.; MUTOON, M.A.; FERNANDES, O.A.; MUTTON, M.J.R. Influence of *Mahanarva fimbriolata* (Stal) (Hemiptera: Cercopidae) injury on the quality of cane juice. **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 37, n. 1, p. 68-73, 2008.

MAGRINI, E.A. Estudo comparativo entre substratos para oviposição de *Diatraea saccharalis* e posterior parasitismo por *Trichogramma* sp. **Brasil Açucareiro**, Rio de Janeiro, v. 106, n. 2, p. 15-17, 1988.

MAIA, A.H.N.; LUIZ, A.J.B. **Programa SAS para análise de tabelas de vida de fertilidade de artrópodes**: o método Jackknife. Jaguariúna: EMBRAPA Meio Ambiente, 2006. v. 1, 11 p.

MELLINI, E. Importanza dell' età dell' uovo, al momento della parassitizzazione, per la biologia degli imenotteri oofagi. **Bolletino dell' Istituto di Entomologia "Guido Grandi" della Univesità de Bologna**, Bologna, v. 41, p. 1-21, 1986.

MENDES, A.C.; BOTELHO, P.S.M.; MACEDO, N.; SILVEIRA NETO, S. Seleção de luzes de diferentes comprimentos de onda para atração da broca da cana-de-açúcar, *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794) (Lepidoptera: Crambidae). **Brasil Açucareiro**, Rio de Janeiro, v. 88, n. 2, p. 38-45, 1976.

MICHELETTI, S.M.F.B. **Distribuição espacial e temporal de ovos de *Diatraea saccharalis* (Fabr., 1794) (Lep.: Pyralidae) e seu parasitismo por *Trichogramma* sp. (Hym., Trichogrammatidae)**. 1987. 95 p. Dissertação (Mestrado em Entomologia) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1987.

MISKIMEN, G.W. Non-aseptic laboratory rearing of the sugarcane borer, *Diatraea saccharalis*. **Annals of the Entomological Society of America**, Washington, v. 58, p. 820-823, 1965.

_____. High-temperature effects on sugarcane borers. Survivorship and emergence time. **Environmental Entomology**, New York, v. 2, n. 6, p. 981-985, 1973.

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, p. 691-696, 1988.

NANSEN, C.; PHILIPS, T.W.; MORTON, P.D.; BONJOUR, E.L. Spatial analysis of pheromone-baited trap captures from controlled releases of male Indianmeal moths. **Environmental Entomology**, Columbia, v. 35, p. 516-523, 2006.

NEVEN, L.G. Physiological responses of insects to heat. **Postharvest Biological Technology**, London, v. 21, p. 103-111, 2000.

PARRA, J.R.P. Técnicas de criação de *Anagasta kuehniella*, hospedeiro alternativo para produção de *Trichogramma*. In: PARRA, J.R.P.; ZUCCHI, R.A. (Ed.). **Trichogramma e o controle biológico aplicado**. Piracicaba: FEALQ, 1997. p. 121-150.

_____. **Técnicas de criação de insetos para programas de controle biológico**. Piracicaba: ESALQ; FEALQ, 2007. 133 p.

_____. Mass rearing of natural enemies. In: CAPINERA, J.L. (Ed.). **Encyclopedia of entomology**. Dordrecht: Springer, 2008. v. 3, p. 2301-2305.

_____. A bioecologia e a nutrição de insetos como base para o manejo integrado de pragas. In: PANIZZU, A.R. (Ed.). **Bioecologia e nutrição de insetos: base para o manejo integrado de pragas**. Brasília: Embrapa, 2009. p. 91-174.

PARRA, J.R.P.; MIHSFELDT, L.H. Comparison of artificial diets for rearing the sugarcane borer. In: ANDERSON, T.E.; LEPLA, N.C. (Ed.). **Advances in insect rearing for research & pest management**. San Francisco: Westview Press, 1992. p. 519.

PARRA, J.R.P.; BOTELHO, P.S.M.; PINTO, A.D.S. Controle biológico de pragas como um componente-chave para a produção sustentável da cana-de-açúcar. In: CORTEZ, L.A.B. (Ed.). **Bioetanol de cana-de-açúcar: P&D para produtividade e sustentabilidade**. São Paulo: Blucher, 2010. p. 441-450.

PARRA, J.R.P.; ZUCCHI, R.A.; SILVEIRA-NETO, S. Biological control of pests through egg parasitoids of genera *Trichogramma* and/or *Trichogrammatoidea*. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 82, p. 153-160, 1987. Apresentado no INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON INSECTS, 1987, Rio de Janeiro

PARRA, J.R.P.; BOTELHO, P.S.M.; CORRÊA FERREIRA, B.S.; BENTO, J.M.S. **Controle biológico no Brasil: parasitóides e predadores**. São Paulo: Manole, 2002a. 626 p.

