**COMPARAÇÃO DE TÉCNICAS DE LIBERAÇÃO E
PARASITISMO DE *Trichogramma galloi* ZUCCHI, 1988, EM
INFESTAÇÕES DE *Diatraea saccharalis* (FABR., 1794),
PREJUDICIAIS À CANA-DE-AÇÚCAR**

ALEXANDRE DE SENE PINTO

Engenheiro Agrônomo

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

Tese apresentada à Escola Superior de
Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade
de São Paulo, para obtenção do título de
Doutor em Ciências – Área de Concentração:
Entomologia.

PIRACICABA

Estado de São Paulo – Brasil

Março – 1999

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
DIVISÃO DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - Campus "Luiz de Queiroz"/USP

Pinto, Alexandre de Sene

Comparação de técnicas de liberação e parasitismo de *Trichogramma galloi* Zucchi, 1988, em infestações de *Diatraea saccharalis* (Fabr., 1794), prejudiciais à cana-de-açúcar / Alexandre de Sene Pinto. - Piracicaba, 1999.
83 p. : il.

Tese (doutorado) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, 1999.
Bibliografia.

1. Bioecologia 2. Broca-da-cana-de-açúcar 3. Dano 4. Dependência de densidade 5. Inseto-para-controle-biológico 6. Inseto-parasitóide 7. Ovo de inseto 8. Parasitismo 9. Técnica de liberação I. Título

CDD 633.61

Aos meus pais Laís e Antônio
e aos meus irmãos Jonas e Cristiane
pelo constante incentivo e amor

OFEREÇO

Aos meus avós Nair e Antônio (*in memorian*)
pela saudade e admiração imensa
e ao Rogério (*in memorian*),
o qual não conheci, mas muito querido por
todos e precursor desta pesquisa

DEDICO

Agradecimentos

Quando vim para Piracicaba, em 1995, estava realizando um sonho, um desejo, de passar uma etapa de minha vida na **ESALQ**, e por isso agradeço à **Deus**, à **Espiritualidade Maior** e a esta abençoada e rica Instituição pela oportunidade ímpar.

Com o passar dos meses e, conseqüentemente, com o início dos experimentos em campo, pude vivenciar as dificuldades que este tipo de pesquisa está sujeito, ainda mais no período do ‘El niño’; por isso, agradeço à **Natureza** pelos inumeráveis testes que fortaleceram minha imperfeita tolerância e minha persistência.

Obrigado ao **Departamento de Entomologia, Fitopatologia e Zoologia Agrícola** pela convivência e ensinamentos valiosos.

Na pesquisa conduzida, tive o apoio, as facilidades, o incentivo, a preocupação, as garantias, a dedicação e a influência do Prof. **José Roberto Postali Parra**, meu orientador, e mais que isso, meu outro pai, pois ninguém faz o que ele fez por mim e por seus orientados; por isso tudo eu o agradeço, para sempre.

Antes de iniciar minha pesquisa, passei por um período de adaptação meio tumultuado em minha vida íntima, mas sendo treinado para aquele mundo novo: A Biologia de Insetos; pois até então eu somente havia trabalhado com seletividade de agrotóxicos, criação de joaninhas, alguns trabalhos com soja e citros e outros com controle microbiano, com uma pessoa

incrível, que devo agradecer, pois me deu um grande apoio no início da Tese, que foi o Prof. **Santin Gravena**, meu amigo de Jaboticabal. Agradeço também à **Silvia Monteil Gomes**, minha amiga dedicada e de todas as horas, que me ensinou muito sobre o mundo do *Trichogramma* e corrigiu minha Tese, e ao meu amigo **Fernando Luís Cônsoli**, pelas explicações e dicas freqüentes.

As criações dos insetos utilizados nos experimentos muitas vezes tomaram um tempo incalculável e que sofreram com inúmeros problemas, devido à grande produção. E mais amigos entraram em minha vida e na pesquisa, devendo a eles os meus

mais sinceros agradecimentos, que foram: **Márcia R. Perossi** e **Adriana Marques**, pela total responsabilidade e dedicação que tiveram pelos laboratórios de criação da broca, onde passamos horas agradáveis (bombons, risadas, bobeiras etc.) em dias bem atarefados (fungos, bactérias, pilhas de caixas para lavar etc.); **Neide G. Zério**, que incansavelmente salvou as criações, às custas, muitas vezes, de perder seus próprios ensaios; **Maria José A. de Oliveira (Mazé)**, da COPERUCAR, que tantas vezes salvou as liberações do parasitóide cedendo adultos da broca da cana que faltavam, sempre com aquele “jeitinho brasileiro”; **Enrico D. B. Arrigoni** e **COPERUCAR**, pelas facilidades na cessão de pupas da broca; **Alessandra Tabai**, **Patrícia Milano** e **Rosa Maria Molina**, pelo incentivo, dedicação e

apoio nas horas de trabalho excessivo com as criações.

