**Universidade de São Paulo
Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”**

**Seleção de linhagens e efeito da temperatura e do alimento no
desempenho de *Trichogramma galloi* Zucchi, 1988
(Hymenoptera:Trichogrammatidae) para o controle de *Diatraea
saccharalis* (Fabricius, 1794) (Lepidoptera: Crambidae) em milho**

Leandro Delalibera Geremias

**Dissertação apresentada para a obtenção do título
de Mestre em Ciências. Área de concentração:
Entomologia**

**Piracicaba
2008**

Leandro Delalibera Geremias
Engenheiro Agrônomo

**Seleção de linhagens e efeito da temperatura e do alimento no desempenho de
Trichogramma galloi Zucchi, 1988 (Hymenoptera:Trichogrammatidae)
para o controle de *Diatraea saccharalis*
(Fabricius, 1794) (Lepidoptera: Crambidae) em milho**

Orientador:
Prof. Dr. JOSÉ ROBERTO POSTALI PARRA

**Dissertação apresentada para a obtenção do título
de Mestre em Ciências. Área de concentração:
Entomologia**

Piracicaba
2008

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

Geremias, Leando Delalibera

Seleção de linhagens e efeito da temperatura e do alimento no desempenho de *Trichogramma galloi* Zucchi, 1988 (Hymenoptera: Trichogrammatidae) para o controle de *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794) (Lepidoptera: Crambidae) em milho / Leando Delalibera Geremias. - - Piracicaba, 2008.
81 p. : il.

Dissertação (Mestrado) - - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, 2008.
Bibliografia.

1. Alimentação animal 2. Brocas (Insetos nocivos) 3. Controle biológico (Fitossanidade)
4. Insetos parasitóides 5. Linhagens animais - Seleção 6. Comportamento animal 7.
Temperatura I. Título

CDD 633.15
G367s

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

Aos meus pais, Luis e Iolanda

por tudo aquilo que sou

DEDICO

A minha namorada Aline

por seu apóio incondicional

durante esta jornada

OFEREÇO

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. José Roberto Postalí Parra, pela orientação, todos os ensinamentos e exemplo de profissionalismo;

À Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo pela acolhida e oportunidade da realização do curso;

Ao Conselho Nacional de Pesquisa (CNPQ), pela concessão da bolsa de estudos;

À Neide Zério, pelo grande auxílio para a criação dos insetos e pelo companheirismo, amizade e paciência;

Ao Heraldo Negri, pelos conselhos, ensinamentos e companheirismo;

A Dra. Marinéia Haddad pelo auxílio nas análises estatísticas;

Ao Prof. Dr. Roberto Antonio Zucchi, do Laboratório de Taxonomia de Insetos da ESALQ/USP, pela confirmação específica das linhagens;

À bibliotecária Eliana Maria Garcia pela formatação do texto e correções das referências;

Aos professores do Setor de Entomologia por todos os ensinamentos que auxiliarão minha carreira profissional;

Aos funcionários do Departamento de Entomologia, Regina, Marta, Dino, Carlinhos, Carlos, João e William;

Ao grande amigo Aloísio pela valorosa ajuda durante noites longas de experimentos e grande companheirismo nos almoços “em família” durante os fins de semana;

Ao estagiário e amigo Gustavo pelo auxílio durante todos os trabalhos e pelas dicas a respeito de Piracicaba;

Ao Mestre e amigo Tiago pelos debates a respeito de controle biológico e outros assuntos entomológicos, por me motivar e cobrar e ainda pelo e grande auxílio nas análises estatísticas;

Ao Mestre Rafael Pita pela amizade e auxílio nas análises estatísticas;

A todos que fazem ou fizeram parte Laboratório de Biologia de Insetos durante a realização dos trabalhos e com os quais convivi;

Ao pessoal de Ribeirão Preto, pelo auxílio e amizade, aqui representados por Guilherme e Valmor;

Ao Dr. Alexandre Sene por suas dicas, ensinamentos, disponibilidade em ajudar e amizade, além de nos contagiar com seu entusiasmo pelo controle biológico;

Aos amigos Fernando e Vitalis da Zoologia pelo auxílio na tradução do abstract;

Aos grandes amigos da turma da PPG Entomologia de 2007, com os quais dividi as angustias e multipliquei os conhecimentos.

“NÃO HÁ GARANTIAS DE QUE A PESQUISA RESOLVERÁ
TODOS OS PROBLEMAS, MAS NENHUM PROBLEMA
SERÁ RESOLVIDO SEM PESQUISA”.

Anthoy H. Purcell

SUMÁRIO

RESUMO.....	8
ABSTRACT	9
1 INTRODUÇÃO	10
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	12
2.1 <i>Diatraea saccharalis</i> (Fabricius, 1794)	12
2.1.2 Distribuição Geográfica e Plantas hospedeiras.....	12
2.1.2 Bioecologia e comportamento	13
2.1.3 Danos e importância econômica	15
2.2 Aspectos gerais de <i>Trichogramma</i>	18
2.3 Seleção de linhagens de <i>Trichogramma</i> e <i>Trichogrammatoidea</i>	20
2.1.3 Nutrição de parasitóides adultos	27
3 MATERIAL E MÉTODOS	32
3.1 Criação de <i>Diatraea saccharalis</i> (Fabricius, 1794).....	32
3.2 Criação e manutenção das linhagens de <i>Trichogramma galloi</i> Zucchi, 1988	33
3.3 Seleção de linhagens de <i>T. galloi</i> Zucchi, 1988 visando ao controle de <i>D. saccharalis</i> em milho a 25°C	34
3.4 Seleção de linhagens de <i>T. galloi</i> Zucchi, 1988 visando ao controle de <i>D. saccharalis</i> em milho a 30°C	39
3.5 Influência da temperatura sobre a capacidade de parasitismo e longevidade de <i>T. galloi</i>	39
3.6 Influência do alimento sobre adultos de <i>T. galloi</i>	40
3.7 Comportamento de oviposição de <i>D. saccharalis</i>	42
3.8 Análises estatísticas dos dados	42
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	44
4.1 Seleção de linhagens de <i>Trichogramma galloi</i> Zuchhi, 1988 visando o controle de <i>Diatraea saccharalis</i> (Fabricius, 1794) em milho a 25 e 30°C.....	44
4.2 Influência da temperatura sobre o parasitismo e longevidade de <i>T. galloi</i>	56
4.3 Efeito do alimento na longevidade e parasitismo de <i>T. galloi</i>	59
4.4 Comportamento de oviposição de <i>D. saccharalis</i>	63
4.5 Considerações finais	65

5 CONCLUSÕES	67
REFERÊNCIAS	68

RESUMO

Seleção de linhagens e efeito da temperatura e do alimento no desempenho de *Trichogramma galloi* Zucchi, 1988 (Hymenoptera: Trichogrammatidae) para o controle de *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794) (Lepidoptera: Crambidae) em milho

O objetivo da presente pesquisa foi fornecer subsídios, visando ao controle de *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794) em milho, com o parasitóide de ovos *Trichogramma galloi* Zucchi, 1988. Foram realizados estudos do parasitóide, incluindo seleção de linhagens, efeito de fatores abióticos (temperatura e alimento) sobre parâmetros biológicos e de parasitismo, bem como comportamento de postura de *D. saccharalis* em milho. A seleção de linhagens foi conduzida nas temperaturas de 25 e 30°C e o efeito da temperatura sobre a longevidade e a capacidade de parasitismo foi estudado em 15 condições térmicas (na faixa de 10 a 38°C). O efeito de quatro tipos de alimentos foi avaliado sobre a longevidade e a capacidade de parasitismo. O comportamento de postura de *D. saccharalis* foi observado em dois níveis de infestação (dois e dez casais por planta). Constatou-se que a linhagem G16080 foi a mais adequada para liberações visando ao controle de *D. saccharalis*, com base na capacidade de parasitismo e na duração do ciclo e por ter apresentado desempenho equivalente na faixa de 25 a 30°C. A maior capacidade de parasitismo de *T. galloi* linhagem G16080 ocorreu entre 20 e 28°C, embora tenha havido parasitismo em todas as temperaturas na faixa de 10 a 38°C. Não houve correlação entre a longevidade e parasitismo, havendo uma concentração deste parasitismo quando o inseto viveu menos. A presença do hospedeiro interferiu na longevidade de *T. galloi* linhagem G16080. Considerando-se o parasitismo, mel puro e a solução de pólen são os alimentos mais adequados para *T. galloi* linhagem G16080. Com ou sem o hospedeiro, mel + pólen foi o alimento que proporcionou a maior longevidade para *T. galloi* linhagem G16080. Independentemente do nível populacional de *D. saccharalis*, houve uma acentuada preferência pela região do colmo para postura, em relação às folhas de milho de 45 dias de idade, o que pode definir a amostragem e a forma de liberação do parasitóide.

Palavras-chave: Controle biológico; Parasitóides de ovos; Fatores abióticos; Seleção de linhagens; Alimentação de parasitóides; Comportamento de postura

ABSTRACT

Strains selection and effect of temperature and food in the performance of *Trichogramma galloi* Zucchi, 1988 (Hymenoptera: Trichogrammatidae) for the control of *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794) (Lepidoptera: Crambidae) in corn

The objective of this study was to provide information aiming to control *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794) in corn with the egg parasitoid *Trichogramma galloi* Zucchi, 1988. Studies realized on the parasitoid included strain selection; effect of abiotic factors (temperature and food) on biological parameters and parasitism as well as oviposition behavior of *D. saccharalis* in corn. Strain selection was conducted at a temperature of 25 and 30°C and the effect of temperature on longevity and parasitism capacity was studied at 15 temperature conditions (in the range of 10 to 38°C). The effect of four types of food sources was evaluated on longevity and parasitism capacity. The oviposition behavior of *D. saccharalis* was observed in two levels of infestation (two and ten couples per plant). It was verified that the strain G16080 was more suitable for release with the aim to control *D. saccharalis* based on the parasitism capacity and duration of the life cycle and having equivalent performance at a temperature range of 25 to 30°C. The highest rate of parasitism by the *T. galloi* strain G16080 occurred between 20 and 28°C, although there was parasitism in all other temperature ranges of 10 to 38°C. There was no correlation between longevity and parasitism, with concentration of this parasitism when the insect lived less. The presence of the host interfered with longevity of the *T. galloi* strain G16080. Considering parasitism, pure honey and the pollen solution are more suitable as food for *T. galloi* strain G16080. With or without the host, honey + pollen was the food that produced the highest longevity for *T. galloi* strain G16080. Irrespective of the population level of *D. saccharalis*, there was a clear preference for oviposition on the stem in relation to 45 day old corn leaves that could define sampling and the form of release of the parasitoid.

Keywords: Biological control, Parasitoid eggs; Abiotic factors; Strain selection; Feeding of parasitoid; Oviposition behavior.

1 INTRODUÇÃO

O Brasil ocupa a terceira posição na produção de milho sendo que, na safra 2006/07 foram colhidas cerca de 14 milhões de toneladas e as perspectivas, são de que haja ainda uma maior demanda no mercado internacional, desde que os EUA, maior produtor e exportador mundial, devam diminuir a oferta do produto ao mercado externo, devido ao aumento na demanda interna para a produção de etanol (FNP CONSULTORIA & COMÉRCIO, 2008).

No Brasil, várias pragas atacam essa cultura causando prejuízo médio de 7%. (GALLO et al., 2002). Nos últimos anos, surtos de *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794) têm ocorrido com frequência, causando ainda mais prejuízos aos produtores.

Essa praga possui elevado poder destrutivo, já que pode atacar diversas partes da planta, assim, o colmo pode ser seccionado ou broqueado; as folhas raspadas e/ou destruídas; pode destruir a gema apical, provocando o sintoma conhecido como “coração morto”; ataca partes do pendão; o pedúnculo da espiga e a própria espiga, alimentando-se dos grãos ou broqueando o sabugo (PINTO; PARRA; OLIVEIRA, 2004).

O aumento das áreas plantadas com cana-de-açúcar, o cultivo sucessivo em grandes áreas com plantas hospedeiras, o uso de novos sistemas de produção e até o possível surgimento de genótipos de *D. saccharalis* mais adaptados ao milho são apontadas como possíveis causas para explicar tais surtos.

Nos canaviais, essa praga é controlada através de liberações do parasitóide larval *Cotesia flavipes* Cameron, 1891. Em 2008, foram “tratados” cerca de 1.700.000 hectares com este parasitóide (PARRA, J.R.P., Informação pessoal)¹. Sua eficiência é baseada na diminuição do número de adultos que serão formados na segunda geração da praga, pois o parasitóide ataca lagartas de últimos ínstar da praga. Em milho, a primeira geração já pode acarretar elevados prejuízos pois, diferentemente da cana-de-açúcar esta é uma cultura anual, não tendo como se recuperar dos danos causados pelo ataque da broca. Desta forma, para o milho, *C. flavipes* não deve ser tão eficiente como para cana-de-açúcar.

¹ PARRA, J.R.P. Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”

A fase de ovo é considerada fator chave para o crescimento populacional da praga (BOTELHO, 1985), o controle da fase larval e pupal é difícil e não existem inseticidas registrados para o controle de *D. saccharalis* em milho (Sistema de Agrotóxicos Fitossanitários – AGROFIT, 2008). Desta forma, a utilização de parasitóides de ovos, como aqueles do gênero *Trichogramma* surge, aparentemente como a melhor opção para o controle da praga em milho.

Dentre as espécies que parasitam ovos de *D. saccharalis*, *Trichogramma galloi* Zucchi, 1988, é a mais abundante, encontrada amplamente distribuída nos canaviais do estado de São Paulo (ZUCCHI; PARRA; SILVEIRA NETO, 1991).

Atualmente, cerca de 300 mil hectares de cana-de-açúcar são tratados com *T. galloi* (PARRA; ZUCCHI, 2008), sendo que este parasitóide é utilizado em talhões onde o braconídeo, *C. flavipes* apresenta menor eficiência (principalmente devido a fatores climáticos) ou onde a predação de ovos da broca é baixa.

Existem numerosos trabalhos a respeito de *D. saccharalis* em cana-de-açúcar; entretanto, são poucos os estudos relacionando essa praga com a cultura do milho e praticamente inexistentes quanto à utilização de *T. galloi* para o seu controle em milho.

Para que se tenha sucesso na condução de programas de controle biológico são necessários numerosos estudos, tanto da praga como do agente de controle, com ênfase a fatores bióticos e abióticos (PARRA et al., 2002).

Desta forma, o objetivo deste estudo foi fornecer subsídios para melhor entender o efeito de fatores abióticos (temperatura, nutrição) sobre parâmetros biológicos e de parasitismo de *T. galloi*, bem como as primeiras observações sobre a sua relação com *D. saccharalis* em milho, com ênfase ao comportamento de postura, com vistas ao controle a referida praga com o citado parasitóide de ovos.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794)

2.1.2 Distribuição Geográfica e Plantas hospedeiras

A espécie *D. saccharalis*, dentre as do gênero é a que apresenta mais ampla distribuição geográfica, sendo constatada desde a região sul dos EUA, nas Antilhas (desde às Bahamas, Cuba até Trinidad-Tobago) e em todos os países da América Central e do Sul (BOX, 1952).

Das espécies pertencentes a este gênero, 11 foram referidas no Brasil (COSTA-LIMA, 1968). *D. saccharalis*, encontra-se distribuída nos estados do Amazonas, Pará, Ceará, Rio Grande do Norte, Paraíba, Alagoas, Sergipe, Bahia, Minas Gerais, Espírito do Santo, Rio de Janeiro, São Paulo, Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul (COSTA-LIMA, 1968; GUAGLIMI, 1973). Hoje, apesar de não terem sido realizados novos levantamentos, sabe-se que esta espécie também ocorre na região Centro Oeste do Brasil.

É considerada uma praga polífaga, ocorrendo naturalmente em diversas gramíneas. Elias, 1970, apud Peairs e Saunders (1980), referiu sua ocorrência em 65 espécies de plantas. Dentre as espécies de importância econômica, arroz, aveia, cana-de-açúcar, milho, milheto, sorgo e trigo são hospedeiras da broca (COSTA-LIMA, 1945; 1968; SANTA CRUZ, 1973). Passos e Canechio (1981) consideraram o milho como um dos principais hospedeiros da broca-da-cana no Brasil.

Na Louisiana EUA, é considerada praga nas culturas de cana-de-açúcar, arroz, sorgo e milho (FLOYD; CLOWER; MANSON, 1960). É praga chave nas culturas de cana-de-açúcar e uma das mais importantes pragas do milho, na Argentina (TORRES; MOSS; ORTEGA, 1973; GRECO, 1995a; FENOGLIO; TRUMPER, 2007). Muñoz (1990) considera *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) e *Diatraea* spp. como as mais importantes pragas do milho na Colômbia, sendo o gênero *Diatraea* distribuída em todo o país. No México, *D. saccharalis* encontra-se distribuída em todas as áreas onde se cultivam gramíneas, podendo-se observar até 30-35% de

índice de infestação da praga nos cultivos de cana-de-açúcar e milho (SANTILLA et al., 2003).

Pupas de *D. saccharalis* coletadas em plantas de milho e em uma variedade susceptível de cana-de-açúcar, apresentaram maior peso, comprimento e diâmetro quando comparadas aos valores de pupas coletadas em *Sorghum halapense* (L.). Cada miligrama de ganho de peso das pupas fêmeas representou um aumento de 4,3 ovos produzidos pelos respectivos adultos. Variedades susceptíveis de cana-de-açúcar apresentaram um taxa finita diária de aumento de 1,132, enquanto que uma variedade moderadamente resistente apresentou valor de 1,128 para esta taxa (BESSIN; REAGAN, 1990).

Quintana-Muñiz e Walker, 1970 estudaram a preferência de oviposição de *D. saccharalis* em 17 plantas hospedeiras, em Porto Rico, sendo milho e cana-de-açúcar as plantas preferidas.

2.1.2 Bioecologia e comportamento

A duração do ciclo completo (de ovo à emergência do adulto) em campo, na cultura de cana-de-açúcar, variou de 73 a 102 dias, sendo a viabilidade média do ciclo de 3,48% (GUEVARA, 1976).

As exigências térmicas das diferentes fases de desenvolvimento da broca foram determinadas em laboratório, sendo as constantes térmicas para as fases de ovo, lagarta e pupa, respectivamente: 67,5; 517,0 e 126,1 GD e suas temperaturas bases de: 11,2; 7,3 e 10,6°C (MÉLO; PARRA; BRITO, 1988). Estes autores observaram ainda que o número de ínstaes larvais foi afetado pela temperatura (seis ínstaes a 20 e 22°C e 5 ou 6 ínstaes a 25, 30 e 32°C); a temperatura de 30°C foi a mais adequada para a manutenção de ovos, lagartas e pupas da broca, pois a de 32°C é prejudicial ao desenvolvimento do inseto.

Bortoli e Manprim (1984) realizaram estudos em condições de laboratório, utilizando colmos de plantas de milho como alimento. Foram observados que a duração e a viabilidade médias foram de: 7,06±0,08 dias e 63,67% para o estágio de ovo, 43,93±2,86 dias e 30% para o estágio larval e 6,43±0,56 dias e 92-98% para o

estágio pupal, respectivamente. A longevidade média dos adultos foi de $3,21 \pm 0,3$ dias.