_____. Controle biológico: terminologia. In: _____. (Ed.). **Controle biológico no Brasil: parasitóides e predadores**. São Paulo: Manole, 2002b. p. 1-16.

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

- PEREIRA-BARROS, J.L.; BROGLIO MICHELETTI, S.M.F.; SANTOS, A.J.N.; CARVALHO, L.W.T.; CARVALHO, L.H.T.; OLIVEIRA, C.J.T. Aspectos biológicos de *Trichogramma galloi* Zucchi, 1988 (Hymenoptera: Trichogrammatidae) criados em ovos de *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794) (Lepidoptera: Crambidae). **Ciência e Agrotecnologia**, Piracicaba, v. 29, p. 714-718, 2005.
- PINTO, A.D.S.; PARRA, J.R.P.; OLIVEIRA, H.N.; ARRIGONI, E.D.B.X.U. Comparação de técnicas de liberação de *Trichogramma galloi* Zucchi (Hymenoptera: Trichogrammatidae) para o controle de *Diatraea saccharalis* (Fabricius) (Lepidoptera: Crambidae). **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 32, p. 311-318, 2003.
- RISCO, S.H.; FERREIRA, C.E.; MENDONÇA, A.F.; BRANDÃO, J.M.; SOBRAL, S.M.; SOUZA, S.D. Observaciones em relacion a la distribucion populacional de *Diatraea* spp. en la region canavelera del nordeste de Brasil. In: PLANALSUCAR. **Relatório técnico do programa nacional de melhoramento da cana-de-açúcar**. Maceió, 1975. p. 121-125.
- ROSSI, M.N.; FOWLER, H.G. Predaceous at fauna in new sugarcane fields in the state of São Paulo, Brazil. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, Curitiba, v. 47, p. 805-811, 2004.
- SALES-JR., O. **Bioecologia de *Trichogramma galloi* Zucchi, 1988 no hospedeiro natural *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794) e em hospedeiros alternativos**. 1992. 97 p. Tese (Doutorado em Entomologia) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1987.
- SEGATO, S.V.; MATTIUZ, C.F.M.; MOZAMBANI, A.E. Aspectos fenológicos da cana-de-açúcar. In: SEGATO, S.V.; PINTO, A.S.; JENDIROBA, E.; NOBREGA, J.C.M. (Ed.). **Atualização em produção de cana-de-açúcar**. Piracicaba: CP 2, 2006. p. 19-38.
- SILVEIRA-NETO, S.; CARVALHO, R.P.L.; PARANHOS, S.B. Flutuação populacional de pragas da cana-de-açúcar em Piracicaba. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ENTOMOLOGIA, 1., 1968, Piracicaba. **Anais...** Piracicaba, 1968. p. 26-27.
- _____. **Manual de ecologia de insetos**. São Paulo: Ceres, 1976. 419 p.
- SMITH, S.M.; HUBBES, M.; CARROW, J.R. Factors affecting inundative releases of *Trichogramma minutum* Ril. Against the spruce budworm. **Journal of Applied Entomology**, Berlin, v. 101, p. 29-39, 1986.
- SOUZA, A.M.L.; AVILA, C.J.; PARRA, J.R.P. Consumo e utilização de alimento por *Diatraea saccharalis* (Fabr.) (Lepidoptera: Pyralidae), *Heliothis virescens* (Fabr.) e *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) em duas temperaturas. **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 30, p. 11-17, 2001.
- TERÁN, 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.

_____. Natural control of *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794) eggs in sugarcane fields of São Paulo. In: INTERNATIONAL SOCIETY OF SUGAR CANE TECHNOLOGISTS, 2., 1980, Manila. **Proceedings...** Manila: ISSST, 1980. p. 1704-1714.

VOEGELÉ, J. Reflections upon the ten years of research concerning Trichogramma (Hym. Trichogrammatidae). In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON TRICHOGRAMMA AND OTHER EGG PARASITES, 2., 1988, Paris. **Proceedings...** Paris: INRA, 1988. p. 17-29.

WALDER, J.M.M. **Estudos da população de *Diatraea saccharalis* (Fabr., 1794) em quatro regiões canavieiras do Estado de São Paulo.** 1976. 111 p. Tese (Doutorado em Entomologia) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1976.

WITZ, J.A.; HARTSACK, A.W.; KING, E.G.; DICKERSON, W.A.; PHILIPS, J.R. Monitoring and prediction of *Heliothis* spp. **Southwest Entomological Supplement**, Dallas, v. 8, p. 56-70, 1985.