As instalações dos ensaios eram sempre agitadas e “intelecto-estimulantes”, pois inúmeros detalhes deveriam ser resolvidos antes da ida ao campo, para não ser um tempo perdido. Ora era a sincronização na obtenção de canaviais, mariposas, parasitóides e condições climáticas desejáveis, ora uma contaminação perto do dia da instalação do experimento no campo, entre outras “complicaçõeszinhas”. E nessas horas que os amigos apareciam, dispostos, otimistas e divertidos. E nesse vaivém de todo instante, uma pessoa muito especial nunca falhou comigo e, aliás, mais que contribuiu para que tudo desse certo, que foi o **Heraldo Negri de Oliveira (Negri)**. Quantas e quantas vezes eu e o Negri fugimos de chuvas, ou as “pegamos”, corremos feito loucos, ou o tempo que passou, “lavamos as mãos”, mas não deixamos a “peteca cair”, e ele, “meu irmão de religião” (como ele sempre dizia, e eu nunca soube o que significava), nunca esmoreceu, nunca falhou, nunca me deixou abater. Ao contrário, o Negri foi e é um irmão, mas não de religião, como ele diz, mas do peito, do coração. Muito obrigado, meu amigo!

Agradeço à **Usina Iracema**, pela cessão de várias áreas para instalação dos ensaios, e às **Usinas São João, São Martinho, São Carlos e Santa Adélia**, pela cessão de pupas da broca da cana.

Foram inúmeros os colaboradores “da última hora”. Agradeço à todos (e espero que não tenha esquecido de ninguém): **Vanderlei N. Koefender**, meu amigo animado, que se deslocou lá do Departamento de Nutrição de Plantas para me auxiliar no corte dos colmos de cana; **Maria Teresa do R. Lopes**, minha doce e meiga amiga e

irmã de coração, que sem tempo, pois se dedicava integralmente à sua Tese, se desdobrava, incansável, para proporcionar tranquilidade às minhas correrias; **Antonio Rogério Iarossi**, amigo responsável ao extremo, que fez o que pode para arranjar tempo no auxílio à pesquisa, com afinco e destreza; **Miriam Rosa Paron**, minha devotada irmãzinha, que me ajudou em dias difíceis e longos, muitas vezes passando horas a disposição dessa pesquisa, por insistência pessoal; **José Carlos Castilho (Carlinhos)**, auxiliando no corte das canas; **Laila Herta Mihsfeldt**, “mãezona” dedicada, que me deu dicas, clareou algumas dúvidas e me deu grande apoio; **Paulo H. Z. de Oliveira, Márcio Ferrari e Márcio A. Marcos**, pelo auxílio esporádico mas essencial para a condução da pesquisa.

Minha vida financeira teve altos e baixos neste período e eu não conseguiria desenvolver nenhuma pesquisa se não tivesse a minha bolsa cedida pelo **CNPq**, que eu agradeço mais uma vez.

Sempre existem pessoas, na vida de todos, que além de auxiliarem durante os trabalhos, também ajudam fora deles; e na minha também existiu, ainda bem. Aproveito para agradecer ao **Ivan André Alvarez** pelas inúmeras vezes que me ajudou a separar lagartas de dietas contaminadas nos sábados e domingos à noite, agüentou minhas rabugices quando algo não dava certo em meus ensaios, combatendo-as com sua amizade, foi ao campo para “pegar no batente”, debaixo de sol ardente, ou seja, abriu mão de seu descanso para auxiliar minha Tese. Muito obrigado meu amigo e irmão, pois você mostrou ser um verdadeiro camarada, mais do que eu sou para você, sem sua ajuda muita coisa poderia ter dado errado. Obrigado!