As fêmeas, após a emergência, liberam feromônios sexuais, para atração, logo após o pôr do sol; o acasalamento ocorre à noite, podendo ocorrer vários acasalamentos. O horário preferencial de cópula é entre 21:00 e 22:00 horas, tendo duração média de uma hora e a postura é feita logo pela manhã (Walker, 1965); as mariposas preferem ovipositar sobre plantas mais verdes, com melhor estado nutricional, nas partes mais baixas das folhas, localizadas no meio da planta de milho no estágio V10 (estágio vegetativo com 10 folhas desenvolvidas) (SILVEIRA NETO, 1972; MORÉ; TRUMPER; PROLA, 2003).

Em cana-de-açúcar, foram observados que a altura de vôo tangencia a cultura e que o horário preferido para o vôo se dá entre 19:00 e 4:00 horas, havendo 2 períodos predominantes: das 22:00 às 23:00 e das 24:00 à 1:00 hora (MENDES et al., 1978). Estes adultos dispersam-se em média 42,5m/dia (BOTELHO et al., 1978).

Com objetivo de multiplicação dos inimigos naturais da broca em campo, foram semeadas áreas de milho vizinhas a talhões de cana-de-açúcar, os plantios ocorreram em fevereiro e setembro. Este estudo concluiu que o número de larvas da broca parasitadas foi maior nos milharais plantados em setembro; o parasitismo causado por taquinídeos e braconídeos foi menor em milho do que nos talhões de cana-de-açúcar (TERÁN, 1982).

Fenoglio e Trumper (2007) verificaram que a predação de ovos de *D. saccharalis* foi menor durante o período chuvoso; entretanto, a densidade de *Dorus luteipes* (Scudder, 1876) e a temperatura média foram positivamente correlacionadas com a mortalidade dos ovos da broca, em plantações de milho no estágio vegetativo.

Realizando levantamentos da população de predadores de *D. saccharalis* em cana-de-açúcar e sorgo, Fuller, Reagan e Fynn (1988) verificaram que em cana-de-açúcar a quantidade de predadores foi entre 4 e 16 vezes maior do que em sorgo.

Com o uso dos parâmetros biológicos de desenvolvimento, Mélo e Parra (1984) estimaram que podem ocorrer 5 gerações anuais completas da praga em canaviais de 4 localidades do Estado de São Paulo. Já na Argentina, Greco (1995a), realizando

amostragens semanais em plantações de milho, identificou anualmente duas gerações completas e uma terceira interrompida pela colheita e pelo frio.

2.1.3 Danos e importância econômica

Como já referido, o ataque da broca-da-cana no milho pode ocorrer de várias formas: seccionando o caule em plantas novas, ou causando o “coração morto” broqueando o colmo, atacando o pendão e até mesmo a espiga (Figura 1), se alimentando dos grãos e broqueando o sabugo (PINTO; PARRA; OLIVEIRA, 2004).

As lagartas de *D. saccharalis* ao eclodirem alimentam-se do parênquima das folhas, indo em direção à bainha. Quando estas atingem o segundo ou terceiro ínstaes perfuram a parte mais mole do colmo, freqüentemente os entrenós basais, abrindo galerias de baixo para cima. Às vezes podem abrir galerias transversais (PEAIRS; SAUNDERS; 1980b; FLYNN, REGAN, 1984; MUÑOZ, 1990; RODRIGUES-DEL-BOSQUE; SMITH; BROWNING; 1990; PINTO; PARRA; OLIVEIRA, 2004).

Quando o ataque ocorre em plantas com estágio de desenvolvimento mais avançado, podem ocorrer aberturas de galerias no pedúnculo das espigas, provocando a queda das mesmas. A alimentação das lagartas no colmo provoca dois tipos de ação: mecânica e fisiológica. A primeira ocorre quando o colmo fica enfraquecido e susceptível ao tombamento, provocado pelo vento e chuva; além disso ao se alimentar dos tecidos meristemáticos apicais da planta, provoca redução no seu crescimento. A ação fisiológica ocorre devido à alimentação, que impede o fluxo normal de água e nutrientes pela planta, provocando redução na quantidade e no peso das espigas (LÓPEZ, PIESCHACÓN; MUÑOZ, 1989; MUÑOZ, 1990; LARA, BARBOSA FILHO, BARBOSA; 1980; LARA, et al., 1994; GRECO, 1995b; GALLO et al., 2002; SERRA; TRUMPER, 2006).

Além desses danos diretos, as aberturas de orifícios nas plantas podem favorecer a entrada de microrganismos fitopatogênicos no interior do colmo (GALLO et al., 2002).

Figura 1 - Sintomas do ataque de *D. saccharalis* em plantas de milho, em infestação artificial. (A) orifício de saída do adulto da broca no colo da planta; (B) lagarta atacando pendão; (C) lagarta no interior do caule da planta, provocando danos; (D) diferença no tamanho entre planta infestada (indicada pela seta) e não infestada por *D. saccharalis*

Segundo Flynn e Regan (1984) a redução na produção causada por lagartas por planta pode ser de 1,8 a 3,5 vezes, quando essa infestação ocorre antes do início da fase de emissão do estilo-estigma. Quando a infestação ocorre nessa fase, são observadas perdas severas na qualidade das espigas. Infestações naturais antes ou

após a fase de grãos leitosos resultam em perdas significativas (em torno de 40%) na produção das espigas secundárias.

No Vale do Cauca, Colômbia, foram relatadas perdas na produção de milho de 1,32 a 11,73% em plantações atacadas por *Diatraea* spp. (LÓPEZ; PIESCHACÓN; MUÑOZ, 1989).

Em experimentos realizados no México, foram avaliadas a ocorrência de *D. saccharalis*, *Diatraea lineolata* Walker, 1856 e *Eoreuma loftini* (Dyar, 1917), em campos de milho. As lagartas de *Diatraea* spp. tiveram maior frequência no inverno. As perdas durante a primavera foram de 1,3% e 2,0% (em 1985 e 1986 respectivamente); no inverno, tais perdas chegaram a 17,0% (em 1985). Dentre as áreas avaliadas; em 1986, observaram-se perdas até 39,3% durante o inverno (RODRIGUES-DEL-BOSQUE; SMITH; BROWNING; 1988).

Também no México, Maredia e Mihm (1991) avaliaram duas variedades resistentes e uma suscetível de milho, submetidas a infestações artificiais por *D. saccharalis*, em diferentes estágios fenológicos. Os autores observaram que os estágios: 6-8 folhas, 9-11 folhas e o de floração são os mais adequados para a avaliação dos danos provocados pela alimentação nas folhas, no colmo e na espiga, respectivamente.

O comprimento da galeria produzida pela alimentação da broca no interior do colmo é influenciado pelas condições meteorológicas. Temperaturas mais elevadas provocam um desenvolvimento mais rápido do inseto e conseqüentemente um menor tempo de alimentação e menor comprimento da galeria produzida (PEAIRS; SAUNDERS; 1979).

Os danos provocados pela broca são variáveis, dependendo do estágio fenológico e da parte da planta atacada. Foram observadas perdas médias de 11,8; 9,9 e 14,1% na produção, para cada lagarta estabelecida por planta, quando a infestação iniciava-se no início e no meio da fase de cartucho e no início do “embonecamento”, respectivamente. Estas perdas, são provocadas devido à diminuição no peso das espigas (FLYNN; REAGAN; OGUNWOLU, 1984).

A distribuição das lagartas é variável de acordo com a fenologia da planta. Assim, lagartas pequenas (primeiros ínstaes) são geralmente encontradas nas folhas

e cartuchos, nos estágios vegetativos; durante os estágios reprodutivos, estas lagartas são encontradas distribuídas nas folhas do cartucho, colmo e espigas. Lagartas maiores (de últimos ínstaes) encontram-se principalmente no colmo das plantas (RODRIGUEZ-DEL-BOSQUE; SMITH; BROWNING, 1990).

Em sorgo, em condições de campo, as mariposas preferem ovipositar entre o período de florescimento e a maturação fisiológica das plantas. As lagartas atacam preferencialmente plantas no final da fase vegetativa e no início do florescimento (LARA et al., 1994). As perdas produzidas por essa praga podem chegar a 33,25% na produção de grãos (LARA; BARBOSA FILHO; BARBOSA, 1980), promovendo uma redução no nível de açúcar produzido pelas plantas de até 46%. Foram observadas correlações entre os danos provocados e o peso dos pedúnculos, porcentagem de sacarose e açúcares totais; determinou-se o nível de dano econômico como sendo de 10% de internódios broqueados (FULLER; REAGAN; FLYNN, 1988).

Alguns trabalhos têm demonstrado que nas culturas do milho e sorgo, os maiores danos, devido ao ataque de *D. saccharalis*, ocorreram quando foram utilizadas doses elevadas de adubação nitrogenada, (PARISI; ORTEGA; REYNA, 1973; TERÁN, 1982; MUÑOZ, 1990; BORTOLI, et al., 2005).

Kumar e Mihm (2002) verificaram que híbridos de milho, suscetíveis ao ataque de *D. saccharalis*, tiveram perdas semelhantes na produção, independente do tipo de sistema de cultivo utilizado (cultivo mínimo, convencional com preparo e sem cobertura do solo e com preparo e cobertura do solo) quando atacados pela praga.

2.2 Aspectos gerais de *Trichogramma*

O gênero *Trichogramma* foi descrito por Westwood em 1833, tendo como espécie tipo *Trichogramma evanescens* Westwood, 1833 (ZUCCHI; MONTEIRO, 1997). Este gênero possui cerca de 210 espécies descritas (PINTO, STOUTHAMER; 1994; PINTO, 2006;) e estas possuem cerca de 400 espécies hospedeiras, em 203 gêneros, 44 famílias e 7 ordens (BAO; CHEN, 1989 apud LI-YING LI, 1994).

A história da utilização de *Trichogramma* no controle biológico de lepidópteros pragas possui mais de 100 anos (SMITH, 1996); no entanto, somente em 1926,

quando Flanders desenvolveu um sistema de produção, utilizando ovos de *Sitotroga cerealella* (Olivier, 1819) como hospedeiro alternativo, seu uso difundiu-se em vários países (FLANDERS, 1927; LI-YING LI, 1994).

A taxonomia do grupo ainda permanecia confusa, até que na década de 70 Nagarkati e Nagaraja solucionaram esse problema ao proporem a utilização da morfologia da genitália do macho como caráter para identificação das espécies (NAGARKATI; NAGARAJA, 1971), caráter este que passou a ser utilizado em todo o mundo.

Ainda na década de 70, Lewis et al. (1976) observaram que ovos de *Anagasta kuehniella* (Zeller, 1879) eram nutricionalmente mais adequados do que os de *S. cerealella*, recomendando a substituição desta última espécie para a produção dos parasitóides.

Já nos anos 90, Stouthamer et al. (1990) verificaram que bactérias do gênero *Wolbachia* podem induzir partenogênese do tipo telítoca, acarretando a produção apenas de descendentes fêmeas, importantes na utilização em programas de controle biológico.

Atualmente estes parasitóides são utilizados em cerca de 16 milhões de hectares (VAN LENTEREN, 2000). As espécies do gênero *Trichogramma* estão entre os inimigos naturais mais utilizados em programas de controle biológico no mundo (PARRA; ZUCCHI, 2004).

O uso de parasitóides de ovos no controle biológico da broca-da-cana é antigo. Na Louisiana, a partir de março de 1927, teve início a produção de *Trichogramma* spp., sendo produzidos e liberados, em plantações de cana-de-açúcar e milho, mais de 60 milhões de parasitóides até 1928 (HINDS; SPENCER, 1929). Em Barbados, foram liberados cerca de 300 milhões de *Trichogramma fasciatum* (Perkins, 1912), anualmente, durante o período de 1930-34, reduzindo pela metade a infestação da praga (ALAM; BENNETT; CARL, 1971).

No Brasil, levantamento das espécies de *Trichogramma* parasitando ovos de *D. saccharalis* em diferentes culturas, revelou que a espécie mais comum é *Trichogramma galloi* Zucchi, 1988 (ZUCCHI; PARRA; SILVEIRA NETO, 1991). A utilização de *Trichogramma* spp. em nosso país foi pequena no início (PARRA et al.,

2002), sendo que *T. galloi* hoje vem sendo liberado em 300.000 ha de cana-de-açúcar (PARRA; ZUCCHI, 2008), com grandes chances de aumentar num futuro bem próximo. Na cultura do milho têm sido freqüentes as liberações destes parasitóides (especialmente *Trichogramma pretiosum* Riley, 1879 e *Trichogramma atopovirilia* Oatman & Platner, 1983) para o controle de *S. frugiperda* (PARRA; ZUCCHI, 2004).

2.3 Seleção de linhagens de *Trichogramma* e *Trichogrammatoidea*

Inicialmente a utilização de *Trichogramma* spp. em programas de controle biológico era realizada sem muitos critérios e uma prática comum, entre os usuários de *Trichogramma* em muitas partes do mundo, era a liberação de uma linhagem coletada em uma praga para o controle de outra espécie (HASSAN, 1994). A importância na escolha correta da espécie/linhagem, se deve ao fato de que nos parasitóides do gênero *Trichogramma* são observadas grandes variações genéticas inter e intraespecíficas, fazendo com que ocorram diferenças no comportamento de busca, preferência hospedeira e na tolerância às condições ambientais (PAK; VAN LENTEREN, 1988; PAK, et al., 1986; HASSAN, 1989; WAJNBERG, 1994).

Entretanto, até então não se conheciam quais características deveriam ser avaliadas para a comparação de diferentes espécies e/ou linhagens. Na década de 80, na Holanda, foram iniciados estudos em laboratório visando à seleção de linhagens de *Trichogramma* para o controle de lepidópteros pragas da couve (PAK, 1984). Para a condução destes estudos, foram coletadas 60 linhagens de várias espécies e origens (PAK; HEININGEN, 1985). Os critérios para avaliação dessas linhagens foram: comportamento de busca e de parasitismo (PAK et. al., 1989).

Após estes estudos iniciais, foram determinadas, em linhas gerais, quais características deveriam ser observadas durante o processo de seleção de linhagens, incluindo-se: capacidade de produção massal, ausência de características negativas e preferência ao hospedeiro (através da observação do comportamento de busca e parasitismo) (PAK; DE JONG, 1987; PAK; KASKENS; DE JONG, 1990). No entanto, permaneciam ainda os problemas de como essas características deveriam ser medidas e uma padronização da metodologia de avaliação (PAVLÍK, 1993).

Surgiram então dois métodos, que são utilizados até os dias de hoje por alguns pesquisadores (HEGAZI; KHAFAGI; HASSAN 2000; HERZ; HASSAN, 2006) e que são o método do contato e parasitismo e o método da observação contínua; tratam-se ambos de testes de livre escolha. O primeiro, consistindo na colocação de uma fêmea de *Trichogramma* isoladamente em um tubo de vidro, este contendo uma tira de papel quadriculado; nos quatro cantos deste papel são colados, em posições opostas, ovos do hospedeiro padrão (normalmente aquele utilizado para criação dos parasitóides) e ovos da praga visada; no centro do papel são adicionadas gotas da mistura ágar-mel para alimentação dos tricogramatídeos. Todos os tubos são observados oito vezes ao dia, durante as primeiras 24h do teste, registrando-se a localização do parasitóide (sobre os ovos da praga visada, do hospedeiro padrão ou em outro lugar), e o parasitismo após 5 dias (HASSAN, 1989, 1993, 1994, 1997). O segundo método, consiste na observação contínua de uma única fêmea de *Trichogramma* em contato com ovos de vários hospedeiros; estes são distribuídos em uma área retangular, o tempo de observação de cada fêmea é de 90 minutos e durante este intervalo são registrados: parâmetros comportamentais e a respectiva duração, o número de ovos parasitados, a quantidade de ovos do parasitóide por ovo do hospedeiro e a razão sexual (HASSAN, 1994, 1997).

Utilizando-se estas duas metodologias foram realizados diversos estudos. Assim, Hassan (1989) comparou 17 linhagens de *Trichogramma* de diferentes espécies, para o controle de *Cydia pomonella* Linnaeus, 1758, *Adoxophyes orana* Fisher von Röslerstamm, 1834 e *Pandemis haparana* Schiffermüller, 1776, observando que as linhagens 20 e 22 de *Trichogramma dendrolimi* Matsumura, 1926 parasitaram maior número de ovos. Entretanto, quando foram oferecidos ovos de uma das pragas visadas junto com ovos de *S. cerealella*, o autor observou que as linhagens 42 [*Trichogramma embryophagum* (Hartig, 1838)], 45, 47 e 48 (*Trichogramma* sp.) tiveram forte preferência pelos ovos dos hospedeiros naturais. Estes resultados permitiram que fossem selecionadas as linhagens 22 (*T. dendrolimi*), 42 (*T. embryophagum*), 48 e 45 (*Trichogramma* sp.).

Posteriormente, Hassan e Guo (1991) avaliaram 20 linhagens de *Trichogramma* para o controle de *Ostrinia nubilalis* (Hübner, 1796) utilizando os métodos do contato

e parasitismo e testes de semicampo. Os resultados dos testes em laboratório indicaram que as linhagens 62 (*Trichogramma ostrinae* Pang e Chen, 1917 originário da China) e 10 (*Trichogramma evanescens* Westwood 1833 originário da Moldávia), foram as mais adequadas para o controle de *O. nubilalis*. Nos experimentos conduzidos em semicampo não foram encontradas diferenças entre estas duas linhagens.

Também para o controle de *O. nubilalis*, Pavlík (1993) não observou diferenças, quanto à capacidade de parasitismo de linhagens de *Trichogramma maidis* Pintureau e Voegelé 1980 oriundas de *Mamestra brassicae* (Linnaeus, 1758), comparadas às linhagens coletadas em *O. nubilalis*. O autor demonstrou ainda que algumas linhagens de *Trichogramma* não perdem a capacidade de aceitar o hospedeiro natural, apesar de terem sido criadas por vários anos no hospedeiro alternativo *A. kuehniella*.

No Chile, foram conduzidos estudos avaliando cinco espécies de *Trichogramma* para o controle de *C. pomonella*. Foram utilizadas as espécies introduzidas: *Trichogramma cacoeciae* Marchal, 1927, oriundas da Bulgária, Alemanha e Irã; *T. dendrolimi* da Alemanha; *Trichogramma platineri* Nagarkatti, 1975, oriunda dos EUA e as espécies nativas *Trichogramma* sp. (coletada sobre ovos da praga visada) e *Trichogramma nerudai* Pintureau e Gerding 1999 (coletada em ovos de *Rhyacionia buoliana* Schffermüller, 1775). Após terem sido realizados testes de preferência e de capacidade de parasitismo, os autores recomendaram o uso de *T. cacoeciae* e *Trichogramma* sp. para o controle de *C. pomonella* (TORRES; GERDING, 2000).

Herz e Hassan (2006) compararam linhagens nativas coletadas em plantas de oliveira da região do Mediterrâneo [*Trichogramma bourachae* Pintureau e Babault, 1988, *T. cacoeciae*, *Trichogramma cordubensis* Vargas e Cabello, 1985, *Trichogramma euproctidis* (Girault, 1911), *Trichogramma nerudai* Pintureau & Gerding, 1999 e *Trichogramma oleae* Voegelé e Pointel, 1979)] com linhagens comerciais (*Trichogramma brassicae* Bezdenko 1968, *T. cacoeciae*, *T. evanescens*), buscando o controle de duas pragas da oliveira, *Prays oleae* Bernard 1788 e *Palpita unionalis* Hübner 1796. Com esse objetivo, foram realizados testes de livre escolha,

avaliação da capacidade de busca em plantas de oliveira e tolerância às condições áridas. Através da utilização de um “ranking”, a fim de comparar os resultados para os diferentes hospedeiros utilizados, os autores concluíram que as linhagens nativas foram as melhores. Alguns autores vêm realizando estudos de tabela de vida de fertilidade para determinar quais espécies e/ou linhagens de *Trichogramma* são as mais indicadas para serem utilizadas em programas de controle biológico. Essa metodologia é empregada visando, principalmente determinar a capacidade de produção destes parasitóides em ovos do hospedeiro alternativo (HALLE, et al., 2002; BLEICHER; PARRA, 1985; 1989; 1990; BOTTO; KLASMER; GERDING, 2004; SAMARA; MONJE; ZEBITZ, 2008).

Bleicher e Parra (1990) estudaram as tabelas de vida e fertilidade de *Trichogramma* sp.(população de Piracicaba-SP) e duas populações de *T. pretiosum* (populações de Iguatu-CE e Goiânia-GO). Foi verificado, com base na razão finita de aumento e na taxa líquida de reprodução, que a população de *Trichogramma* de Iguatu foi superior às demais populações.

Halle et al. (2002) compararam duas espécies, *Trichogramma bournieri* Pinterau & Babault e *Trichogramma* sp. nr. mwanza Schulten e Feijen, 1982, já utilizadas no Quênia no controle de *Helicoverpa armigera* (Hübner, 1808) e *Plutella xylostella* (L., 1758). Os autores encontraram diferenças em relação à capacidade de parasitismo apresentada pelas duas espécies; entretanto, não foram observadas diferenças quanto à razão de crescimento das duas populações.

Com o objetivo de avaliar sete linhagens de *Trichogramma aurosum* Sugonjaev & Sorokina, 1976 coletadas em diferentes países da Europa, Samara, Monje e Zebitz (2008) realizaram estudos avaliando parâmetros de tabela de vida de fertilidade destes parasitóides em ovos de *A. kuehniella*. Em muitos aspectos não houve diferenças significativas entre as linhagens. Entretanto, a linhagem originária da Alemanha apresentou maior potencial para ser multiplicada massalmente e liberada para o controle de *C. pomonella*.

Também para o controle de *C. pomonella*, Botto, Klasmer e Gerding (2004) avaliaram duas espécies neotrópicas de tricogramatídeos: *T. nerudai* e *Trichogramma* sp., esta última com partenogênese telítica. Mesmo gerando apenas

descendentes fêmeas, não foram observadas diferenças em relação à razão intrínseca de aumento, entre as duas espécies; isto ocorreu devido à maior capacidade de parasitismo de *T. nerudai*. Os autores concluíram que não houve quaisquer diferenças que justifiquem a escolha de uma das espécies; sugerem ainda que são necessárias avaliações de um maior número de parâmetros, em outros experimentos, a serem realizados em condições mais parecidas às aquelas encontradas no campo.

Após ter sido comprovado que bactérias do gênero *Wolbachia* podem induzir telitoquia em *Trichogramma* (STOUTHAMER; LUCK; HAMILTON, 1990), aumentaram os esforços para estudar estas populações, com objetivos de utilização prática. Entretanto, ficou demonstrado que linhagens telítocas geravam um menor número de fêmeas do que aquelas com partenogênese arrenótoca, em testes de laboratório (STOUTHAMER; LUCK, 1993). Estudos posteriores demonstraram que isso ocorria devido à baixa viabilidade dos estágios imaturos, quando estes foram oriundos de populações de *Trichogramma* contaminados pela bactéria (TAGAMI; MIURA; STOUTHAMER, 2001).

Silva et al. (2000) realizaram estudos comparando linhagens telítocas e arrenótocas. Através da utilização de antibióticos, os autores “criaram” linhagens arrenótocas a partir de populações telítocas. Com isso, foram obtidas linhagens idênticas, exceto o fato de estarem ou não contaminadas por *Wolbachia*. Nos testes em laboratório, as linhagens arrenótocas apresentaram desempenho superior, maior fecundidade e dispersão (avaliada por meio de um sistema de tubos); entretanto, nos ensaios conduzidos em casa-de-vegetação, não foram observadas diferenças entre as linhagens. Apesar de sua baixa fecundidade individual, linhagens telítocas têm um melhor potencial para utilização em programas de controle biológico, em relação às arrenótocas, devido à diminuição dos custos durante o processo de produção dos parasitóides.

Um dos trabalhos mais complexos de seleção de linhagens foi realizado na Rússia, onde Ram et al. (1995) estudaram sete linhagens de *T. evanescens* coletadas em diferentes regiões geográficas da Eurásia, avaliando três diferentes aspectos: biológicos, morfológicos e genéticos. O aspecto biológico foi estudado durante quatro

gerações, em quatro condições higrotérmicas e levando-se em consideração os seguintes parâmetros: fecundidade, longevidade, viabilidade, razão sexual e período de emergência. Não foi encontrada relação entre os resultados das análises eletroforéticas, morfológicas e as características biológicas.

A ESALQ/USP vem desenvolvendo pesquisas visando à utilização *Trichogramma* para o controle de pragas há mais de vinte anos. Estas obedecem às seguintes etapas: coleta, identificação e manutenção das linhagens de *Trichogramma*; seleção do hospedeiro alternativo para a criação massal dos parasitóides; aspectos biológicos e comportamentais de *Trichogramma* (sendo aqui incluído o processo de seleção de espécies e/ou linhagens); dinâmica dos ovos da praga visada; liberação dos parasitóides; estudos de seletividade; avaliação da eficiência e desenvolvimento de modelos de simulação da dinâmica praga/parasitóide (PARRA; ZUCCHI, 2004).

Seguindo estas etapas, Pratissoli e Parra (2001), compararam seis diferentes linhagens de *T. pretiosum*, visando ao controle de *Tuta absoluta* (Meyrick, 1917) e *Phthorimaea operculella* (Zeller, 1873). Foram avaliados os seguintes parâmetros: duração do período ovo-adulto, porcentagem de emergência, razão sexual e a porcentagem de parasitismo. Os autores observaram que as linhagens L1 e L4 foram as mais indicadas para o controle de ambas as pragas.

Trabalhando também com esta espécie de tricogramatídeo Beserra; Dias; Parra, 2003 avaliaram diferentes parâmetros biológicos, comportamentais e de parasitismo de 20 linhagens sobre ovos de *S. frugiperda*; segundo os autores, três destas linhagens, Lsg1, Lsg11 e Lsg18, apresentaram maior capacidade de parasitismo e de desenvolvimento sobre ovos deste hospedeiro; no entanto, as linhagens Lsg11 e Lsg18 foram as mais agressivas.

Molina, Fronza e Parra (2005) realizaram estudos com as espécies *T. pretiosum* e *T. atopovirilia*. As duas espécies foram consideradas promissoras para o controle da praga, sendo necessários maiores estudos em condições de campo. Além disso, foram verificados que os estudos das exigências térmicas juntamente com a capacidade de parasitismo são parâmetros confiáveis para serem utilizados no processo de seleção de espécies e/ou linhagens de *Trichogramma*.

Posteriormente, Gómez Torrez (2005) comparou as duas espécies diretamente e concluiu que *T. atopovirilia* é a que apresenta maior capacidade de parasitismo, indicando ser esta a que apresenta maior potencial para utilização no controle de *Gymnandrosoma aurantianum* Lima, 1927.

Nava, Takahashi e Parra (2007) avaliaram oito linhagens de *T. pretiosum*; uma de *T. atopovirilia*; duas de *Trichogramma bruni* Nagaraja, 1983 e uma de *Trichogrammatoidea annulata* De Santis 1972, visando sua posterior utilização para no controle de *Stenoma catenifer* Walsingham, 1912. Foram conduzidos estudos em laboratório, onde foram avaliados os parâmetros de parasitismo. Posteriormente, foram realizados testes em telados, com as duas melhores espécies (*T. atopovirilia* e *T. annulata*). Estes estudos permitiram concluir que a proporção ideal de parasitóides por ovos da praga são de 28 e 30, respectivamente para *T. annulata* e *T. atopovirilia*.

Visando ao controle de *P. operculella*, foram realizados diversos estudos, incluindo a seleção de espécie e linhagens de *Trichogramma*. Para esta avaliação, foram utilizadas oito linhagens de *T. pretiosum*, uma de *T. atopovirilia* e uma de *T. annulata*. Foram avaliados diversos parâmetros biológicos e o parasitismo. A espécie selecionada, foi *T. atopovirilia*, apresentando alto potencial de utilização para o controle da praga em campo (DOMINGUES, 2006).

Foram avaliadas diferentes espécies/linhagens de *Trichogramma* e *Trichogrammatidea*: 11 linhagens de *T. pretiosum*, coletados em dois hospedeiros [*S. frugiperda* e *Pseudoplusia includens* (Walker, 1857)], uma linhagem de *T. atopovirilia* e uma linhagem de *T. annulata* visando ao controle de *P. includens* na soja. Foram avaliados os seguintes parâmetros biológicos: número de ovos parasitados, porcentagem de parasitismo, porcentagem de emergência, número de adultos emergidos por ovo e razão sexual. Constatou-se que *T. pretiosum* linhagem RV, coletado em ovos de *P. includens*, é a mais adaptada para ser utilizada no controle biológico desta praga. (BUENO, 2008).

2.1.3 Nutrição de parasitóides adultos

De modo geral, as exigências nutricionais dos insetos adultos variam, entre as espécies, tendo espécies que não necessitam se alimentar, acumulando nutrientes em seu organismo durante a fase de larva, até aqueles que possuem complexas exigências de carboidratos, proteínas, aminoácidos e vitaminas na fase adulta (HOUSE, 1972). O entendimento das exigências nutricionais dos inimigos naturais das pragas é importante para maximizar a eficiência das estratégias de controle biológico (FUCHSBERG, et al., 2007).

A disponibilidade de nutrientes durante a ovogênese (formação dos ovos) é o principal fator limitante no sucesso reprodutivo dos insetos (NATION, 2002; CHAPMAN, 2006; MILANO, 2008). Todavia, o acasalamento e atividades fisiológicas, como o voo influenciam a disponibilidade dos nutrientes na maioria dos insetos (NATION, 2002). A composição do alimento ingerido tem grande importância neste processo. Assim, em geral, durante a formação do ovo são necessárias grandes quantidades de proteínas e lipídeos, além de carboidratos, por fornecerem energia para a síntese de componentes do vitelo; água, vitaminas e sais minerais também são constituintes necessários na dieta para que ocorra uma máxima produção de ovos (NATION, 2002; GILLOTT, 2005)

Entretanto, os insetos que apresentam pequena longevidade, normalmente, acumulam os nutrientes para a ovogênese durante o estágio larval. Por outro lado, adultos com longevidades maiores apresentam períodos de pré-oviposição mais longos, nos quais ocorre o desenvolvimento dos ovários. Neste caso, são necessárias grandes quantidades de alimentos nitrogenados para que se inicie a produção dos ovos. (JERVIS; FERNES; HEIMPEL, 2003; NATION, 2002). Entre os parasitóides da ordem Hymenoptera, essas duas categorias são conhecidas como sinovigênicas e pró-ovigênicas, respectivamente (ETZEL, LEGNER, 1999). Esses termos vêm sendo substituídos pelo chamado: índice de ovigenia (JERVIS; ELLERS; HARVEY, 2008).

A necessidade de abrigo também exige a exploração de outros recursos, além do hospedeiro (LEWIS, et al., 1998; JERVIS; HEIMPEL, 2005). Os parasitóides necessitam, periodicamente, interromper o processo de busca do hospedeiro para

obter energia, através de alimento, a fim de manter sua capacidade de busca/locomoção, bem como sustentar alta fertilidade ao longo da sua vida (LEWIS, et al., 1998, GILLOTT, 2005).

Esse alimento pode ser adquirido de duas formas: diretamente, consumindo material da fonte, como néctar floral e extrafloral, pólen, sementes e outras fontes menos comuns como seivas e alguns tecidos das plantas e indiretamente, consumindo “honeydew” de homópteros (JERVIS; HEIMPEL, 2005).

Para os parasitóides do gênero *Trichogramma* poderia ser esperada que a alimentação não fosse importante, pois estes insetos são considerados pró-ovigênicos. Entretanto, adultos de *Trichogramma* spp. alimentam-se de néctar e pólen, pois vários trabalhos mostram que essa alimentação aumenta o desempenho destes insetos (HOHMANN et al., 1989; SOMEHOUDHURY; DOUTT, 1988).

Bleicher e Parra (1991) estudaram o efeito do alimento na longevidade de *Trichogramma* sp. foi verificado que os insetos alimentados com mel puro tiveram longevidade superior aos demais tratamentos (mel a 10% e sem alimento); ainda nesse estudo, observou-se que a presença de ovos de *A. kuehniella* aumentava a longevidade, independentemente se o mel foi ou não fornecido.

McDougall, Mills, (1997) realizaram estudos com objetivo de aumentar a longevidade de *T. platneri* em campo, reduzindo assim, a frequência de liberações. Dentre os vários fatores que influenciam a longevidade das espécies de *Trichogramma*, a alimentação dos adultos é aquele mais facilmente aplicável e economicamente viável. Foram observados que fontes de açúcar são necessárias para prolongar a longevidade de *T. platneri*, sendo que apenas fontes de aminoácidos não aumentam sua longevidade. Soluções de mel maiores que 10% e de frutose e sacarose maiores que 43% aumentaram a longevidade de 10 a 13 vezes em comparação à água. Fontes naturais de açúcar, como o “honeydew”, apesar de aumentarem a longevidade dos parasitóides não são melhores que outras fontes alternativas. Entretanto, o uso dessas fontes alternativas de alimento ainda é inviável, pois estas evaporam rapidamente, mesmo com a utilização de estabilizantes.

Parasitóides de ovos como *Uscana mukerjii* (Mani, 1935) foram utilizados como modelo para verificar o seu desempenho quando alimentado com mel. Fêmeas

acasaladas apresentaram longevidade média de 5,2 dias quando alimentadas e 2,1 dias quando o mel não foi fornecido. A fecundidade foi uma vez e meia maior quando os tricogramatídeos foram alimentados (SOOD; PAJANI, 2006).

A longevidade das espécies *Trichogramma carverae* Oatman e Pinto, 1987 e *Trichogramma nr brassicae* foi maior (11 e 13 dias, respectivamente) quando alimentadas com mel em relação à condição em que não foi oferecido alimento (8 e 6 dias, respectivamente) (GURR; NICOL, 2000).

Sheaper e Atanassov (2004) estudaram o efeito do néctar produzido em nectários extra florais de pessegueiro, sobre duas linhagens (uma comercial e outra selvagem) de *Trichogramma minutum* Riley, 1871. Para as duas linhagens verificou-se que a longevidade, o número de ovos parasitados e o número de ovos destruídos devido à ação de alimentação e perfuração dos parasitóides, foram maiores quando foram oferecidos néctar e água destilada do que quando foi fornecida apenas água destilada.

Pôde-se verificar que a maioria dos estudos foram realizados utilizando-se substâncias nutritivas diretamente disponíveis aos parasitóides. Entretanto, a acessibilidade a essas substâncias também deve ser levada em consideração (LEWIS et al., 1998).

Assim, Witting-Bissinger, Orr e Linker (2008) ofereceram flores de *Fagopyrum esculentum* Moench e *Foeniculum vulgare* Mill. diretamente aos parasitóides *Trichogramma exiguum* Pinto & Platner, 1978 e *Cotesia congregata* (Say, 1836) e avaliaram a sua influência no desempenho dos parasitóides. A longevidade de ambas as espécies de insetos, *T. exiguum* e *C. congregata* foi de 6,7 e 5,1 dias respectivamente, quando em contato com *F. esculentum*; tal longevidade foi 8,5 vezes maior do que quando foi oferecida apenas água. A fecundidade de *T. exiguum* também foi maior quando foram oferecidos mel ou flores de *F. esculentum* em comparação à água ou flores de *F. esculentum*.

O parasitóide *Diadegma semiclausum* (Hellén, 1949) também teve um melhor desempenho para alguns parâmetros biológicos quando em contato com flores de *F. esculentum* e *Phacelia tanacetifolia* Betham, não havendo diferença quando em contato com flores de *Labularia marítima* (L.) (LAVANDERO et al., 2006).

Na Califórnia, foram realizados estudos com *Gonatocerus ashmeadi* Girault, 1915, *Gonatocerus triguttatus* Girault, 1916 e *Gonatocerus fasciatus* Girault, 1911, observando-se que elevadas concentrações de glicose (>44%) e frutose (>53%) são os recursos mais importantes para a sobrevivência destes insetos. Entretanto, apesar das flores de citros e de *P. tanacetifolia* conterem esses recursos em concentrações favoráveis, não foram as mais benéficas aos parasitóides, provavelmente devido à morfologia destas flores que não permite o fácil acesso ao néctar pelos parasitóides (IRVIN; HODDLE; CASTLE, 2007).

Tem sido também demonstrado que a longevidade não aumenta significativamente quando os parasitóides são alimentados por apenas um dia após a emergência (McDOUGALL; MILLS, 1997; SOOD; PAJNI, 2006; GÓMEZ TORRES et al., 2008).

Fuchsberg et al. (2007) observaram que “honeydew” do pulgão *Rhopalosiphum maidis* (Fitch., 1856) é um importante recurso alimentar para *T. ostrinae*.

Em estudos de campo, Treacy et al. (1987) verificaram altos índices de parasitismo de *T. pretiosum* em ovos de *Helicoverpa zea* (Boddie, 1850), em plantas de algodão com nectários extra florais, quando comparados com plantas sem nectários.

O pólen do milho é uma importante fonte de recurso alimentar para os parasitóides de ovos do gênero *Trichogramma* (WANG et al., 2007); a produção deste pólen é maior no período que antecede a antese.

Fêmeas de *T. minutum* são mais exigentes quanto ao tipo de alimento oferecido; mel puro, mel a 50% e frutose a 20% são os alimentos que proporcionam maior longevidade, enquanto que suspensões de levedura a 50 e 20% e água resultam em uma longevidade média igual àquelas que não se alimentaram. Quanto ao número de parasitóides produzidos, os resultados foram similares, indicando que quanto maior a longevidade maior o número de ovos parasitados (LEATEMIA; LAING; CORRIGAN, 1995).

Wang et al. (2007) estudaram o efeito do pólen de plantas de milho transgênico, que expressam proteínas Cry1Ab de *Bacillus thuringiensis* (Berliner), sobre fêmeas adultas de *T. ostrinae*. Os autores não verificaram quaisquer alterações na longevidade, número de ovos parasitados, viabilidade e razão sexual dos

parasitóides alimentados com solução de pólen oriundos de milho transgênico e não transgênico. Foi observado ainda, que a solução de água e pólen aumentou o desempenho reprodutivo e a sobrevivência de fêmeas de *T. ostrinae*, comparadas às fêmeas alimentadas com água apenas.

Os resultados encontrados por Zhang, Zimmermann e Hassan (2004) foram semelhantes. Assim, fêmeas de *T. brassicae* que se alimentaram de solução de água e pólen de milho, viveram significativamente mais do que fêmeas que ingeriram apenas água; por outro lado, viveram menos do que quando alimentadas com mel ou mistura de mel e pólen.