Ufa! Terminaram os ensaios e começaram as redações finais. Literatura daqui e estatística dali. Agradeço a Profa. **Marinéia de Lara Haddad** pela dedicação nas minhas análises estatísticas. Agradeço também a **Eliana M. G. Sabino** pela correção das minhas referências bibliográficas. Obrigado **Lia B. Moretti** pela confecção do Summary da Tese e Prof. **Evôneo Berti Filho** pela correção. Mais uma vez, obrigado **Enrico D. B. Arrigoni** pela correção final de minha Tese e **Heraldo Negri de Oliveira**, pelas fotos.

Obrigado à **todos** que de uma forma ou de outra ajudaram nessa Tese, e que a mesma leva um pouquinho do suor e dos “neurônios” de todos aqui citados.

MUITO OBRIGADO!

SUMÁRIO

	Página
RESUMO	vii
SUMMARY	ix
1 INTRODUÇÃO	1
2 REVISÃO DE LITERATURA	3
2.1 Bioecologia de <i>Diatraea saccharalis</i> (Fabr., 1794)	3
2.2 Liberações de <i>Trichogramma</i> spp. no campo	7
3 MATERIAL E MÉTODOS	13
3.1 Criação de <i>Trichogramma galloi</i> Zucchi, 1988 e de <i>Diatraea saccharalis</i> (Fabr., 1794)	13
3.1.1 Criação do parasitóide	14
3.1.2 Criação da broca da cana-de-açúcar	15
3.2 Determinação do nível de infestação de ovos de <i>D. saccharalis</i> necessário para causar danos à cana-de-açúcar	17
3.3 Avaliação da eficiência de diversas técnicas de liberação, para controle de <i>D. saccharalis</i> , e tempo de atuação (permanência) de <i>T. galloi</i> em cana-de-açúcar	23
3.4 Análise estatística	29
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	30
4.1 Determinação do nível de infestação de ovos de <i>Diatraea saccharalis</i> (Fabr., 1794), necessário para causar danos à cana-de-açúcar	30

4.2	Avaliação da eficiência de diversas técnicas de liberação de <i>T. galloi</i> , para controle de <i>D. saccharalis</i> , em cana-de-açúcar	41
4.2.1	Parasitismo e tempo de atuação (permanência) do parasitóide	41
4.2.2	Distribuição espacial e temporal do parasitismo	57
4.3	Efeito da densidade de ovos de <i>D. saccharalis</i> , por touceira de cana-de-açúcar, no parasitismo por <i>T. galloi</i>	63
5	CONCLUSÕES	67
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	69

**COMPARAÇÃO DE TÉCNICAS DE LIBERAÇÃO E
PARASITISMO DE *Trichogramma galloi* ZUCCHI, 1988, EM
INFESTAÇÕES DE *Diatraea saccharalis* (FABR., 1794),
PREJUDICIAIS À CANA-DE-AÇÚCAR**

Autor: ALEXANDRE DE SENE PINTO

Orientador: Dr. JOSÉ ROBERTO POSTALI PARRA

RESUMO

Estudou-se a atuação de *Trichogramma galloi* Zucchi, 1988, em níveis de infestação artificial de ovos de *Diatraea saccharalis* (Fabr., 1794) prejudiciais à cultura da cana-de-açúcar, comparando-se diferentes técnicas de liberação do parasitóide. Os ensaios foram realizados em canaviais comerciais de Piracicaba e Araras, SP, durante os anos de 1996 a 1998, em diferentes variedades e estágios fenológicos da planta. As técnicas de liberação comparadas foram: 1) adultos dispersos na área; 2) adultos em ponto fixo e central na área; 3) pupas aderidas a um cartão, desprotegidas, em ponto fixo; 4) pupas protegidas, de uma idade, em ponto fixo e; 5) pupas protegidas, de 3 idades diferentes, em ponto fixo e central na área. Para se determinarem os níveis de infestação de ovos de *D. saccharalis* prejudiciais à cultura, foram instalados 3 experimentos em épocas diferentes. A densidade de ovos é fundamental para estudos de infestação de *D. saccharalis* e de parasitismo de *T. galloi*, em campo. Pôde-se verificar que existiu uma relação diretamente proporcional entre o número de ovos de *D. saccharalis*, por unidade de área, e a intensidade de infestação em colmos, sendo esta relação influenciada por vários fatores, como a predação de ovos e o clima. A predação mostrou ser diretamente proporcional ao número de ovos por ponto de infestação, chegando a 100% em pontos com grande densidade de ovos. O clima interferiu na