3. MATERIAL E MÉTODOS

Os ensaios realizados na presente pesquisa foram conduzidos no Laboratório de Biologia de Insetos do Departamento de Entomologia, Fitopatologia e Zoologia Agrícola da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiróz” (ESALQ), da Universidade de São Paulo (USP), em Piracicaba, Estado de São Paulo.

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

As pupas de *D. saccharalis* foram obtidas junto à criação estoque, mantida no laboratório na dieta artificial de Hensley e Hammond, (1968) modificada (Tabela 1). Estas foram separadas por sexo (BUTT; CANTU, 1962) e colocadas no interior de placas de Petri forradas com papel filtro umedecido com água destilada. As placas contendo pupas foram colocadas em gaiolas feitas de PVC (10 cm de diâmetro x 20 cm de altura), revestidas internamente com papel sulfite e cobertas na parte superior por outra placa de Petri (estas gaiolas foram denominadas “gaiolas de emergência”).

Após a emergência, os adultos foram transferidos para gaiolas de criação (15 casais por gaiola); estas eram iguais às gaiolas de emergência, no entanto, os adultos foram alimentados com água destilada, oferecida por capilaridade através de rolo dental, trocado a cada dois dias. As fêmeas realizam as posturas no papel sulfite que reveste internamente as gaiolas, sendo este renovado diariamente.

As folhas de papel sulfite contendo as posturas foram tratadas com: formaldeído 0,2% (2 minutos), água destilada (2 minutos) e solução de sulfato de cobre 1% (2 minutos), nesta sequência, a fim de evitar possível desenvolvimento de microorganismos. Parte das posturas foi utilizada na realização dos ensaios, a outra parte para a manutenção da criação de *D. saccharalis*.

As posturas utilizadas para a manutenção da criação foram colocadas em placas de Petri (1,5 cm de altura x 10,0 cm de diâmetro), revestidas internamente com papel filtro umedecido com água destilada, e colocadas em câmaras climatizadas ($25\pm 1^{\circ}\text{C}$, UR de $70 \pm 10\%$ e fotofase de 14 horas) até a eclosão das lagartas.

As lagartas recém-eclodidas foram transferidas para tubos de vidro esterilizados (2,5 cm de diâmetro x 8,5 cm de altura), contendo dieta artificial. Após o processo de transferência (“inoculação” das lagartas), os tubos de vidro foram tampados com algodão hidrófugo esterilizado e acondicionado em suportes de madeira. Estes foram mantidos na sala de desenvolvimento de lagartas (25±2°C, UR de 60 ±20% e fotofase de 14 horas) até a pupação.

Tabela 1 - Componentes da dieta para *D. saccharalis* Hensley e Hammond (1968) (modificada).

Componentes	Quantidade
Germe de trigo	15,00g
Farelo de soja	54,00g
Açúcar	52,50g
Sais de Wesson	7,50g
Ácido asórbico	1,90g
Cloreto de colina	0,40g
Vita Gold®	0,40ml
Solução vitamínica*	11,30ml
Metil parahidroxibenzoato (Nipagin)	3,00g
Formaldeído (37,2%)	0,75ml
Antibiótico (Tetrex ou Wintomylon)	0,13g
Ágar (1000ml de H ₂ O)	11,30g
Água destilada	900ml
Solução vitamínica*	
Niaciamida	1,00g
Pantotenoto de cálcio	1,00g
Riboflavina	0,50g
Tiamina	0,25g
Piridoxina	0,25g
Ácido fólico	0,10g
Biotina	0,02mg
Vitamina B12 (1000 mg/ml)	2,00ml

3.2 Criação e manutenção das linhagens de *Trichogramma galloi* Zucchi, 1988

Foram estudadas 10 linhagens de *T. galloi*, mantidas e multiplicadas em ovos do hospedeiro alternativo *Anagasta kuehniella* (Zeller, 1879), obtidos junto à empresa BUG Agentes Biológicos ®.

Os ovos foram colados em tiras de cartolinas (8,0 x 2,0 cm), utilizando-se goma arábica diluída em água (50%); posteriormente, estes foram submetidos ao processo de inviabilização pela exposição à lâmpada germicida (luz ultravioleta) a uma distância de 15 cm da fonte, durante 45 minutos (STEIN; PARRA, 1987). Nas extremidades das cartelas foram registradas a data do parasitismo e o código de identificação da linhagem.

Após terem sido inviabilizados e identificados, os ovos foram oferecidos aos adultos das respectivas linhagens de *T. galloi*, para serem submetidos ao parasitismo por 24 horas em tubos de vidro (8,5 cm de comprimento x 2,5 cm de diâmetro). No interior dos mesmos, com auxílio de um estilete, foram colocadas gotículas de mel puro, para a alimentação dos parasitóides (BLEICHER; PARRA, 1991)

Após o período de parasitismo, as cartelas foram retiradas e os adultos de *T. galloi* aderidos a ela removidos através de pequenas batidas; a cartela retirada foi colocada no interior de um novo tubo de vidro, semelhante ao anteriormente descrito, para o desenvolvimento do parasitismo.

Estes tubos foram colocados em grades metálicas e mantidos em câmara climatizada regulada a $25 \pm 1^\circ\text{C}$, UR: $70 \pm 10\%$ e fot ofase de 14 horas, para permitir o desenvolvimento dos parasitóides. A emergência dos mesmos foi prevista com base nas suas exigências térmicas (HADDAD; PARRA; MORAES, 1999).

Foram realizadas preparações de lâminas de machos em meio “Hoyers” de todas as linhagens, para identificação. A identificação das espécies foi realizada pelo Dr. Roberto Antônio Zucchi, do Laboratório de Taxonomia de Insetos, ESALQ/USP.

3.3 Seleção de linhagens de *T. galloi* Zucchi, 1988, visando ao controle de *D. saccharalis* em milho a 25°C

A seleção foi realizada a partir da coleção de linhagens de *T. galloi* mantidas pelo Laboratório de Biologia de Insetos do Departamento de Entomologia, Fitopatologia e Zoologia Agrícola da Escola Superior de Agricultura “Luis de Queiroz”. Foram utilizadas 10 linhagens, coletadas em plantios comerciais de cana-de-açúcar sobre ovos de *D. saccharalis* com origens em diferentes regiões do Brasil (Figura 2).

Estas foram mantidas em laboratório, em câmaras climatizadas ($25\pm 1^{\circ}\text{C}$, $70\pm 10\%$ e 14h de fotofase) utilizando-se ovos do hospedeiro alternativo *A. kuehniella*.

Figura 2 – Locais de coleta das diferentes linhagens de *T. galloi* utilizadas na seleção para o controle de *D. saccharalis* em milho

A nomenclatura das linhagens é muitas vezes realizada de forma arbitrária e sem quaisquer critérios. Isso prejudica a comparação dos trabalhos e impossibilita o rastreamento de uma determinada linhagem que seja de interesse.

Por esses motivos, neste trabalho foi utilizado pela primeira vez um novo tipo de nomenclatura das diferentes linhagens, essa leva em consideração a espécie, local de coleta e época de coleta.

A nova nomenclatura proposta de espécies/linhagens de *Trichogramma* é formado por 7 caracteres (Figura 3). O primeiro deles indica a espécie a que pertence a linhagem, inicialmente levando-se em consideração as espécies existentes no Laboratório de Biologia de Insetos da ESALQ/USP (Tabela 2). Para *Trichogrammatoidea annulata* De Santis, 1972 são utilizadas três letras A(Tr) (A de espécie e Tr referente ao gênero, entre parênteses). A utilização de duas letras para

indicar a espécie, poderá ser adotada no futuro, para linhagens com a mesma letra inicial, que poderão ser inseridas na coleção, como exemplo, *Trichogramma pratissolii* Querino & Zucchi, 2003. Neste caso, seu código seria P, o mesmo de *Trichogramma pretiosum* Riley, 1879; para evitar confusão, poderiam ser adotadas duas letras, iniciais do nome específico Pr. Em seguida, aparecem cinco números que referem-se ao local de coleta, indicado pelos cinco primeiros dígitos do código de endereço postal (CEP); por último, uma letra indica a estação do ano na qual foi realizada a coleta, indicando a época (Tabela 2).

Figura 3 - Esquema representando o código para a nomenclatura das linhagens. A primeira letra indica a espécie; os números em seguida indicam o código de endereço postal do local de coleta (5 números) e a última letra indica a estação do ano na qual a linhagem foi coletada.

A escolha do CEP para indicar o local de coleta se deve ao fato de que o mesmo é facilmente consultável através do endereço eletrônico dos correios e lista telefônica. Além disso, pode ser utilizado quando se conhece exatamente o local da coleta, por exemplo: Usina Maracaju-MS CEP é 16080 ou quando se conhece apenas o município onde a linhagem foi coletada: Maracaju-MS, o CEP do município é 16000.

Tabela 2 - Códigos das espécies de *Trichogramma* e *Trichogrammatoidea*, do endereço postal de alguns municípios e da época de coleta utilizados para a nomenclatura das linhagens

Espécies	Código	Local	Código	Época de Coleta	Código
<i>Trichogramma atopovirilia</i>	A	Piracicaba-SP	13400 a 13439	Primavera	P
<i>Trichogramma bruni</i>	B	Icó-CE	63430	Verão	V
<i>Trichogramma galloi</i>	G	Maracajú-MS	79150	Outono	O
<i>Trichogramma pretiosum</i>	P	Pelotas-RS	96000 a 96099	Inverno	I
<i>Trichogrammatoidea annulata</i>	A(Tr)	Curitiba-PR	80000 a 82999		

Antes da realização dos experimentos, as linhagens de *T. galloi* foram mantidas por uma geração em ovos de *D. saccharalis*, a fim de eliminar possíveis alterações causadas pelo condicionamento pré-imaginal, devido à criação no hospedeiro alternativo, *A. kuehniella* por várias gerações.

Assim, 25 fêmeas de cada linhagem (com menos de 24h de idade) foram isoladas em tubos de vidro (8,0 x 2,5 cm), contendo no seu interior mel puro para alimentação. Ovos de *D. saccharalis* foram coletados, numa criação estoque em dieta artificial, e com auxílio de um equipamento de vídeo, consistindo de uma câmera digital acoplada a um microscópio estereoscópico e monitor, foram agrupados em conjuntos de 75 ovos (com menos de 24h de idade). Posteriormente, foram imersos em soluções de formaldeído 0,2%, água destilada e sulfato de cobre 1%, para evitar o desenvolvimento de microrganismos. Os ovos foram oferecidos aos parasitóides por 24 h, permanecendo em câmaras climatizadas (25±1°C, UR=70±10% e 14 horas de fotofase). Estes procedimentos foram repetidos diariamente, até a morte dos parasitóides. Os ovos, após terem sido parasitados, foram colocados em tubos de material plástico, contendo no seu interior um chumaço de algodão umedecido e um pedaço de papel filtro, para que a umidade fosse mantida em seu interior (Figura 3) e colocados em câmaras climatizadas (25±1°C, UR=70±10 % e 14 horas de fotofase) até a emergência dos adultos. Foram avaliados os seguintes parâmetros: parasitismo diário e total, número de parasitóides emergidos por ovo, longevidade das fêmeas, viabilidade e duração dos estágios imaturos e razão sexual, dada pela fórmula:

$$rs = n^{\circ} \text{ de fêmeas} / (n^{\circ} \text{ de fêmeas} + n^{\circ} \text{ de machos}).$$

O sexo dos indivíduos foi determinado pelo dimorfismo apresentado nas antenas (BROWEN; STERN, 1966), utilizando-se microscópio estereoscópico.

O número de parasitóides emergidos por ovo foi determinado através da contagem do número de parasitóides emergidos dividido pelo número de ovos com orifício de saída do parasitóide.

A viabilidade dos estágios imaturos foi determinada pelo número total de parasitóides dividido pelo número total de ovos escuros.

A duração dos estágios imaturos e a longevidade das fêmeas foram determinados através de observações diárias, dos ovos, desde o dia do parasitismo, até a emergência dos adultos e das fêmeas adultas até a sua morte, respectivamente.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, sendo que cada linhagem constituiu um tratamento e cada fêmea uma repetição.

Figura 3 - Seqüência e materiais utilizados nos experimentos. (A) Conjunto microscópio estereoscópico, câmara de vídeo e computador utilizados para a contagem dos ovos; (B) ovos de *D. saccharalis* com <24h de idade; (C) Soluções utilizadas para evitar o desenvolvimento de microrganismos nos ovos (na seqüência, formaldeído, água destilada e sulfato de cobre); (D) ovos sendo colocados no tubo para parasitismo; (E) tubos de material plástico contendo ovos, algodão umedecido e papel filtro; (F) ovos de *D. saccharalis* parasitados por *T. galloi* (escurecidos)

3.4 Seleção de linhagens de *T. galloi* Zucchi, 1988 visando ao controle de *D. saccharalis* em milho a 30°C

Para a realização da seleção de linhagens a 30°C foram repetidos os mesmos procedimentos do item anterior (3.3), exceto que as câmaras climatizadas, onde foram colocados os parasitóides e os ovos parasitados para o seu desenvolvimento até o estágio adulto, estavam ajustadas a $30\pm 1^{\circ}\text{C}$ UR= $70\pm 10\%$ e 14 horas de fotofase.

3.5 Influência da temperatura sobre a capacidade de parasitismo e longevidade de *T. galloi*

A linhagem G16080 foi utilizada por ter se destacado dentre as outras no processo de seleção (itens 3.3 e 3.4).

Avaliou-se o efeito da temperatura sobre a capacidade de parasitismo e a longevidade de fêmeas de *T. galloi*.

Para cada temperatura, 25 fêmeas de *T. galloi* linhagem G16080, com menos de um dia de idade, foram individualizadas em tubos de vidro (12 x 75 mm), tampados com filme plástico de PVC Magipack®. Neste experimento os parasitóides não foram alimentados.

Foram fornecidos diariamente para as fêmeas, 75 ovos de *D. saccharalis*, utilizando-se um processo semelhante ao descrito no item 3.3. Estes foram oferecidos ao parasitismo, por 24 horas, em câmaras climatizadas ajustadas nas seguintes temperaturas: 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36 e $38\pm 1^{\circ}\text{C}$, todas com fotofase de 14 horas. A umidade e a temperatura no interior das câmaras foram medidas com uso de um termo-higrômetro (HANNA® modelo HI 8564).

Após esse período, os ovos retirados foram identificados (data, tratamento e repetição) e colocados em tubos de vidro (12 x 75 mm), contendo no seu interior um chumaço de algodão umedecido e uma tira de papel filtro, colocada em contato com os ovos e o algodão para evitar o ressecamento dos mesmos. Os tubos foram tampados com filme plástico de PVC Magipack® e colocados em câmaras

climatizadas reguladas a $25\pm 1^{\circ}\text{C}$, UR de $70\pm 10\%$ e fotofase de 14 horas, para que ocorresse o desenvolvimento dos parasitóides e conseqüentemente o escurecimento dos ovos, identificando o parasitismo.

Para a determinação da longevidade das fêmeas, foram realizadas observações diárias, sempre no mesmo horário, durante o processo de troca das posturas, registrando-se a data da morte delas.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com 15 tratamentos (temperaturas) e 25 repetições (fêmeas).

3.6 Influência do alimento sobre adultos de *T. galloi*

Com o objetivo de verificar a influência do alimento no parasitismo e longevidade de *T. galloi* foram comparados os seguintes tratamentos: mel puro; solução de mel a 10%; mistura de mel e pólen de milho (na proporção de 1:1); solução de pólen e água (na proporção de 20 mg/ml) e sem alimento.

Para a coleta do pólen, plantas de milho Agromen® cultivar AGN 25A23 foram plantadas em um telado (6 x 5 x 5m), do Laboratório de Biologia de Insetos. O pendão destas plantas foi coberto, utilizando-se sacos de papel, para a coleta do pólen. Posteriormente, os sacos foram retirados e levados ao laboratório, removendo-se o pólen com pincel.

A eliminação de resíduos e outras partículas indesejadas foram feitas com auxílio de uma peneira de solos com abertura de 300- μm . O material peneirado foi colocado no interior de um recipiente de vidro esterilizado (150 ml), envolvido com papel alumínio, tampado e acondicionado a -18°C até a sua utilização.

As dietas fornecidas aos parasitóides foram diariamente preparadas, a fim de evitar contaminações ou quaisquer alterações. Para o preparo da solução de mel a 10% foi utilizada água destilada em tubo eppendorf graduado. A solução de pólen foi preparada pesando-se, com auxílio da balança de precisão Explorer® modelo OHAUS, 20mg de pólen, adicionando-se 15 ml de água destilada. Esta solução foi colocada em um Becker e este em um agitador Fisatom® modelo 752. Para preparar

a mistura mel e pólen (1:1) foram utilizados Becker e uma colher para homogeneização.

Os parasitóides foram mantidos por uma geração, antes da realização dos experimentos, em ovos do hospedeiro *D. saccharalis* a fim de eliminar possíveis efeitos negativos causados pelo condicionamento pré-imaginal.

Fêmeas de *T. galloi* da linhagem G16080 (selecionada nos itens 3.3 e 3.4), com menos de 24h de vida, foram individualizadas em tubos de vidro (8,0 x 2,5 cm) fechados com filme plástico.

Foram realizados dois experimentos: no primeiro, não foram oferecidos ovos do hospedeiro natural *D. saccharalis* aos parasitóides, sendo determinada apenas a longevidade média. No segundo experimento, foram oferecidos diariamente, 75 ovos de *D. saccharalis* com menos de um dia de idade (procedimento similar ao dos itens 3.3 e 3.4); sendo avaliados: o parasitismo total e a longevidade média.

Os alimentos foram fornecidos diariamente, com auxílio de estilete, para aqueles mais consistentes (mel e mistura de mel e pólen) em um pipetador Gilson; para aqueles líquidos, adicionou-se 0,7µl da solução. Estes alimentos foram colocados na parede do tubo, preferencialmente no sentido em que caminhava o parasitóide, de modo a garantir que este encontrasse o alimento.

Para a determinação da longevidade média foram realizadas observações diárias, sempre no mesmo horário no qual o alimento foi adicionado e a postura trocada, até a morte das fêmeas.

Os experimentos foram conduzidos em câmaras climatizadas reguladas a $25\pm1^{\circ}\text{C}$; UR $70\pm10\%$ e fotofase de 14 horas.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com quatro tratamentos (alimentos), mais testemunha (sem alimento) e 30 repetições (fêmeas).

3.7 Comportamento de oviposição de *D. saccharalis*

Foi avaliada a influência de dois níveis populacionais de *D. saccharalis* sobre o comportamento de oviposição de *D. saccharalis* em milho.

Sementes de milho Agromen® AGN 25A23 foram semeadas em dois telados (6x5x4) do Laboratório de Biologia de Insetos. O espaçamento utilizado foi de 0,7m entre linhas com oito sementes por metro linear. Foram semeadas 3 linhas em cada telado (Figura 4). Após a emergência, quando as plantas estavam com 15 dias foi realizado o desbaste, mantendo-se 60 plantas em cada telado. O controle das pragas e ervas daninhas foi realizado de forma manual.

Quando as plantas estavam entre os estágios 2 e 3 (45 dias após a emergência), segundo a escala proposta por Fancelli e Dourado Neto (1986), foi realizada a liberação dos adultos de *D. saccharalis*. Foram consideradas duas situações: população baixa e população alta, liberando-se 120 adultos da broca (proporção de dois adultos por planta) e alta infestação 600 adultos da broca (10 adultos por planta). As liberações ocorreram no final da tarde.

Após dois dias foram avaliados: quantidade de plantas com posturas, o número de ovos, estimado com o uso do método do papel quadriculado (LOPES, 1988) e o local das posturas nas plantas.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com esquema fatorial, sendo cada nível e cada local de infestação considerado um tratamento e cada planta uma repetição.

3.8 Análises estatísticas dos dados

Nos experimentos de seleção de linhagens a 25 e 30°C os dados de parasitismo diário e total, número de parasitóides emergidos por ovo, viabilidade e duração dos estágios imaturos e razão sexual foram submetidos à análise de variância e, as médias, comparadas pelo teste de Tukey ($P > 0,05$). As longevidades foram analisadas através da curva de sobrevivência de Kaplan-Meier e comparadas pelo teste de Long-Rank e utilizando o programa R (R Development Core Team

2007). Foram feitas análises de agrupamento com o programa *Statistica*, versão 7.1 (STAT SOFT, 2001), utilizando todos os parâmetros avaliados nos processos de seleção de linhagens, entretanto para longevidade foi calculada a média ponderada de cada linhagem para cada temperatura.

Os dados de longevidade e parasitismo, oriundos da comparação do efeito de diferentes temperaturas, foram submetidos à análise da variância e comparados pelo teste de Tukey ($P>0,05$).

Na avaliação dos diferentes alimentos, a longevidade e o parasitismo foram submetidos a análise da variância e as médias comparados pelo teste de Tukey ($P>0,05$).

Os locais de postura de *D. saccharalis* em milho também foram submetidos à análise de variância e as médias, comparadas pelo teste de Tukey ($P>0,05$).

Para as análises onde as médias foram comparadas pelo teste de Tukey foi utilizado o programa SAS versão 9.1.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Seleção de linhagens de *Trichogramma galloi* Zuchhi, 1988 visando o controle de *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794) em milho a 25 e 30°C

Foram verificadas diferenças estatísticas para vários parâmetros estudados para as 10 linhagens de *T. galloi*: parasitismo diário e total, número de parasitóides emergidos por ovo, duração dos estágios imaturos e longevidade das fêmeas, para 25°C e 30°C e ainda de razão sexual para 30°C, (Tab elas 3 e 4) (Figuras 5 e 6), comprovando a existência de diferenças no desempenho entre linhagens de *Trichogramma* (HASSAN, 1994, 1997). Apenas os parâmetros viabilidade, nas duas condições, e razão sexual, a 25°C não diferiram estatisticamente.

A viabilidade média ficou entre 34,36 e 50,91% a 25°C e entre 45,56 e 54,58% a 30°C; esses valores podem ser considerados um pouco aquém do esperado, pois em outros trabalhos, com as mesmas temperaturas, foram observadas viabilidades superiores a 90% (SALES Jr., 1992; CÔNSOLI; PARRA; 1995a). As características do ovo de *D. saccharalis* com elevada quantidade de aerópilas, torna-o mais susceptível ao ressecamento causando baixa viabilidade (CÔNSOLI, 1997; PARRA et al., 1999). Mesmo os ovos permanecendo em câmara climatizada, com umidade controlada (70±10%), não tem sido suficiente para manter as condições ideais para o seu desenvolvimento, sendo necessária a utilização de um chumaço de algodão umedecido e uma tira de papel filtro para manter a umidade ideal. No entanto, esta técnica não apresenta uniformidade, gerando alta variação na viabilidade (SALES Jr., 1992), pois também o excesso de umidade e água livre causam efeitos negativos no desenvolvimento de *T. galloi* (CÔNSOLI; PARRA, 1996). Desta forma, estes fatores (excesso ou falta de umidade) podem ser responsáveis pela diferença existente na viabilidade apresentada neste trabalho em relação a outros referidos na literatura.

A razão sexual ficou entre 0,42 e 0,58 e 0,44 e 0,55 para 25° e 30°C, respectivamente, Sales Jr. (1992) verificou, para esta mesma espécie, valores de razão sexual de 0,86 e 0,78 para 25 e 30 °C, respectivamente. Monje, Zebitz e Ohnesorge (1999) também em *T. galloi*, observaram que a porcentagem de fêmeas

varia de acordo com o hospedeiro parasitado, e sobre ovos de *D. saccharalis* o número de fêmeas foi variável entre 34 e 69%, enquanto que sobre ovos de *Diatraea rufescens* Box, 1931, foi em torno de 75%.

A 30°C, as linhagens de *T. galloi* G75901 e G87230, foram as que tiveram menos fêmeas. Para as outras oito linhagens, embora tenham sido constatadas variações numéricas, não houve diferença estatística entre elas (Tabela 4). Outros autores também encontraram variação da razão (ou proporção) sexual produzida em diferentes linhagens de *Trichogramma*, (PARRA; ZUCCHI; SILVEIRA NETO, 1986; BROWNING; MELTON, 1987; PRATISSOLI; PARRA, 2001; BESERRA; SANTOS DIAS; PARRA, 2003; RANA; MONJE; ZEBITZ, 2008)

Em relação ao parasitismo médio diário a 25°C, as linhagens G79150, G16080 e G16040 foram as mais agressivas (com uma média de 14,15; 11,64 e 10,65 ovos parasitados/dia); entretanto, as duas últimas não diferiram estatisticamente das cinco linhagens que tiveram resultados intermediários. A linhagem G86400, foi a menos agressiva, apesar de não diferenciar estatisticamente de outras seis linhagens, apresentando um valor de médio de ovos parasitados por dia 2,36 vezes menor do que a linhagem G79150.

Na temperatura de 30°C, houve aumento do parasitismo médio diário, para todas as linhagens estudadas, provavelmente devido à menor longevidade dos parasitóides, o que causou uma maior concentração do parasitismo nos primeiros dias após a emergência. Para esta temperatura, as linhagens que parasitaram mais foram: G16040, G86400 e G16080, que diferiram estatisticamente apenas das duas menos agressivas (G87230 e G75901). Houve uma concentração de parasitismo nos primeiros dias, coincidindo com os resultados da literatura referentes a espécie *T. galloi*, que apresenta o ritmo de parasitismo concentrado nos primeiros dias de vida (LOPES, 1988; LOPES; PARRA, 1991; CÔNSOLI; PARRA, 1995b).

Nas duas condições térmicas estudadas, G16080 e G16040 mantiveram valores de parasitismo médio diário, elevados.

O parasitismo total, foi variável entre as 10 linhagens testadas, com um intervalo entre 19,4 e 32,76 ovos/fêmea a 25°C e de 11,67 e 34,83 ovos/fêmea a 30°C ovos por fêmea. Outros trabalhos também demonstraram diferenças em relação à

capacidade de parasitismo entre espécies/linhagens de *Trichogramma* (BLEICHER, 1985; LOPES, 1988; PRATISSOLI; PARRA, 2001; GÓMEZ TORREZ, 2005; MOLINA; FRONZA; PARRA, 2005; DOMINGUES, 2006; NAVA; TAKAHASHI; PARRA, 2007; BUENO, 2008).

Para a temperatura de 25°C (Tabela 3); o parasitismo total foi maior para as linhagens G16880, G16080 e G65840, sendo as três superiores à linhagem G18440, embora sem diferenças estatísticas em relação às demais linhagens. A linhagem G18440 foi a menos agressiva dentre o material avaliado, tendo parasitado apenas 19,04 ovos.

A 30°C (Tabela 4), houve uma maior diferenciação das linhagens, sendo o intervalo entre a melhor e a pior linhagem de 23,16 ovos por fêmea. O maior parasitismo foi verificado para a linhagem G16080 (34,83 ovos), embora sem diferir estatisticamente das linhagens G16040, G16880, G86400 e G65840. Nesta condição térmica, a linhagem que apresentou o pior desempenho, G75901 com 11,67 ovos parasitados, não diferiu estatisticamente das linhagens G18440, G79150 e G87230.

As linhagens G16880 e G16080 a 25°C foram as únicas a parasitarem, em média mais de 30 ovos; estas mesmas linhagens também se destacaram a 30°C, pois G16080 apresentou o maior parasitismo (34,83) enquanto G16880 (29,16), foi superada apenas pela linhagem G16040. Estas três linhagens possuem origem em locais bem próximos e quentes, na região de Araçatuba-SP (Figura 2). Por sua vez, as linhagens G18440 e G87230, tendo como origem regiões mais frias (mais ao sul) foram, levando-se em consideração as duas temperaturas, as menos agressivas.

De modo geral, o parasitismo total apresentado pelas 10 linhagens avaliadas a 25 e 30°C foi inferior ao encontrado por Sales Jr. (1992), Lopes e Parra (1991) e Cônsoli e Parra (1995b, 1996) e próximo ao verificado por Gomes (1997).

A duração dos estágios imaturos variou entre 10,41 e 11,47 dias a 25°C, resultado similar ao encontrado em outros trabalhos (SALES Jr., 1992; CÔNSOLI; PARRA, 1996), porém menor do que o verificado por Cônsoli e Parra (1995b), de 12,14 dias. As linhagens G79150, G16080 e G16040 foram as que apresentaram menores durações (10,41; 10,46 e 10,47 dias, respectivamente), embora tenha

diferido estatisticamente de apenas de G18440 e G75901, sendo que em G18440 ocorreu um alongamento do ciclo (11,47 dias).

Os estágios imaturos, na temperatura de 30°C, tiveram duração média de 8,65 dias com um intervalo, entre a maior e a menor duração de 0,62 dias. As linhagens G16080, G65840, G16040, G79150 e G16880 apresentaram menores durações dos estágios imaturos. A linhagem G16880 embora tenha levado a uma duração igual à obtida pela linhagem G79670 (que não diferiu das demais), também teve um alongamento do ciclo de *T. galloi*.

Quando comparadas as durações dos estágios imaturos nas duas condições térmicas, observa-se que as quatro linhagens, numericamente, com menor duração, a 25°C estavam entre as cinco linhagens com menor duração também a 30°C. Estes resultados foram similares aos encontrados por Ram et al. (1995), pois estes autores observaram que as linhagens avaliadas, se comportaram igualmente, independente das condições higrotérmicas em que se desenvolveram.

O número médio de parasitóides emergidos por ovo de *D. saccharalis* variou de 1,35 e 2,39 (com variância de 1 a 4) a 25°C para as diferentes linhagens avaliadas (Tabela 3). A linhagem G18440 foi estatisticamente superior às linhagens G79670, G16080, G16880 e G75901, esta última apresentando a menor quantidade de parasitóides emergidos por ovo (1,35).

Em média, estes valores foram superiores na condição de 30°C (Tabela 4), com 1,98 parasitóides emergidos por ovo. Nesta temperatura, apenas as linhagens G18440, G86400 e G79150 apresentaram diferença significativa em relação às linhagens G16880 e G75901, com uma maior quantidade de parasitóides emergidos.

Nas duas condições térmicas (25 e 30°C), pôde-se verificar que a linhagem G18440 apresentou o maior número de adultos emergidos por ovo de *D. saccharalis*, sendo que G75901 e G16880 foram as linhagens que deram menor número de adultos emergidos por ovo.

Diversos estudos têm demonstrado diferentes quantidades de adultos de *T. galloi* emergidos por ovo de *D. saccharalis*, 1,58; 1,55 e 2,07 (LOPES, 1991; CÔNSOLI; PARRA, 1994; GOMES, 1999). O número de parasitóides que emergem por ovo hospedeiro está relacionado não só com o tamanho do ovo hospedeiro, como

também com o tamanho do adulto dos parasitóides (GOMES, 1999). Estas correlações não foram avaliadas na presente pesquisa.

Tabela 3 - Dados biológicos e de parasitismo médio de *T. galloi* sobre ovos de *D. saccharalis* a 25±1°C (UR=70±10% e 14 horas de fotofase) ⁽¹⁾

Linhagens	Parasitismo diário ± EPM ⁽²⁾	Parasitismo total ± EPM	Viabilidade ± EPM (%) ⁽³⁾	Número de parasitóides/ovo ± EPM	Duração dos estágios imaturos ± EPM (dias) ⁽²⁾	Razão sexual ± EPM
G79670	8,50 ± 1,70 bc	23,68 ± 4,74 ab	43,40 ± 8,68	1,79 ± 0,36 bc	10,62 ± 2,12 ab	0,58 ± 0,12
G16080	11,64 ± 2,38 ab	31,63 ± 6,46 a	44,24 ± 9,03	1,68 ± 0,34 bc	10,46 ± 2,13 a	0,46 ± 0,09
G16040	10,65 ± 2,13 ab	28,60 ± 5,72 ab	42,07 ± 8,41	1,95 ± 0,40 ab	10,47 ± 2,14 a	0,53 ± 0,11
G75901	8,81 ± 1,84 bc	26,22 ± 5,47 ab	34,36 ± 7,16	1,35 ± 0,28 c	11,08 ± 2,31 bc	0,42 ± 0,08
G65840	8,41 ± 1,68 bc	30,60 ± 6,12 a	45,90 ± 9,18	2,07 ± 0,42 ab	10,78 ± 2,20 ab	0,56 ± 0,11
G86400	6,33 ± 1,29 c	24,83 ± 5,07 ab	47,44 ± 9,68	2,02 ± 0,42 ab	10,77 ± 2,25 ab	0,57 ± 0,12
G87230	7,46 ± 1,54 bc	21,17 ± 4,32 ab	42,70 ± 8,72	1,87 ± 0,38 ab	10,66 ± 2,18 ab	0,46 ± 0,09
G16880	8,24 ± 1,65 bc	31,76 ± 6,35 a	44,08 ± 8,82	1,55 ± 0,31 bc	10,59 ± 2,16 ab	0,55 ± 0,11
G79150	14,15 ± 2,83 a	24,48 ± 4,90 ab	37,92 ± 7,58	2,04 ± 0,42 ab	10,41 ± 2,12 a	0,55 ± 0,11
G18440	8,98 ± 1,80 bc	19,04 ± 3,81 b	50,91 ± 10,18	2,39 ± 0,48 a	11,47 ± 2,29 c	0,52 ± 0,10

⁽¹⁾ Médias seguidas por letras iguais nas colunas não diferem entre si pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade. ⁽²⁾ Dados transformados em (raiz(x+6)). ⁽³⁾ Dados transformados em arc sen ($\sqrt{x/100}$).

Tabela 4 - Dados biológicos e de parasitismo médio de *T. galloi* sobre ovos de *D. saccharalis* a 30±1°C (UR=70±10% e 14 horas de fotofase) ⁽¹⁾

Linhagens	Parasitismo diário ± EPM ⁽²⁾			Parasitismo total ± EPM		Viabilidade ± EPM (%) ⁽³⁾		Número de parasitóides/ovo ± EPM		Duração dos estágios imaturos ± EPM (dias) ⁽²⁾		Razão sexual ± EPM	
G79670	11,20	± 1,14	bc	21,64	± 1,56 bc	45,56	± 4,38	1,80	± 0,06 abc	8,81	± 0,01 bc	0,55	± 0,12 a
G16080	18,90	± 1,90	ab	34,83	± 1,85 a	49,78	± 3,34	2,04	± 0,05 abc	8,26	± 1,36 a	0,52	± 0,12 ab
G16040	21,73	± 2,37	a	30,48	± 2,40 ab	50,50	± 4,85	1,89	± 0,06 abc	8,47	± 1,69 a	0,49	± 0,10 abc
G75901	9,37	± 1,37	c	11,67	± 1,47 d	52,07	± 6,02	1,68	± 0,05 c	8,94	± 1,48 c	0,44	± 0,14 c
G65840	13,20	± 1,42	abc	24,04	± 1,74 abc	49,19	± 5,70	2,07	± 0,06 abc	8,46	± 1,54 a	0,55	± 0,13 a
G86400	19,45	± 2,39	ab	28,12	± 2,09 ab	54,58	± 6,82	2,26	± 0,08 a	8,86	± 1,30 c	0,54	± 0,11 a
G87230	9,93	± 1,58	c	20,88	± 2,11 bcd	53,83	± 6,15	1,97	± 0,09 abc	8,84	± 1,25 c	0,46	± 0,13 bc
G16880	11,92	± 2,63	bc	29,16	± 2,76 ab	51,28	± 5,49	1,55	± 0,06 c	8,53	± 0,01 ab	0,52	± 0,08 a
G79150	15,53	± 1,93	abc	20,48	± 1,65 bcd	48,88	± 6,07	2,22	± 0,06 ab	8,47	± 1,28 a	0,52	± 0,11 ab
G18440	13,38	± 1,97	abc	16,32	± 1,88 cd	54,07	± 5,08	2,28	± 0,09 a	8,88	± 1,36 c	0,51	± 0,12 abc

⁽¹⁾ Médias seguidas por letras iguais nas colunas não diferem entre si pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade. ⁽²⁾ Dados transformados em (raiz(x+6)). ⁽³⁾ Dados transformados em arc sen ($\sqrt{x/100}$).

A 25°C, as curvas de sobrevivência das fêmeas foram semelhantes (Figura 5) e apenas a linhagem G67150 teve a curva de sobrevivência estatisticamente inferior às demais, exceto G18440, que foi estatisticamente igual a todas as linhagens. Estas duas linhagens apresentaram menos de 50% dos adultos vivos no segundo dia de vida. A sobrevivência máxima foi verificada para a linhagem G16880, com morte de 100% dos adultos apenas no décimo dia; as linhagens G86400 e G65840 tiveram longevidade máxima de 8 dias e as demais linhagens viveram menos.

A 30°C, houve maiores diferenças entre as curvas de sobrevivência (Figura 6). As linhagens G16880 e G87230 foram superiores, sendo estatisticamente diferentes das demais, exceto G79670 que não diferiu estatisticamente de nenhuma das linhagens; G87230 também não apresentou diferença estatística de G86400, G79150, G65840 e G16080 e estas por sua vez, não diferiram estatisticamente de G75901, G18440 e G16040. A linhagem G16880 apresentou a curva de sobrevivência bem mais alongada do que as demais e sua longevidade máxima foi de 11 dias, bem superior ao valor de cinco dias registrado pela linhagem G79670 e quatro dias pela linhagem G87230; no entanto, estas diferenças não foram suficientes para resultar em diferença estatística entre as mesmas.

O aumento da temperatura causou modificações no ritmo metabólico das linhagens e conseqüentemente alterações na longevidade de todas as linhagens. Entretanto, contrariando expectativas, a linhagem G18440 apresentou a curva de longevidade mais alongada na condição de 30°C.

Figura 4 – Curva de sobrevivência de fêmeas das 10 linhagens de *T. galloi*, oriundas de ovos de *D. saccharalis* avaliadas na seleção a $25\pm 1^{\circ}\text{C}$ para o controle de *D. saccharalis* em milho (UR= $70\pm 10\%$ e 14 horas de fotofase)

Figura 5 – Curva de sobrevivência de fêmeas das 10 linhagens de *T. galloi*, oriundas de ovos de *D. saccharalis* avaliadas na seleção a $30 \pm 1^\circ\text{C}$ para o controle de *D. saccharalis* em milho (UR=70 $\pm$ 10% e 14 horas de fotofase)

Aparentemente, não há correspondência entre a condição térmica do local de coleta (se a linhagem era de região fria ou quente) e respectivo comportamento do parasitóide em condições térmicas semelhantes em laboratório.