eficiência das liberações, sendo os principais parâmetros a temperatura e a precipitação pluviométrica. Por outro lado, o efeito da umidade relativa do ar sobre *T. galloi* depende da fenologia da cana-de-açúcar. Não existiram diferenças na porcentagem de parasitismo e no tempo de atuação de *T. galloi* entre as técnicas de liberação por dispersão ou em ponto fixo e central na área, assim como entre as que utilizaram adultos ou pupas desprotegidas. O tempo de atuação de *T. galloi* foi sempre de 6 dias, independente da técnica de liberação utilizada, embora o parasitismo tenha sido decrescente com a idade. A proteção de pupas, para a liberação no campo, mostrou ser importante quando as condições climáticas são adversas ao parasitóide. A utilização de pupas com uma idade ou 3 idades diferentes, nos recipientes de liberação, propiciaram a mesma eficiência e tempo de atuação de *T. galloi*. Existiu uma relação inversamente proporcional entre o número de ovos por ponto de infestação e a porcentagem de parasitismo, a partir de 50 ovos por local de infestação. Os resultados indicaram que os estudos de infestação artificial de *D. saccharalis* e parasitismo por *T. galloi* devem utilizar áreas com pontos de infestação com baixa densidade de ovos, os quais podem ser obtidos utilizando-se fêmeas mais velhas, nas gaiolas presas às plantas, por produzirem massas de ovos menores.

COMPARISON OF RELEASE TECHNIQUES AND PARASITISM OF *Trichogramma galloi* ZUCCHI, 1988, IN HEAVY INFESTATIONS OF *Diatraea saccharalis* (FABR., 1794), ON SUGAR CANE

Author: ALEXANDRE DE SENE PINTO

Adviser: Dr. JOSÉ ROBERTO POSTALI PARRA

SUMMARY

The performance of *Trichogramma galloi* Zucchi, 1988 at heavy artificial infestation levels of *Diatraea saccharalis* (Fabr., 1794) eggs, on sugar cane, was studied by comparing different parasitoid release techniques. The trials were conducted in commercial cane fields in Piracicaba and Araras, state of São Paulo, from 1996 to 1998 in different sugar cane varieties and phenological stages of the plant. The following release techniques were compared: 1) adults scattered in the area; 2) adults in a fixed central point in the area; 3) exposed pupae attached to a carton in a fixed point; 4) protected pupae of the same age in a fixed point; and 5) protected pupae of 3 different ages in a fixed central area. In order to determine the infestation levels of *D. saccharalis* eggs that cause damage to the crop, three experiments were set up in different periods. The density of eggs is basic for studies on *D. saccharalis* infestation and *T. galloi* parasitism in the field. A relationship between the number of *D. saccharalis* eggs per unit area, and the infestation intensity was observed to be influenced by several factors, such as egg predation and weather. Predation was directly proportional to the number of eggs per infestation site, reaching 100% in large egg clusters. The weather affected the efficiency of the releases, and the main parameters were temperature and rainfall. On the other hand, the effect of the relative humidity on

T. galloi depends on the phenology of the sugar cane. No differences were observed in the percentage of parasitism and action period of *T. galloi* among the release techniques using broadcast form or point sources in an area, as well as among those techniques using either adults or exposed pupae. The action period of *T. galloi* took always 6 days, regardless of the release technique used, although the parasitism decreased according to the age. Pupae protection for field release was very important when the weather conditions were unfavorable to the parasitoid. The use of pupae at one age or at 3 different ages into the release container provided the same efficiency and performance time of *T. galloi*. A inverse relationship between the number of eggs per infestation site and the parasitism percentage starting with 50 eggs per infestation site occurred. The results indicated that one should use areas with low egg density infestation sites, which can be achieved by using older females in cages attached to the plants, because they produce lesser egg masses.

1 INTRODUÇÃO

O controle biológico da broca da cana-de-açúcar, *Diatraea saccharalis* (Fabr., 1794), utilizando parasitóides larvais, é uma prática comum nos canaviais paulistas e brasileiros desde a década de 70. Nos últimos anos, utiliza-se, praticamente, só o parasitóide importado *Cotesia flavipes* (Cam.), mais eficiente do que os taquinídeos anteriormente utilizados. Entretanto, existem áreas em que estes parasitóides não conseguem controlar eficientemente a praga, por problemas climáticos e/ou de não adaptação deste parasitóide importado, ou mesmo devido à baixa predação da fase de ovos da broca-da-cana.