A análise de agrupamento (“cluster analyses”) para a seleção feita a 25°C (Figura 7) separou dois grupos distintos a 80% de distância: o menor, composto pelas linhagens G16080, G16040 e G86400, e o grupo maior constituído pelas sete linhagens restantes. Estas linhagens (G16080, G16040 e G86400) pelo desempenho apresentado nas diferentes características avaliadas, são superiores às outras. Dentre estas linhagens G16080 foi a que apresentou, numericamente, valores superiores de parasitismo diário e total, sendo portanto esta a linhagem selecionada para o controle de *D. saccharalis* em milho.

Na outra condição, a 30°C, a análise de agrupamento (“cluster analyses”) (Figura 8) separou as linhagens em três grupos, na distância de 80%; o primeiro, composto por G79670, G87230, G86400 e G18440, o segundo por G16080, G65840, G16880 e G16040 e o terceiro por G75901 e G79150. Pelas características apresentadas pelas linhagens do terceiro grupo, verifica-se que estas não possuem características desejadas, sendo este grupo descartado; as linhagens que formaram o primeiro grupo apresentaram desempenho intermediário, sendo as linhagens do segundo grupo as que detêm as melhores características para futuras liberações, considerando os aspectos biológicos e de parasitismo. Dentre estas quatro linhagens (G16080, G65840, G16880 e G16040), G16080 foi a que apresentou o maior parasitismo total, importante característica a ser avaliada durante o processo de seleção, além disso, a duração dos estágios imaturos foi encurtado em relação as outras linhagens agrupadas; desta forma por apresentar um melhor desempenho na faixa de 25 e 30°C, com relação a características importantes, a linhagem G16080 foi selecionada para futuras liberações visando ao controle de *D. saccharalis* em milho.

Figura 6 - Fenograma comparativo de 10 linhagens de *T. galloi* criadas em ovos de *D. saccharalis*; resultado da análise de agrupamento com base nos parâmetros biológicos e de parasitismo a $25 \pm 1^\circ\text{C}$ (UR=70 $\pm$ 10% e 14 horas de fotofase)

Figura 7 - Fenograma comparativo de 10 linhagens de *T. galloi* criadas em ovos de *D. saccharalis*; resultado da análise de agrupamento com base nos parâmetros biológicos e de parasitismo a $30 \pm 1^\circ\text{C}$ (UR= $70 \pm 10\%$ e 14 horas de fotofase)

4.2 Influência da temperatura sobre o parasitismo e longevidade de *T. galloi*

A linhagem G16080, após ter sido selecionada a 25 e 30°C (item 4.1), teve sua capacidade de parasitismo e longevidade avaliadas, em diferentes temperaturas, a fim de verificar quais seriam as condições térmicas ideais para a realização de liberações inundativas da mesma, visando ao controle de *D. saccharalis* em milho.

A longevidade, como era de se esperar, foi inversamente proporcional ao aumento da temperatura até 26°C , quando houve uma estabilização (Figura 8), sendo verificadas diferenças estatísticas entre as diversas temperaturas. Assim, formaram-se grupos que não diferiram estatisticamente entre si de 10 a 14°C (16); de 14 (16) a 18°C (20); de 20 a 24 e de 24 a 38°C .

Na temperatura de 10°C, a longevidade média foi de 6,24 dias e mesmo não diferindo estatisticamente de 12 e 14°C, essa temperatura foi a única em que os parasitóides viveram, em média, mais do que cinco dias. Nas temperaturas de 16 e 18°C, foi verificado que a longevidade foi, em média, superior a 3 dias. Quando as temperaturas foram maiores do que 20°C, houve uma acentuada diminuição da longevidade, com um intervalo de apenas 0,72 dias entre a maior e a menor longevidade média. A partir de 30°C, os parasitóides não viveram mais do que 1 (um) dia.

Figura 8 – Longevidade média de fêmeas de *T. galloi* em diferentes temperaturas (UR=60±10% e 14 horas de fotofase). Barras seguidas da mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P < 0,05$). Dados transformados em $(\text{raiz}(x+0,5))$

Em experimentos anteriores (item 4.1), esta mesma linhagem apresentou longevidade bem superior aos valores aqui obtidos, quando consideradas temperaturas próximas às testadas neste experimento. Em 4.1, os adultos receberam mel puro como alimento, diferentemente da presente pesquisa (4.2) em que os adultos não foram alimentados.

Estes resultados, de longevidade média foram inferiores aos verificados por Cõnsoli e Parra (1995b) e provavelmente, esta diferença ocorreu pelo fato destes

autores terem fornecido além do alimento (mel), ovos de *D. saccharalis* aos parasitóides (vide item 4.3), Sales Jr. (1992) também realizou estudos similares com *T. galloi*, e observou que a maior longevidade ocorreu a 22°C (8,88 dias), neste caso também com o fornecimento de alimento (mel puro) aos adultos.

O parasitismo médio de *T. galloi* variou com a temperatura (Figura 9). Nas temperaturas intermediárias, entre 20 e 28°C, foi verificado o maior número de ovos parasitados/fêmea. As temperaturas extremas (10, 12 e 38°C) afetaram negativamente o parasitismo, sendo que nestas temperaturas o número médio de ovos parasitados foi menor do que dez. Nos intervalos entre 14 e 18°C e entre 30 e 34°C ocorreram parasitismos menores e semelhantes (Figura 9). É importante salientar que a linhagem de *T. galloi* selecionada foi bastante agressiva, parasitando mesmo a 10 e 38°C, valores extremos da faixa térmica estudada.

Figura 9 – Parasitismo médio de *T. galloi* em ovos de *D. saccharalis* em diferentes temperaturas (UR=70±10% e 14 horas de fotofase). Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P < 0,05$). Dados transformados em $\text{raiz}(x+3)$

Resultados semelhantes foram encontrados para outras espécies de tricogramatídeos (LUND, 1938; RUSSO; VOEGELÉ, 1982; CABELLO; VARGAS, 1988; CÔNSOLI; PARRA 1995). Em média, 20°C é considerada a temperatura ótima de parasitismo para Trichogrammatidae (CARRIÈRE; BOIVIN, 1997). Sales Jr. (1989) verificou que o número de ovos parasitados por *T. galloi* foi maior a 32°C, resultados

estes discrepantes em relação a outros trabalhos. CÔNSOLI e PARRA (1995) observaram que a maior quantidade de ovos parasitados ocorreu entre 20 e 30°C.

Temperaturas extremas causam em geral, diminuição da taxa de parasitismo e de atividade dos tricogramatídeos, embora essas respostas possam ser variáveis entre as diferentes espécies. Em geral, baixas temperaturas provocam uma diminuição do metabolismo e, conseqüentemente, alongamento dos vários estágios de desenvolvimento; o inverso ocorre quando o inseto é exposto a elevadas temperaturas. Entretanto, isso se dá até certo limite, a partir do qual o metabolismo acaba sendo prejudicado, afetando negativamente o desempenho do inseto e causando a sua morte “prematura” (GILLOTT, 2005).

As infestações de *D. saccharalis* em milho vêm ocorrendo em diversas partes do país (sul de São Paulo, norte e oeste do Paraná, Minas Gerais e toda região Centro-Oeste) e como estas regiões apresentam diferenças climáticas, tais condições podem afetar o desempenho dos parasitóides no campo após sua liberação (PINTO, 1999; PINTO et al., 2003), sendo por isso importante a avaliação da linhagem selecionada, (G16080, determinada no item 4.2) nas diferentes temperaturas. Mélo e Parra (1988) observaram que *D. saccharalis* coloca maior número de ovos nas temperaturas de 20 e 22°C, temperaturas estas que coincidem com as temperaturas em que *T. galloi* (linhagem G16080) apresentou melhor desempenho.

4.3 Efeito do alimento na longevidade e parasitismo de *T. galloi*

A dieta e a presença do hospedeiro afetaram a longevidade de *T. galloi* (Figura 10). Apenas a solução de pólen não aumentou a longevidade do parasitóide, nem mesmo com a presença do hospedeiro, sendo que com este alimento, a longevidade foi semelhante à testemunha. Além do alimento portanto, também a presença do hospedeiro influenciou a longevidade média, que foi numericamente maior para todos os tratamentos e estatisticamente superior quando os adultos foram alimentados com mel puro, solução de mel e solução de pólen (Figura 10); para estes três tratamentos, o aumento na longevidade, devido à presença do hospedeiro, foi de 33,67, 42,77 e 30%, respectivamente. Esse aumento na longevidade média pode estar relacionado ao

hábito destes parasitóides de se alimentarem do líquido que extravasa do ovo quando este é perfurado para a oviposição. Entretanto, quando os indivíduos não foram alimentados, não foi verificada diferença estatística entre a presença ou ausência do hospedeiro. Provavelmente, o líquido não extravasa em quantidade suficiente para suprir as necessidades do parasitóide, sendo necessárias outras fontes de alimento suplementares. Segundo Romeis et al. (2005), ovos de Lepidoptera são fontes pobres de carboidratos para himenópteros parasitóides.

Bleicher e Parra (1991) relataram que fêmeas de *T. pretiosum* quando alimentadas com mel puro, viveram em média 4,72 dias, enquanto as não alimentadas, viveram 1,25 dias, resultados estes obtidos na presença de ovos de hospedeiro alternativo. A longevidade de *Trichogramma* sp. foi maior quando estes foram alimentados com mel puro; a solução de mel a 10% apesar de ter sido inferior ao mel puro, levou a uma longevidade superior à de fêmeas não alimentadas; também neste caso, a presença do hospedeiro aumentou significativamente a longevidade, independente dos parasitóides terem ou não sido alimentados (BLEICHER; PARRA, 1991). Para García e Piqueras (1985), mel foi o alimento que proporcionou maior longevidade e a adição de solução vitamínica ao alimento do adulto não contribuiu para a elevação da mesma. Segundo a literatura existente, os alimentos mel puro e mel + pólen foram superiores aos demais alimentos oferecidos (pólen + água e apenas água); entretanto, nesses trabalhos, mel e mel + pólen diferiram estatisticamente entre si, mesmo na presença dos hospedeiros (ZHANG; ZIMMERMANN; HASSAN; 2004; WANG et al., 2007).

Ocorreu uma aparente interação mel e pólen, aumentando a longevidade do parasitóide, mesmo se o hospedeiro esteve presente.

Figura 10 – Longevidade média de fêmeas de *T. galloi*, com e sem a presença de ovos do hospedeiro (*D. saccharalis*) com diferentes fontes de alimentos ($25\pm 1^{\circ}\text{C}$, $\text{UR}=70\pm 10\%$ e 14 horas de fotofase). Barras seguidas da mesma letra (maiúscula x maiúscula e minúscula x minúscula) não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P<0,05$). Dados transformados em $(\text{raiz}(x+0,5))$.

* - significância pelo teste de Tukey ($P,0,05$) comparando-se ausência x presença do hospedeiro entre os mesmos alimentos

Vários autores observaram que mel puro proporciona um maior parasitismo para adultos de *Trichogramma* (GARCÍA; PIQUERAS, 1985; BLEICHER; PARRA, 1990; LEATEMIA; LAING; CORRIGAN, 1995; McDOUGALL; NILL, 1997; ZHANG; ZIMMERMANN; HASSAN; 2004; SOOD; PAJANI, 2006; WANG et al., 2007).

O parasitismo médio total variou de acordo com o alimento utilizado (Figura 11); os parasitóides alimentados com mel puro parasitaram mais ovos do que os demais tratamentos, exceto solução de pólen. Por outro lado, não foram verificadas diferenças estatísticas entre mel + pólen, solução de mel e quando os parasitóides não foram alimentados.

Esses resultados foram semelhantes aos verificados por Zhang e Zimmermann, Hassan (2004) e Wang et al. (2007). O maior parasitismo observado para os insetos alimentados apenas com mel puro, pode ser devido este alimento apresentar elevadas concentrações de açúcares, que são utilizadas durante o processo de ovogênese. Estes açúcares livres (glicose) disponíveis nos organismos são alocados para a

produção de óvulos, enquanto que os açúcares das reservas oriundas do corpo gorduroso (glicogênio) devem ser quebrados em partículas menores, o que demanda gasto energético, diminuindo a sua eficiência (CHAPMAN, 2002).

O pólen apresenta em geral, elevadas concentrações de proteínas. Entretanto, o pólen de milho é considerado pobre, em comparação com outras plantas, apresentando de 12 a 14% de proteína na sua composição (ANDERSON; KULP, 1921). Alguns trabalhos demonstraram que fontes de proteína não aumentam o desempenho de *Trichogramma*; entretanto, em situações de campo, em que outras fontes de alimento podem se encontrar indisponíveis, os parasitóides podem ter o pólen como única fonte disponível de recursos, principalmente durante a antese das plantas. Essa fonte, apesar de não contribuir para o aumento do parasitismo, aumenta a longevidade dos parasitóides no campo, o que poderá levar a um menor número de liberações ou mesmo permitir o aumento do intervalo entre liberações de *T. galloi*.

Com base nos resultados obtidos de longevidade e de parasitismo, mel puro, pode ser considerado, dentre os alimentos testados, o mais adequado para *T. galloi*, pois embora a mistura mel + pólen tenha aumentado na longevidade, não houve altas taxas de parasitismo.

Figura 11 – Parasitismo médio de *T. galloi* em ovos de *D. sacchralis* com diferentes fontes de alimentos ($25\pm 1^{\circ}\text{C}$, UR= $70\pm 10\%$ e 14 horas de fotofase). Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P < 0,05$). Dados transformados em $(\text{raiz}(x+1))$

4.4 Comportamento de oviposição de *D. saccharalis*

O nível populacional de *D. saccharalis* não influenciou na escolha do local de postura pela espécie. Nos dois níveis populacionais, o número de ovos foi maior no colmo, sendo que no menor nível populacional, aproximadamente 60% dos ovos localizavam-se no colmo, e no maior nível populacional este valor subiu para 70% (Tabela 5).

Tabela 5 – Número médio de ovos de *D. saccharalis* colocados em plantas de milho, entre os estágios 2 e 3 (45 dias de idade), submetidas a dois níveis de infestação ⁽¹⁾

	Número de ovos no colmo ± EPM	Número de ovos nas folhas ± EPM	Número total de ovos ± EPM
Baixa Infestação (2 casais /planta)	21,4aB ± 2,76	14,88bB ± 1,92	35,79B ± 4,62
Alta Infestação (10 casais/planta)	105,47aA ± 13,6	41,36bA ± 5,34	146,83A ± 18,96

⁽¹⁾ Médias seguidas por letras maiúsculas iguais nas colunas e letras minúsculas nas linhas não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Dados transformados em $(\text{raiz}(x+1))$.

Apesar de, na alta infestação, a quantidade de casais de *D. saccharalis* ter sido 5 (cinco) vezes maior do que na baixa infestação, o número total de ovos colocados pelas mariposas não seguiu a mesma proporção; no entanto, obtiveram-se 4,1 vezes mais ovos na maior infestação (Tabela 5); além disso, o número de plantas com posturas foi também variável (apesar de não ser possível realizar análise estatística), pois na baixa infestação apenas 27 plantas tinham posturas de *D. saccharalis*, enquanto que na alta infestação, esse valor aumentou para 54 plantas.

Os resultados obtidos na presente pesquisa diferem daqueles encontrado por More, Trumper e Prola (2003), que relataram que *D. saccharalis* coloca os ovos nas folhas e na bainha das plantas de milho. Vários fatores podem explicar essa diferença no hábito de postura em condições de campo: (a) busca por condições microclimáticas mais adequadas, especialmente umidade (PARRA et al., 1999); (b) hábito da praga, já

que a mesma ataca preferencialmente o colmo do milho e (c) características químicas e/ou físicas da variedade de milho utilizada na presente pesquisa.

A determinação do local de postura da praga alvo possui grande importância, pois influencia diretamente as técnicas de amostragem de ovos, para determinar o momento exato para a liberação dos parasitóides, e nas técnicas de liberação dos parasitóides, pois apesar de *Trichogramma* ser fototrópico positivo, a postura feita no colmo, quando ainda a cultura não está “fechada”, permite a passagem de luz, não prejudicando o deslocamento de *T. galloi* para parasitar ovos de *D. saccharalis* (Geremias 2008, informação pessoal)². Desta forma, como a liberação de *T. galloi* deverá ser feita no início do crescimento da cultura de milho, tais liberações deverão ser realizadas próximas ao colmo, para garantir maior parasitismo. Entretanto, esta também é uma indicação de que poderá haver alta predação, por estarem os ovos próximos ao solo, recomendando-se que a forma de liberação seja protegida para evitar a ação de tais predadores (PINTO et al., 2004).

Figura 15 – Posturas de *D. saccharalis* em plantas de milho: (A) posturas localizadas próximas ao solo, no colmo da planta; (B) postura próxima a inserção da folha no caule

² Aluno do Programa de Pós-Graduação da ESALQ/USP

4.5 Considerações finais

O desenvolvimento de programas de controle biológico de pragas exige estudos de etapas seqüenciais envolvendo a praga e o inimigo natural. Nesta pesquisa, foram realizados estudos de algumas destas etapas, visando à futura utilização de *T. galloi* para o controle de *D. saccharalis* em milho.

Primeiramente, foram conduzidos experimentos de seleção de linhagens, tendo em vista a ocorrência da praga em regiões com diferentes condições climáticas. Por este motivo, os experimentos foram conduzidos a 25 e 30°C. Dentre as 10 linhagens avaliadas, G16080 foi a que apresentou melhor desempenho na faixa térmica estudada apresentando maior capacidade de parasitismo e bom desempenho em ambas as condições.

A seguir, foram conduzidos estudos para avaliar o desempenho da linhagem selecionada numa faixa térmica mais ampla. Embora a faixa térmica mais adequada para o referido parasitóide tenha ficado entre 20 e 28°C, ocorreu parasitismo mesmo nas temperaturas extremas (10 e 38°C), mostrando a rusticidade da linhagem selecionada.

Os estudos nutricionais, envolvendo diferentes alimentos, mostraram ser fundamental o oferecimento do alimento para maior longevidade em campo. Este fornecimento é relevante quando da liberação em campo, por aumentar a permanência do inseto e, conseqüentemente, o seu parasitismo. O mel e solução de pólen foram os melhores alimentos para *T. galloi*, linhagem G16080. Pela facilidade de obtenção, deve-se optar por mel para grandes criações. A presença do hospedeiro também foi importante no aumento da longevidade do parasitóide.

Por último, já pensando em futuras liberações, avaliou-se o efeito de duas densidades populacionais de *D. saccharalis* sobre a postura em milho de 45 dias de idade. Embora tenha aumentado, como era de se esperar, o número de ovos nas maiores densidades populacionais, sempre o local preferido para postura foi o colmo. Assim, independentemente da pressão populacional, as amostragens deverão ser direcionadas para este local, no início da cultura, visando à liberação da linhagem selecionada. O local de postura também poderá servir de orientação para a forma de

liberação do parasitóide em condições de campo, que deverá ser protegido para evitar ação de predadores, pois os ovos de *D. saccharalis* são colocados próximo ao solo.

5 CONCLUSÕES

- a) A linhagem G16080 é a mais adequada para liberações visando ao controle de *D. saccharalis* com base na capacidade de parasitismo e na duração do ciclo e por apresentar desempenho equivalente na faixa de 25 a 30°C;
- b) A maior capacidade de parasitismo de *T. galloi* linhagem G16080, ocorre entre 20 e 28°C, embora tenha ocorrido parasitismo em temperaturas extremas (10 e 38°C);
- c) Não há correlação entre a longevidade e parasitismo, havendo uma concentração de parasitismo quando o inseto vive menos;
- d) A presença do hospedeiro interfere na longevidade de *T. galloi* linhagem G16080;
- e) Considerando-se o parasitismo, o mel puro e a solução de pólen são os alimentos mais adequados para *T. galloi* linhagem G16080;
- f) Independente da presença do hospedeiro, mel + pólen é o alimento que proporciona a maior longevidade para *T. galloi* linhagem G16080;
- g) Independente do nível populacional de *D. saccharalis*, existe uma acentuada preferência por colocar os ovos na região do colmo, em relação às folhas, em milho de 45 dias de idade.

REFERÊNCIAS

- ANDERSON, R.J.; KULP, W.L. Analysis and composition of corn pollen. **The Journal of Biological Chemistry**. Bethesda, v. 50, p. 433-454, 1922.
- AGROFIT. Disponível em: <http://extranet.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons>. Acesso em: 25 set. 2008.
- ALAM, M.M.; BENNETT, F.D.; CARL, K.P. Biological control of *Diatraea saccharalis* (F.) in Barbados by *Apanteles flavipes* Cam. And *Lixophaga diatraea* T. T. **Entomophaga**. Paris, v.16, n°2, p. 151-158, 1971.
- BESERRA, E.B.; DIAS, C.T.S.; PARRA, J.R.P. Características biológicas de linhagens de *Trichogramma pretiosum* desenvolvidas em ovos de *Spodoptera frugiperda*. **Acta Scientiarum Agronomy**, Maringá, v. 25, n. 2, p. 479-483, 2003.
- BESSIN, R.T.; REAGAN, T.E. Fecundity of sugarcane borer (Lepidoptera: Pyralidae), as affected by larval development on gramineous host plants. **Environmental Entomology**, College Park, v. 19, n. 3, p. 635-639, 1990.
- BLEICHER, E. **Biologia e exigências térmicas de populações de *Trichogramma* (Hym.: Trichogrammatidae)**. 1985. 80 p. Tese (Doutorado em Entomologia) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicab, 1985.
- BLEICHER, E.; PARRA, J.R.P. Espécies de *Trichogramma* parasitoides de *Alabama argilacea*. I. Biologia de três populações. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 24, n. 8, p. 929-940, 1989.
- _____. Espécies de *Trichogramma* parasitoides de *Alabama argilacea*: II. Tabela de vida de fertilidade e parasitismo de três populações. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 25, n. 2, p. 207-214, 1990.
- _____. Efeito do hospedeiro de substituição e da alimentação na longevidade de *Trichogramma* sp. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 26, p. 1845-1850, 1991.
- BORTOLI, S.A.; MANPRIN, M.C. Aspectos biológicos da broca da cana-de-açúcar, *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794) (Lepidoptera-Pyralidae), em milho (*Zea mays* L.) sob condições de laboratório. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Jaboticabal, v. 13, n. 1, p. 83-94, 1984.
- BORTOLI, S.A.; DÓRIA, H.O.S.; ALBERGARIA, N.M.M.S.; BOTTI, M.V. Aspectos biológicos e dano de *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Pyralidae) em sorgo cultivado sob diferentes doses de nitrogênio e potássio. **Ciência Agrotécnica**, Lavras, v. 29, n. 2, p. 267-273, 2005.

BOTELHO, P.S.M.; MENDES, A.C.; MACEDO, N.; SILVEIRA NETO, S. Cálculo da dispersão da broca da cana-de-açúcar, *Diatraea saccharalis* (Fabr., 1974). **Brasil Açucareiro**, Rio de Janeiro, p.34-38, 1978.

BOTELHO, P.S.M. **Tabela de vida ecológica e simulação da fase larval de *Diatraea saccharalis* (Fabr., 1794) (Lep., Pyralidae)**. 1985. 110p. Tese (Doutorado em Entomologia) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1985.

BOTTO, E.N.; KLASMER, C.H.P.; GERDING, M. Biological studies on two neotropical egg parasitoid species: *Trichogramma nerudai* and *Trichogramma* sp. (Hymenoptera: Trichogrammatidae). **Biological Science and Technology**, Oxford, v. 14, n. 5, p. 449-457, 2004.

BROWNING, H.W.; MELTON, C.W. Indigenous and exotic trichogrammatids (Hymenoptera: Trichogrammatidae) evaluated for biological control of *Eoreuma loftini* and *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Pyralidae) borers on sugarcane. **Environmental Entomology**, College Park, v. 16, n. 2, p. 360-3364, 1987.

BOWEN, W.R.; STERN, V.M. Effect of temperature on the production of males and sexual mosaics in a uniparental race of *Trichogramma semifumatum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae). **Annals of the Entomological Society of America**, Lahan, v. 59, n. 4, 1996.

BOX, H. E. **Informe preliminar sobre los taladradores de la caña de azucar (*Diatraea* spp.) en Venezuela**. Maracay: Inst. Nacional de Agric., 1952. 91 p. (Boletín Técnico, 2).

BUENO, R.C.O.F. **Bases biológicas para a utilização de *Trichogramma pretiosum* Riley, 1879 (Hymenoptera:Trichogrammatidae) para o controle de *Pseudoplusia includens* (Walker, 1857) e *Anticarsia gemmatilis* Hübner, 1818 (Lepidoptera: Noctuidea) em soja**. 2008. 119 p. Tese (Doutorado em Entomologia) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2008.

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

CARRIÈRE, Y.; BOIVIN, G. Evolution of thermal sensitivity of parasitization capacity in egg parasitoids. **Evolution**, Malden, v. 51, n. 6, p. 2028-2032, 1997.

CHAPMAN, R.F. **The Insects: structure and function**. Cambridge: Cambridge University Press, 2006. 770 p.

CÔNSOLI, F.L.; PARRA, J.R.P. Effects of constant and alternating temperatures on *Trichogramma galloi* Zucchi (Hym., Trichogrammatidae) biology I. – Developmental and thermal requirements.parasitism capacity and longevity. **Journal of Applied Entomology**, Berlin, v. 119, p. 415-418, 1995a.

_____. Effects of constant and alternating temperatures on *Trichogramma galloi* Zucchi (Hym., Trichogrammatidae) biology II. – parasitism capacity and longevity. **Journal of Applied Entomology**, Berlin, v. 119, p. 667-670, 1995b.

_____. Biology of *Trichogramma galloi* and *T. pretiosum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) reared in vitro and in vivo. **Annals of the Entomological Society of America**, Lanham, v. 89, n. 6, p. 828-834, 1996.

CÔNSOLI, L.F. **Criação *in vitro* de *Trichogramma galloi* Zucchi, 1988 e *T. pretiosum* Riley, 1879 (Hym.: Trichogrammatidae): desenvolvimento de um ovo artificial e aprimoramento de dietas artificiais**. 1997. 153 p. Tese (Doutorado em Entomologia) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1997.

COSTA-LIMA, A.M. **Insetos do Brasil: Lepidópteros**. Rio de Janeiro: Escola Nacional de Agronomia, 1945. v. 1, p. 60-76.

COSTA-LIMA, A. M. Insetos hospedeiros e inimigos naturais. In: _____. **Quarto catálogo dos insetos que vivem nas plantas do Brasil**. Rio de Janeiro: Ministério da Agricultura, 1967/68. pt. 2, t. 1, 622 p.

DOMINGUES, G.R. **Controle de *Phithorimaea operculella* (Zeller, 1873) (Lepidoptera: Gelechiidae) com *Trichogramma atopovirilia* Oatman & Platner, 1983 (Hymenoptera: Trichogrammatidae) em batata, em condições de campo e no armazém**. 2006. 71 p. Dissertação (Mestrado em Entomologia) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba. 2006.

ETZEL, L.K.; LEGNER, F. Culture and colonization. In: BELLOWS, T.S.; FISHER, T.W. (Ed.). **Handbook of biological control**. San Diego: Academic Press, 1999. p. 594-637.

FANCELLI, A.L.; DOURADO NETO, D. **A produção de milho**. Guaíba: Ed. Agropecuária, 2004. 360 p.

FENOGLIO, M.S.; TRUMPER, E.V. Influence of wealther condition and density of *Doru luteipes* (Dermaptera: Forficulidae) on *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae) egg mortality. **Biological Control**, Orlando, v. 36, n. 5, p. 1159-1165, 2007.

FLANDERS, S.E. Biological dontrol of the codling moth (*Carpocapsa pomonella*). **Journal of Economic Entomology**, Laham, v. 20, p. 644, 1927.

FLOYD, E.H.; CROWER, D.F.; MANSON, L.F. Effects of sugarcane borer infestation on the yield and grade of corn. **Journal of Economic Entomology**, College Park, v. 53, n. 4, p. 935-937, 1960.

FLYNN, J.L.; REGAN, T.E. Corn phenology in relation to natural and simulated infestations of the sugarcane borer (Lepidoptera: Pyralidae). **Journal of Economic Entomology**, College Park, v. 77, n. 6, p. 1524-1529, 1984.

FLYNN, J.L.; REAGAN, T.E.; OGUNWOLU, E.O. Establishment and damage of the sugarcane borer (Lepidoptera: Pyralidae) in corn as influenced by plant development. **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v. 77, n. 3, p. 691-697, 1984.

FNP CONSULTORIA & COMÉRCIO. Milho. In: _____. **Agrianual 2008**: anuário da agricultura brasileira. São Paulo, 2008. p. 397-416.

FUCHSBERG, J.R.; YONG, T.H.; LOSEY, J.E.; CARTER, M.E.; HOFFMANN, M.P. Evaluation of corn leaf aphid (*Rhopalosiphum maidis*; Homoptera: Aphididae) honeydew as a food source for the egg parasitoid *Trichogramma ostrinae* (Hymenoptera: Trichogrammatidae). **Biological Control**, Orlando, v.40, p. 230-236, 2007.

FULLER, B.W.; REAGAN, T.E.; FLYNN, J.L. Economic injury of the sugarcane borer (Lepidoptera: Pyralidae) on sweet sorghum, *Sorghum bicolor* (L.) Moench. **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v. 81, n. 1, p. 349-353, 1988.

GALLO, D.; NAKANO, O.; SILVEIRA NETO, S.; CARVALHO, R.P.L.; BAPTISTA, G.C.; BERTI FILHO, E.; PARRA, J.R.P.; ZUCCHI, R.A.; ALVES, S.B.; VENDRAMIM, J.D.; MARCHINI, L.C.; LOPES, J.R.S.; OMOTO, C. **Entomologia agrícola**. São Paulo: Agronômica Ceres, 2002. 920 p.

GARCIA, T.C.; PIQUERAS, V.P. Influencia Del tipo de alimento a los adultos de *Trichogramma cordubensis* Vargas y Cabello *T. sp. p. Buesi* (Hym.: Trichogrammatidae) sobre su potencial biológico. **Bol. Serv. Plagas**, Madrid, v. 11, p. 243-249, 1985.

GILLOTT, C. **Entomology**. Dordrecht: Springer. 2005. 831 p.

GOMES, S.M. **Comparação de três hospedeiros alternativos para a criação e produção massal de *Trichogramma pretiosum* Riley, 1879**. 1997. 106 p. Dissertação (Mestrado em Entomologia) – Escola Superior de agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1997.

GÓMEZ TORRES, M.L. **Control biológico de *Ecdytolopha aurantiana* (Lima, 1927) (Lepidoptera: Tortricidae) com *Trichogramma atopovirilia* Oatman & Planter, 1983**. 2005. 101 p. Dissertação (Mestrado em Entomologia) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2005.

GÓMEZ, M.L.T.; ARAB, A.; NAVA, D.E.; PARRA, J.R.P. **Boletín de Sanidad Vegetal, Plagas**, Madrid, v. 34, p. 3-9, 2008.

GRECO, N. Densidade y número de generaciones de *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera:Pyralidae) en el maiz de la zona marginal sur de la región maicera típica de la Argentina. **Revista de la Faculdade de Agronomia, La Plata**, La Plata, v. 71, n. 1, p. 61-66, 1995a.

_____. Tablas de vida de *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Pyralidae) em laboratório. **Revista de la Facultad de Agronomía, La Plata**, La Plata, v. 71, n. 2, p. 157-164, 1995b.

GUAGLIMI, P. **Pragas da cana-de-açúcar** – Nordeste do Brasil – Rio de Janeiro: IAA, 1973. 622 p.

GUEVARA, L.A.C. **Aspectos da biologia em condições naturais e frequência de acasalamento da *Diatraea saccharalis* (Fabr., 1794) (Lepidoptera: Crambidae) a broca da cana-de-açúcar**. 1976. 70 p. Dissertação (Mestrado em Entomologia) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1976.

GURR, G.M.; NICOL, H.I. Effect of food on longevity of adults of *Trichogramma carverae* Oatman and Pinto and *Trichogramma nr brassicae* Bezdenko (Hymenoptera: Trichogrammatidae). **Australian Journal of Entomology**, Sidney, v.39, p.185-187, 2000.

HADDAD, M.L.; PARRA, J.R.P., MORAES, R.C.B. **Métodos para estimas os limites térmicos inferior e superior de desenvolvimento de insetos**. Piracicaba: FEALQ, 1999. 29 p.

HALLE, A.T.; HASSAN, S.A.; SITHANANTHAM, S.; OGOL, C.K.P.O.; BAUMGARTNER, J. Comparative life table analysis of *Trichogramma bournieri* Pintureau and Babault and *Trichogramma* sp. nr. *Mwanzai* Schulten and Feijen (Hym., Trichogrammatidae) from Kenya. **Journal Applied Entomology**, Berlin, v. 126, p. 287-292, 2002.

HASSAN, S.A. Selection of suitable *Trichogramma* strains to control the codling moth *Cydia pomonella* and th two summer fruit tortrix moths *Adoxophyes oranaa*, *Pandemis heparana* (Lep.: Tortricidade). **Entomophaga**, Paris, v. 34, n. 1, p.19-27, 1989.

_____. The mass rearing and utilization of *Trichogramma* to control Lepidopterous pests: achievements and outlook. **Pesticides Science**, Oxford, v. 37, p. 387-391, 1993.

_____. Strategies to select *Trichogramma* species for use in biological control. In; WAJNBERG, E.; HASSAN, S.A. (Ed.). **Biological control with egg parasitoids**. Wallingford: CAB International, 1994. chap. 3, p. 55-68.

_____. Seleção de espécies de *Trichogramma* para uso em programas de controle biológico. In: PARRA, J.R.P.; ZUCCHI, R.A. (Ed.). ***Trichogramma e o controle biológico aplicado***. Piracicaba: FEALQ, 1997. cap. 7, p.183-206.

HASSAN, S.A.; GUO, M.F. Selection of effective strains of egg parasites of the genus *Trichogramma* (Hym., Trichogrammatidae) to control the European corn borer *Ostrinia nubilalis* Hb. (Lep., Pyralidae). **Journal Applied Entomology**, Berlin, v. 111, p. 335-341, 1991.

- HEGAZI, E.M.; KHAFAGI, W.E.; HASSAN, S.A. Studies on three species of *Trichogramma*. I. Foraging behaviour for food or hosts. **Journal Applied Entomology**, Berlin, v. 124, p. 145-149, 2000.
- HERZ, A.; HASSAN, S.A. Are indigenous strains of *Trichogramma* sp. (Hym., Trichogrammatidae) better candidates for biological control of lepidopterous pests of the olive tree?. **Biological Science and Technology**, Oxford, v. 16, n. 8, p. 841-857, 2006.
- HENSLEY, S.D.; HAMMOND, A.M. Laboratory techniques for rearing the sugar cane borer on an artificial diet. **Journal of Economic Entomology**, College Park, v. 61, p. 1742-1743, 1968.
- HINDS, W.E.; SPENCER, H. *Trichogramma* experiments in 1928 for control of the sugarcane borer. **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v. 22, n. 4, p. 633-636, 1929.
- HOHMANN, C.L.; LUCK, R.F.; OATMAN, E.R.; PLANTER, G.R. Effects of different biological factors on longevity and fecundity of *Trichogramma platneri* Nagarkati (Hymenoptera: Trichogrammatidae). **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Londrina, v. 18, p. 61-70. 1989. Suplemento.
- HOUSE, H.L. Insect nutrition. In: FIENNERS, R.N. (Ed.). **Biology of nutrition**. New York: Plenum Press, 1972. chap. 18, p. 513-573.
- IRVIN, N.A.; HODDLE, M.S.; CASTLE, S.J. The effects of resource provisioning and sugar composition of foods of three *Gonatocerus* spp., egg parasitoids of *Homalodisca vitripennis*. **Biological Control**, Orlando, v. 40, p. 69-79, 2007.
- JERVIS, M.A.; HEIMPE, G.E. Phytophagy. In: JERVIS, M.A. (Ed). **Insects: as natural enemies**. Dordrecht: Springer, 2005. chap. 8, p. 525-550.
- JERVIS, M.A.; ELLERS, J.; HARVEY, J.A. Resource Acquisition Allocation and Utilization in Parasitoid Reproductive Strategies. **Annual Review of Entomology**, Palo Alto, v. 53, p. 361-385, 2008.
- JERVIS, M.A.; FERNES, P.N.; HEIMPEL, G.E. Body size and the timing of egg production in parasitoid wasps: a comparative analysis. **Functional Ecology**, Oxford, v.17, p. 375-383, 2003.
- KUMAR, H.; MIHM, J.A. Fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae), southwestern corn borer (Lepidoptera: Pyralidae) and sugarcane borer (Lepidoptera: Pyralidae) damage and grain yield of four maize hybrids in relation to four tillage systems. **Crop Protection**, Guildford, v. 21, p. 121-128, 2002.
- LARA, F.M.; BARBOSA FILHO, G.C.; BARBOSA, J.C. Danos acarretados por *Diatraea saccharalis* (Fabr., 1974) na produção do sorgo granífero. **Científica**, São Paulo, v. 8, n. 1/2, p. 105-111, 1980.

LARA, F.M.; MAEHARA, M.H.; MUÇOUÇAH, M.J.; BOIÇA JUNIOR, A.L. Influência da idade de plantas de sorgo na infestação de *Diatraea saccharalis* (Fabr.) (Lepidoptera: Pyralidae). **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Jaboticabal, v. 23, n. 1, p. 31-38, 1994.

LAVANDEIRO, B.; WRATTEN, S.D.; DIDHAM, R.K.; GURR, G. Increasing floral diversity for selective enhancement of biological control agents: A double-edged sword? **Basic and Applied Ecology**, Jena, v. 7, p. 236-243, 2006.

LEATEMIA, J.A.; LAING, J.E.; CORRIGAN, J.E. Effects of adult nutrition on longevity, fecundity, and offspring sex ratio of *Trichogramma minutum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae). **The Canadian Entomologist**, Victoria, v. 127, p. 245-254, 1995.

LEWIS, W.J.; STAPEL, J.O.; CORTESERO, A.M.; TAKASU, K. Understanding how parasitoids balance food and hosts needs: importance to biological control. **Biological Control**, Orlando, v. 11, p. 175-183, 1998.