A associação com novos inimigos naturais para comporem um programa de controle biológico que atue em todas as áreas canavieiras, incluindo a escolha de um parasitóide de ovos é, no mínimo, muito interessante e promissor, visto ser a fase de ovo o fator chave do crescimento populacional da broca-da-cana (Botelho, 1985). Entre as espécies mais promissoras está o microhimenóptero *Trichogramma galloi* Zucchi, 1988, encontrado parasitando ovos de *D. saccharalis* no Estado de São Paulo e em outras partes do país (Zucchi, 1988).

O referido parasitóide já vem sendo produzido massalmente e suas liberações inundativas mostram que ele é um eficiente regulador da população de *D. saccharalis* no Brasil (Parra, 1998). Para se liberar este parasitóide, em cana-de-açúcar, em nosso país, tem-se utilizado adultos em copinhos plásticos presos às plantas (Lopes, 1988), mas nenhuma outra técnica foi testada, dentre as várias existentes para outras espécies de *Trichogramma* (Smith, 1994).

Sabe-se que a densidade do hospedeiro exerce forte influência sobre a capacidade de parasitismo de espécies de *Trichogramma*, e que o número de ovos parasitados por fêmea tende a ser maior com o aumento da densidade do hospedeiro, dentro de certos limites (Pak & Oatman, 1982 e Burbutis et al., 1983), em condições de laboratório. Isto também foi confirmado para *T. galloi*, o que pode determinar uma variação no número de parasitóides a ser liberado (Lopes, 1988). Entretanto, a capacidade de parasitismo por *Trichogramma* tem sido sempre avaliada sobre um número fixo de ovos colocados na planta de cana-de-açúcar, sem se preocupar se estes números, aleatórios, causariam, ou não, prejuízos à cultura ou afetariam a eficiência de parasitismo.

Este trabalho tem por objetivo verificar a eficiência do parasitóide *T. galloi*, em níveis de infestação artificial de ovos da broca-da-cana que causem danos econômicos à cultura, e as melhores técnicas de liberação do parasitóide na cultura da cana-de-açúcar para controle de *D. saccharalis*.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Bioecologia de *Diatraea saccharalis* (Fabr., 1794)

O volume de informações sobre a biologia de *D. saccharalis* é bastante grande. Os relatos das durações das diferentes fases de desenvolvimento da praga, em campo, variaram muito nos diversos registros da literatura. Assim, a duração da fase de ovo variou de 4 a 12 dias, a fase larval de 20 a 79 dias e a fase pupal de 6 a 14 dias (Tucker, 1933; Caminha Filho, 1935; Hayward, 1943; Bergamin, 1948; Guagliumi, 1976; Guevara, 1976; Delegación Cubana de la VIII Reunión del Geplacea¹ citado por Botelho, 1985 e D'utra² citado por Botelho, 1985), com uma constatação da duração da fase prepupal de 3 dias (Delegación Cubana de la VIII Reunión del Geplacea¹ citado por Botelho, 1985). A longevidade dos adultos foi variável de 2 a 9 dias (Caminha Filho, 1935; Botelho, 1985 e Delegación Cubana de la VIII Reunión del Geplacea¹ e D'utra² citados por Botelho, 1985).

Ainda em estudos de campo, os diversos trabalhos mostraram discordância quanto ao número de ovos por postura, que variaram de 5 a 50 e que foram concordantes quanto ao número médio de ovos por fêmea, que ficou ao redor de 300 (Caminha Filho, 1935; Hayward, 1943; Bergamin, 1948 e Guagliumi, 1976).

¹ DELEGACIÓN CUBANA A LA VIII REUNIÓN DEL GEPLACEA. Barrenador (*Diatraea saccharalis*) principal plaga de la caña de azúcar em Cuba. **Tecnología GEPLACEA**, n. 5, p. 1-26, 1978.

² D'UTRA, G.R.P. Insetos nocivos a canna de assucar. **Jornal do Agricultor**, v. 11, n. 268, p. 116-117, 1884.

Botelho (1985), através de observações biológicas da broca da cana, em condições de telado, elaborou uma tabela de vida ecológica, e obteve uma variação de 242 a 391 ovos por fêmea, respectivamente, nas épocas mais frias e quentes do ano, em Araras, SP.