LEWIS, W.J., NORDLUND, D.A., GROSS Jr, H.R., PERKINS, W.D., VOEGELÉ, J. Production and performance of *Trichogramma* reared in eggs of *Heliothis zea* and other hosts. **Environmental Entomology**, Laham, v. 5, p. 449-452, 1976.

LI, L.Y. Worldwide use of *Trichogramma* for biological control on different crops: a survey. In: WAJNBERG, E.; HASSAN, S. A. (Ed.). **Biological control with egg parasitoids**. Wallingford: CAB, 1994. cap. 2, p. 37-53, 1994.

LOPES, J.R.S. **Estudos bioetológicos de *Trichogramma galloi* (Zucchi, 1988) (Hym., Trichogrammatidae) para 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.

LOPES, J.R.S.; PARRA, J.R.P. Efeito da idade de ovos do hospedeiro natural e alternativo no desenvolvimento e parasitismo de duas espécies de *Trichogramma*. **Revista de Agricultura**, Piracicaba, v. 66, n. 3, p. 221-242, 1991.

LÓPEZ, D.R.; PIESCHACÓN, R.G.; MUÑOZ, J.E.F. Efecto del daño de *Diatraea* spp. En la producción de varios genotipos de maíz, *Zea mays* L. en el valle del Cauca. **Acta Agronomica**, Palmira, v. 39, n. 3/4, p. 36-44, 1989.

MAREDIA, K.M.; MIHM, J.A. Sugarcane borer (Lepidoptera: Pyralidae) damage to maize at four plant growth stages. **Environmental Entomology**, College Park, v. 20, n. 4, p. 1019-1023, 1991.

McDOUGALL, S.J.; MILLS, N.J. The influence of hosts, temperature and food sources on the longevity of *Trichogramma platneri*. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, Dordrecht, v. 83, p. 195-203, 1997.

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. 691-691, 1984.

MÉLO, A.B.P. de; PARRA, J.R.P.; BRITO, P.; MELO, A. de. Biologia de *Diatraea saccharalis* em diferentes temperaturas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.23, n. 7, p. 663-680, 1988.

MENDES, A.C.; BOTELHO, P.S.M.; SILVEIRA NETO, S.; MACEDO, N. Seleção de luzes de difeentes comprimentos de onda para a atração da broca da cana-de-açúcar *Diatraea sacharalis* (Fabr., 1794) (Lepidoptera-Crambidae). **Brasil Açucareiro**, Rio de Janeiro, v. 88, n. 2, p. 39-45, 1976.

MILANO, P. **Influência da nutrição e temperatura na reprodução de representantes de Noctuidae, Crambidae, Tortricidae e Elachistidae**. 2008. 75 p. Tese (Doutorado em Entomologia) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2008.

MOLINA, R.M.S.; FRONZA, V.; PARRA, J.R.P. Seleção de *Trichogramma* spp., para o controle de *Ecdytolopha aurantiana* com base na biologia e exigências térmicas. **Revista Brasileira de Entomologia**, São Paulo, v. 49, n. 1, p. 152-158, 2005.

MORÉ, M.; TRUMPER, E.V.; PROLA, M.J. Influence of corn, *Zea mays*, phonological stage in *Diatraea saccharalis* F. (Lep. Crambidae) oviposition. **Journal Applied Entomology**, Berlin, v. 123, p. 512-515, 2003.

MUÑOZ, J.E. Evaluacion de La fertilizacion sobre el daño de *Diatraea* spp. y produccion en parentales e hibridos de maiz. **Acta Agronomica**, Palmira, v. 40, n. 1/2, p. 142-157, 1990.

NAGARKATI, S.; NAGARAJA, H. Redescriptions of some known species of *Trichogramma*, showing the importance of male genitalia as a diagnostic character. **Bulletin of Entomological Research**, Cambridge, v. 61, p. 13-31, 1971.

NATION, J.L. **Insect physiology and biochemistry**. Gainesville: CRC Press, 2002. 485 p.

NAVA, D.E.; TAKAHASHI, K.M., PARRA, J.R.P. Linhagens de *Trichogramma* e *Trichogrammatoidea* para controle de *Stenoma catenifer*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 42, n. 1, p. 9-16, 2007.

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, 1992.

PAK, G.A. Inundative release of *Trichogramma* for the control of cruciferous Lepidoptera: Preintroductory selection of an effective parasitoid. In: DIAMONDBACK MOTH AND OTHER CRUCIFER PESTS INTERNATIONAL WORKSHOP, 2., 1991, Shanhua. **Proceedings...** Shanhua: AVRDC, 1984. p. 297-308.

PAK, G.A.; DE JONG, E.J. Behavioural variations among strains of *Trichogramma* spp.: Host recognition. **Netherlands Journal of Zoology**, Leiden, v. 37, n. 2, p. 137-166, 1987.

PAK, G.A.; VAN HEINIGEN, T.G. Behavioural variations among strains of *Trichogramma* spp.: Adaptability to field-temperature conditions. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, Dordrecht, v. 38, p. 3-13, 1985.

PAK, G.A.; VAN LENTEREN, J.C. Criteria and methods for the pre-release evaluation of different *Trichogramma* spp. strains. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM, TRICHOGRAMMA AND OTHER EGG PARASITES, 2., 1986, Guangzhou. **Les Colloques de l'INRA...** Paris: INRA, 1988. p. 165-172.

PAK, G.A.; KASKENS, J.W.M.; DE JONG, E.J. Behavioural variations among strains of *Trichogramma* spp.: host-species selection. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, Dordrecht, v. 56, p. 91-102, 1990.

PAK, G.A.; BUIS, H.C.E.M.; HECK, I.C.C.; HERMANS, M.L.G. Behaviorual variations among strains of *Trichogramma* spp.: Host-age selection. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, Dordrecht, v. 40, p. 247-258, 1986.

PAK, G.A.; VAN HEININGEN, T.G.; VAN ALEBEEK, F.A.N.; HASSAN, S.A.; VAN LENTEREN, J.C. Experimental inundative releases of different strains of the egg parasite *Trichogramma* in Brussels sprouts. **Netherlands Journal of Plant Pathology**, v. 95, p. 129-142, 1989.

PARISI, R.A.; ORTEGA, A.C.; REYNA, R.R. El daño de *Diatraea saccharalis* Fabricius (Lepidóptera: Pyralidae) en relacion con la densidad de plantas, nivel de fertilidade e híbridos de maiz, en Argentina. **Agrociencia**, Chapingo, n. 10, p. 43-63, 1973.

PARRA, J.R.P.; MILANO, P.; CÔNSOLI, F.L.; ZERIO, N.G.; HADDAD, M.L. 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, n. 1, p. 49-57, 1999.

PARRA, J.R.P.; ZUCCHI, R.A. *Trichogramma* in Brazil: feasibility of the use after twenty years of research. **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 33, n. 3, p. 271-281, maio/jun., 2004.

_____. Utilização de *Trichogramma* no Brasil: situação atual e desafios. In: VENZON, M., PAULA JÚNIOR, T.J.; PALLINI, A. (Ed.). **Avanços no controle alternativo de pragas e doenças**. Viçosa: EPAMIG; CTZM, 2008. cap. 1, p.1-29.

PARRA, J.R.P.; BOTELHO, P.S.M.; CORRÊA-FERREIRA, B.S.; BENTO, J.M.S. Controle Biológico uma visão inter e multidisciplinar. 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**. São Paulo: Manole, 2002. cap. 8, p. 125-142.

PASSOS, S.M.G.; CANÉCHIO FILHO, V. **Principais culturas**. Campinas: Instituto Campineiro de Ensino Agrícola, 1981. v. 1, 426 p.

PAVLÍK, J. Variability in the host acceptance of European corn borer, *Ostrinia nubilalis* Hbn. (Lep., Pyralidae) in strains of the egg parasitoid *Trichogramma* spp. (Hym., Trichogrammatidae). **Journal Applied Entomology**, Berlin, v. 115, p. 77-84, 1993.

PEAIRS, F.B.; SAUNDERS, J.L. Single-larva infestations with *Diatraea saccharalis* (F) in two tropical maize populations in Mexico. **Turrialba**, Turrialba, n. 4, p. 243-246, 1979.

_____. *Diatraea lineolata* y *D. saccharalis*: Una revision en relacion con el maiz. **Agronomia Costarricense**, San José v. 4, n.1, p.123-135, 1980a.

_____. External versus internal damage estimates of stalk boring by *Diatraea saccharalis* (F) in two tropical maize populations in Mexico. **Turrialba**, Turrialba, n. 3, p. 352-354, 1980b.

PINTO, A.S. **Comparação de técnicas de liberação e parasitismo de *Trichogramma galloi* Zucchi, 1988, em infestações de *Diatraea saccharalis* (Fabr., 1794), prejudiciais à cana-de-açúcar**. 1999. 83p. Dissertação (Mestrado em Entomologia) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba. 1999.

PINTO, A.S.; PARRA, J.R.P.; OLIVEIRA, H.N.; ARRIGONI, E.D.B. 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, n. 2, p. 311-318, 2003.

PINTO, A.S.; PARRA, J.R.P.; OLIVEIRA, H.N. de. **Guia ilustrado de pragas e insetos benéficos do milho e sorgo**. Ribeirão Preto: A. S. Pinto, 2004. 108 p.

PINTO, J.D. A review new world genera of Trichogrammatidae (Hymenoptera). **Journal of Hymenoptera Research**, Lawrence, v.15, n.1, p. 38-163, 2006.

PINTO, J.D.; STOUTHAMER, R. Systematics of the Trichogrammatidae with emphasis on a *Trichogramma*. In: WAJNBERG, E.; HASSAN, S.A. (Ed.). **Biological control with egg parasitoids**. Wallingford: CAB, 1994. p. 2-36.

PRATISSOLI, D.; PARRA, J.R.P. Seleção de linhagens de *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae) para o controle das traças *Tuta absoluta* (Meyrick) e *Phthorimaea operculella* (Zeller) (Lepidoptera: Gelechiidae). **Neotropical Entomology**, v. 30, n. 2, p. 277-282, 2001.

QUINTANA-MUÑOZ, V.; WALKER, D.W. Oviposition preference by gravid sugarcane borer moths in Puerto Rico. **Journal of Economic Entomology**, College Park, v. 63, p. 987-988, 1970.

R DEVELOPMENT CORE TEAM. **R**: A language and environment for statistical computing. Vienna: R Foundation for Statistical Computing, 2007. Disponível em: <<http://www.R-project.org>>. Acesso em: 13 jun. 2008.

RAM, W.B.; TSHERNYSHEV, V.M.; AFONINA, S.H.M.; GREENBERG, A.G.E.E.V.A., L.I. Studies on strains of *Trichogramma evanescens* Westwood from different regions of Eurasia. **Biocontrol Science and Technology**, Oxford, v. 5, p. 329-338, 1995.

RODRIGUEZ-DEL-BOSQUE, L.A.; SMITH Jr, J.W.; BROWNING, H.W. Damage by Stalkborers (Lepidoptera: Pyralidae) to corn in northeastern Mexico. **Journal of Economic Entomology**, College Park, v. 81, n. 6, p. 1775-1779, 1988.

_____. Feeding and pupation sites of *Diatraea lineolata*, *D. saccharalis*, and *Eoreuma loftini* (Lepidoptera: Pyralidae) in relation to corn phenology. **Journal of Economic Entomology**, College Park, v. 83, n. 3, p. 850-855, 1990.

ROMEIS, J.; BABENDREIER, D.; WÄCKERS, F.L.; SHANOWER, T.G. Habitat and plant specificity of *Trichogramma* egg parasitoids-underlying mechanisms and implications. **Basic and Applied Ecology**, Jena, v. 6, p. 215-236, 2005.

RUSSO, J.; VOEGELÉ, J. Influence de La température sur quatre espèces de trichogrammes (Hym. Trichogrammatidae) parasites de la pyrale du maïs *Ostrinia nubilalis* Hübner (Lep. Pyralidae). II. – Reproduction et survie. **Agronomie**, Antibes, v. 2, n. 6, p. 517-524, 1982.

SAMARA, R.Y.; MONJE, J.C.; ZEBITZ, C.P.W. Comparasion of different European strains of *Trichogramma aurosum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) using fertility life table. **Biological Science and Technology**, Oxford, v. 18, n. 1, p. 75-86, 2008.

SANTILLA, E.L.; MEDRANO, H.R.; WONG, L.J.G.; ARÉVALO NIÑO, K.; MORALES, L.H.R. Desarrollo y evaluación de formulados de *B. Thuringiensis* contra *Diatraea saccharalis*. **Ciencia UANL**, Monterrey, v. 6, n. 4, p. 484-490, 2003.

SANTA CRUZ, J.M.S.; MOSS, C.S.; REYNAUD, G.G.; MONTALVO, C.G. Cria artificial de *Diatraea saccharalis* Fab. (Lepidoptera: Pyralidae) y su aplicación en la evaluación de resistencia en maíz. **Agrociencia**, Chapingo, n. 10, p. 3-13, 1973.

SERRA, G.; TRUMPER, E. Estimación de incidência de danos provocados por larvas de *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae) em tallos de maíz mediante evaluación de signos externos de infestación. **Agriscientia**, Córdoba, v. 23, n. 1, p. 1-7, 2006.

SHEAPER, P.W.; ATANASSOV, A. Impact of peach extrafloral nectar on key biological characteristics of *Trichogramma minutum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae). **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v.97, n. 3, p. 789-792, 2004.

SILVA, I.M.M.S.; VAN MEER, M.M.M.; ROSKAM, M.M.; HOOGENBOOM, A.; GORT, G.; STOUTHAMER, R. Biological control potential of *Wolbachia*-infected versus uninfected wasp: laboratory and greenhouse evaluation of *Trichogramma cordubensis* and *T. deion* strains. **Biological Science and Technology**, Oxford, v. 10, p. 223-238, 2000.

SILVEIRA NETO, S. **Levantamento de insetos e flutuação da população de pragas da Ordem Lepidoptera, com uso de armadilhas luminosas, em diversas regiões do Estado de São Paulo**. 1972. 182 p. Tese (Livre-Docência) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1972.

SMITH, S.M. Biological Control with *Trichogramma*: advances, successes, and potencial of their use. **Annual Review of Entomology**, Palo Alto, v.41, p. 375-406, 1996.

SOMEHOUDHURY, A.K.; DOUTT, N. Evaluation of some flower as a nutritional source of *Trichogramma* spp. **Indian Journal of Entomology**, New Delhi, v. 50, p. 371-373, 1988.

SOOD, S.; PAJNI, H.R. Effect of honey feeding on longevity and fecundity of *Uscana muerjii* (Mani) (Hymenoptera: Trichogrammatidae), an egg parasitoid of bruchids attacking stored products (Coleoptera: Bruchidae). **Journal of Stored Products Research**, Oxford, v. 42, p. 438-444, 2006.

STAT SOFT. **Statistica (Data Analysis Software System)**, version 7.1. Tulsa, 2001. Disponível em <<http://www.statsoft.com>>. Acesso em: 25 ago. 2008.

STEIN, C.P.; PARRA, J.R.P. Uso da radiação ultra-violeta para inviabilizar ovos de *Anagasta kuehniella* (Zeller, 1879) visando estudos com *Trichogramma* sp. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v. 16, n.1, p. 229-2231, 1987.

STOUTHAMER, R.; LUCK, R.F. Influence of microbe-associated parthenogenesis on the fecundity of *Trichogramma deion* and *T. pretiosum*. **Entomologia Experimentales et Applicata**, Dordrecht, v. 67, p. 183-192, 1993.

STOUTHAMER, R.; LUCK, R.F.; HAMILTON, W.R. Antibiotics cause parthenogenetic *Trichogramma* to revert to sex. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA**, Washington, v. 87: p. 2424-2427, 1990.

TAGAMI, Y.; MITURA, K.; STOUTHAMER, R. How does infection with partenogenesis-inducing *Wolbachia* reduce the fitness of *Trichogramma*? **Journal of Invertebrate Pathology**, San Diego, v. 78, p. 261-271, 2001.

TERÁN, F.O. Densidade larval de *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794) e seu controle natural em milho. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Jaboticabal, v. 12, n. 1, p. 31-40, 1983.

TORRES, C.G.; MOSS, C.S.; ORTEGA, A.C. Comportamento de variedades e híbridos de maiz frente al ataque de *Diatraea saccharalis* Fabricius (Lepidoptera: Pyralidae) en Argentina. **Agrociencia**, Chapingo, n. 10, p. 31-41, 1973.

TORRES, C.P.; GERDING, M.P. Evaluación de cinco especies de *Trichogramma* como posibles agentes de control biológico de *Cydia pomonella* (L.) (Lepidoptera: Tortricidae). **Agricultura Técnica**, Chillán, v. 60, n. 3, p. 282-288, 2000.

TREACY, M.F.; BENEDICT, J.H.; WALMSLEY, M.H.; LOPEZ, J.D.; MORRISON, R.K. Parasitism of bollworm (Lepidoptera: Noctuidae) eggs on nectaried and nectariless cotton. **Environmental Entomology**, College Park, v. 16, p. 420-423, 1987.

VAN LENTEREN, J.C. Success in biological control of arthropods by augmentation of natural enemies. In: BELLOWS Jr., T.S.; WRATTEN, S. (Ed.). **Biological control: measure of success**. Dordrecht: Kluwer Academic, 2000. p. 77-103.

WAJNBERG, E. Intra-population genetic variation in *Trichogramma*. In: WAJNBERG, E.; HASSAN, S.A. (Ed.). **Biological control with egg parasitoids**. Wallingford: CAB International, 1994. chap. 12, p. 245-266.

WALKER, D.W. Bionomics of the sugarcane borer *Diatraea saccharalis* (Fab.). I. A description of the mating behaviour. **Proceedings of the Entomological Society of Washington**, Washington, v. 67, n. 2, p. 80-83, June 1965.

WANG, Z.Y.; WY, Y.; HE, K.L.; BAI, S.X. Effects of transgenic *Bt* maize pollen on longevity and fecundity of *Trichogramma ostriniae* in laboratory conditions. **Bulletin of Insectology**, San Francisco, v. 60, n. 1, p. 49-55, 2007.

WITTING-BISINGER, B.E.; ORR, D.B.; LINKER, H.M. Effects of floral resources on fitness of the parasitoids *Trichogramma exiguum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) and *Cotesia congregata* (Hymenoptera: Braconidae). **Biological Control**, Orlando, 2008. In press

ZHANG, G.; ZIMMERMANN, O.; HASSA, S.A. Pollen as a source for egg parasitoids of the genus *Trichogramma* (Hymenoptera: Trichogrammatidae). **Biocontrol Science and Technology**, Oxford, v. 14, n. 2, p. 201-209, 2004.

ZUCCHI, R.A.; MONTEIRO, R.C. O gênero *Trichogramma* na América do Sul. In: PARRA, J.R.P., ZUCCHI, R.A. (Ed.) **Trichogramma e o controle biológico aplicado**. Piracicaba: FEALQ, 1997. cap 2. p. 41-66.

ZUCCHI, R.A.; PARRA, J.R.P.; SILVEIRA NETO, S. Trichogramma species associated with some lepidopterous in Brazil. **Colloques-de-l'INRA**, Paris, n. 56, p. 131-134, 1991.