Mélo & Parra (1988) estudaram, em laboratório, a biologia de *D. saccharalis* em 4 temperaturas constantes (20, 22, 25 e 30°C) e fotofase de 14 horas, e determinaram as exigências térmicas das diferentes fases do desenvolvimento da broca. Desta forma, as constantes térmicas para as fases de ovo, lagarta e pupa foram, respectivamente, 67,5 , 517,0 e 126,1 GD. As temperaturas bases das 3 fases, calculadas pelo método do coeficiente de variação, foram de 11,2 , 7,3 e 10,6°C, respectivamente.

A ocorrência da broca da cana tem sido mais freqüente nos meses de abril, maio e junho, como já relatara D'utra², citado por Botelho (1985), desde o século passado em canaviais da Bahia.

Entretanto, algumas variações foram observadas na região canavieira do Estado de São Paulo. Silveira Neto et al. (1968) estudaram a flutuação populacional de *D. saccharalis* em Piracicaba, SP, e constataram picos populacionais nos meses de setembro e novembro. Long (1976) estudou a broca em 4 regiões do Estado de São Paulo e observou que a infestação de lagartas foi relativamente alta no período de janeiro a julho, com populações muito baixas em outubro. Em Araras, SP, Botelho et al. (1979) observaram o pico de ocorrência de adultos em agosto. Botelho (1985) mostrou que, em média, o ciclo é mais curto na primavera, sendo alongado no inverno. A viabilidade total do ciclo deste crambídeo é maior no verão em relação ao inverno. Neste último trabalho ficou determinado que o fator chave da população é a fase de ovo.

No Texas, EUA, Fuchs & Harding (1978) observaram que a ocorrência de ovos de *D. saccharalis* foi alta nos meses de junho a agosto, período este de verão naquele país, e sugeriram que o fotoperíodo foi o principal fator responsável pela ocorrência de pico de emergência da broca da cana. No Brasil, Botelho (1985) observou que a predominância da fase de ovo ocorreu nos 3 primeiros meses do ano, em Araras,

SP, em condições de telado. Através de observações de campo, Tucker (1933), em Barbados, na América Central, verificou que a broca da cana realizou posturas nos canaviais com uma variação no número de ovos de 66,7 a 69,2 mil por hectare, com um valor mínimo de 6,2 mil, considerando 15% de possíveis erros amostrais.

Vários fatores afetam a sobrevivência da broca no campo. Assim, Tucker (1933), em Barbados, considerou que a mortalidade dos embriões durante os primeiros meses do ano foi alta, pois neste período o desenvolvimento do canavial é lento e a atividade de predadores intensa. Entretanto, quando os colmos apresentavam cerca de 90 a 150 cm de altura, a mortalidade devido a predadores diminuiu.

Caminha Filho (1935) relatou que somente uma pequena porcentagem de ovos chegou às fases larval e pupal, com parasitóides e predadores afetando as 3 fases de desenvolvimento e Hayward (1943) comentou que as chuvas fortes e as secas excessivas eliminaram uma certa quantidade de ovos e lagartas existentes no campo. Os ovos de *D. saccharalis* são muito sensíveis ao ressecamento (Parra et al., 1997), não ocorrendo danos da praga em períodos mais secos.

O controle biológico de ovos de *D. saccharalis* foi estudado inicialmente com ênfase à predação. Terán (1980) estudou o controle natural de ovos de *D. saccharalis* no Estado de São Paulo, fixando tiras de papel contendo ovos da broca da cana, obtidos em laboratório e com menos de 24 horas de idade, em folhas de cana. Após 2 anos de estudos chegou à conclusão de que 76,16% dos ovos eram controlados naturalmente, sendo 63,64% predados, 3,90% parasitados e 8,63% inviabilizados por outros motivos, como doenças e/ou condições climáticas adversas. O autor não comentou se os ovos predados poderiam estar parasitados, subestimando assim o parasitismo registrado.

Apesar de ser uma técnica fácil, a utilização de tiras de papel contendo ovos não reflete o parasitismo natural de ovos colocados nas folhas, como foi discutido por Degaspari et al. (1987) e verificado por Micheletti (1987). Após ser desenvolvida uma técnica de obtenção de ovos de *D. saccharalis* no campo, utilizando-se gaiolas de

“nylon” para confinar os casais nas folhas, Micheletti (1987) observou que o parasitismo natural nestas condições foi muito superior (38,9 a 78,9%, em média) ao observado para ovos obtidos em laboratório e levados ao campo em tiras de papel (5,4%). Lopes et al. (1989) obtiveram resultados semelhantes para *Trichogramma galloi* Zucchi, 1988, e Magrini (1988), estudando o parasitismo de *Trichogramma* sp. em ovos da broca da cana em seis tipos diferentes de papel, chegou à conclusão de que a folha de cana foi o único substrato aceitável para obtenção de ovos de *D. saccharalis* visando a estudos com *Trichogramma* spp., pois os papéis utilizados levaram a um ressecamento de 90% das posturas.

A mortalidade natural de *D. saccharalis* na Louisiana, EUA, foi estudada por Negm³ citado por Botelho (1985), constatando que o período crítico para a sobrevivência das lagartas foi o primeiro ínstar, antes do início da perfuração da bainha da folha ou do entrenó. Neste período, as lagartas pequenas ficam expostas a predadores e aos efeitos adversos do clima. Observou também que as variedades de cana e sua fenologia podem afetar o número de lagartas estabelecidas e que o vento pode auxiliar a dispersão de lagartas para outras plantas.

Mendes et al. (1980) compararam a intensidade de infestação de *D. saccharalis* com a quantidade de adultos coletados em armadilhas luminosas, através de dados obtidos em 9 locais do Estado de São Paulo, e encontraram correlação positiva entre estes dois parâmetros. Estes autores, entretanto, não correlacionaram o número de ovos com a infestação final da praga.

³ NEGM, A.A.G. Ecological studies of certain natural mortality factors of the sugarcane borer, *Diatraea saccharalis* (Fabricius) in Louisiana. Baton Rouge, 1968, 84p. Tese (Pós-doutorado) - State University.

2.2 Liberações de *Trichogramma* spp. no campo

As liberações inundativas podem ser afetadas por diversos fatores, tais como as espécies e linhagens do gênero *Trichogramma* que estão sendo utilizadas, a densidade do hospedeiro, número de parasitóides liberados e o comportamento do parasitóide (Kot⁴ citado por Smith, 1994 e Botelho, 1997).

A metodologia e a frequência de liberações são também muito importantes nas liberações inundativas. Os métodos de liberação podem influenciar o comportamento de *Trichogramma* spp. e o nível de controle da praga (Keller et al., 1985).

As liberações comerciais de parasitóides de ovos são realizadas atualmente em mais de 12 países, incluindo a Rússia, a China e países da Europa. Nos países onde os custos de produção são relativamente baixos, as técnicas de liberação manuais são utilizadas com mais frequência, enquanto nos países mais desenvolvidos, a diminuição dos custos de produção é necessária e, assim, técnicas de mecanização da liberação são desenvolvidas. Da mesma forma, as áreas a serem tratadas são cada vez maiores, mudando as técnicas de liberação de terrestres para aéreas, numa tentativa de aumentar o acesso às grandes áreas e reduzir o tempo envolvido (Smith, 1994).

A liberação de parasitóides por via terrestre é o meio mais comumente relatado na literatura (Allen & Gonzalez, 1974; Burbutis & Koepke, 1981; Ridgway & Morrison, 1985; Bigler, 1986; Lopes, 1988; Neil & Specht, 1990 e Prokrym et al., 1992), sendo que nos EUA, desde o início da utilização de *Trichogramma* spp. são referidas liberações manuais de adultos deste parasitóide (Smith, 1994).

Antigamente, para a liberação de parasitóides, era feita uma coleta de ovos parasitados no campo, que eram levados ao laboratório e colocados em placas de Petri até a emergência. A seguir, os adultos eram transportados até o local de liberação,

⁴ KOT, J. Factors affecting the efficiency of *Trichogramma* introduction. In: PROCEEDINGS OF THE INTERNATIONAL CONGRESS OF ENTOMOLOGY, 2., (?), 1968. (?):(?), 1968. p.155-158.

as placas abertas, para os parasitóides saírem livremente, sendo que aqueles que não voassem eram forçados a sair através de agitação dos recipientes (Smith, 1994).

Segundo Smith (1994), na Rússia os parasitóides eram liberados na forma de adultos faratos, dentro de papéis amassados ou folhas de plantas murchas, diretamente no campo. Nos EUA, os ovos parasitados eram deixados até a emergência no laboratório e então transportados ao campo para a liberação (Gross et al., 1981a). A mesma técnica foi adotada em outros trabalhos (Mani & Krishnamoorthy, 1983 e Brenière et al., 1985). Mani & Krishnamoorthy (1983) liberaram *Trichogramma brasiliensis* (Ashm.) no campo na forma adulta, um dia após a emergência, para que a cópula pudesse ocorrer em laboratório.

A liberação de adultos faratos, para fins experimentais, é extremamente prática porque permite trabalhar com um número definido de parasitóides na área. Entretanto, isto demanda muito tempo e é só aplicável a trabalhos em pequena escala. Mais recentemente, a liberação de ovos parasitados do hospedeiro (com o parasitóide na fase de pupa) tem sido mais utilizada (Smith, 1994).

Os parasitóides podem ser liberados de forma protegida ou não. Antigamente, o material parasitado era liberado diretamente na cultura em pontos de liberação (Stinner et al., 1974). Entretanto, hoje, na maioria dos trabalhos adotou-se a liberação deste material aderido a um substrato de cartolina ou a vários tipos de papéis (encerados, de filtro etc.) (Smith, 1994).

Estes substratos têm sido distribuídos em pontos de liberação devidamente escolhidos e presos às plantas com barbante, prendedor ou cliques em diversas culturas (Dolphin et al., 1972; Allen & Gonzalez, 1974; Hassan et al., 1986; Hulme & Miller, 1986 e Newton, 1988). Em alguns trabalhos utilizaram-se cartões ou tiras de papel contendo ovos parasitados, que são colocados entre as folhas das plantas (Neil & Specht, 1990).

Freqüentemente, as pupas dos parasitóides são liberadas com idade uniforme para facilitar a emergência dos adultos em um período curto, porém

homogêneo. Entretanto, Andow et al. (1995), nos EUA, liberaram uma mistura de pupas de *Trichogramma nubilale* Ertle & Davis de diferentes idades, em milho doce e feijões, para o controle de *Ostrinia nubilalis* (Hübner), nas seguintes composições: 1) 10% de pupas de 9 dias, 20% de 8 dias, 30% de 7 dias e 40% de 6 dias de idade, e 2) 40% de 9 dias, 30% de 8 dias, 20% de 7 dias e 10% de 6 dias, em pontos fixos de liberação no centro e nos 4 cantos da área, aumentando, desta forma, o intervalo de liberação, pelo aumento do tempo de atuação do parasitóide no campo, como observado por Prokrym et al. (1992).

A liberação de *Trichogramma* spp. em forma de pupa, em substratos desprotegidos, tem uma desvantagem, pois o material parasitado fica exposto por um longo período no ambiente, quando comparado com os adultos que são liberados diretamente. A probabilidade da presença de predadores e das adversidades climáticas (chuva, por exemplo) reduzirem o número de parasitóides aumenta muito, exceto se medidas para abrigar ou proteger este material forem tomadas (Smith, 1994).

Na década de 80, uma grande quantidade de diferentes técnicas foi desenvolvida para proteger o material parasitado (Gross et al., 1981b). Os recipientes utilizados para isto variaram desde modelos artesanais (Burrell & McCormick, 1962; Ables et al., 1979 e Shi et al., 1986) até outros mais elaborados como embalagens de alimentos (Sttiner, 1977).

Foram utilizados copinhos em formato de cone com as extremidades cortadas ou papel encerado para liberações em pomares e florestas (Smith et al., 1987 e Steenburgh⁵ citado por Smith, 1994), copinhos plásticos para cana-de-açúcar (Lopes, 1988), caixas de sorvete em pomares (Dolphin et al., 1972), sacos de vários tipos para pomares (Yu et al., 1984), sacos de papel marrom (Dolphin et al., 1972), sacos confeccionados de “nylon” (Hassan et al., 1988), cápsulas de papelão acondicionadas em sacos de tela de malha (Greatti & Zandigiacomo, 1995), vasos de vidro (Andow &

⁵ STEENBURGH, W.E. van. Notes on the natural and introduced parasites of the oriental peach moth (*Laspeyresia molesta* Busck) in Ontario. **Annual Report of the Canadian Entomology Society of Ontario**, p.124-130, 1930.

Prokrym, 1991 e Prokrym et al., 1992) e latas (Burbutis & Koepke, 1981), todos para milho, copos plásticos de dieta artificial (para criação de insetos) para algodoeiro (Sttiner et al., 1974; Gross et al., 1981a e Kanour & Burbutis, 1984), pedaços de bambu e cápsulas para milho (Maini et al., 1982; Maini et al., 1986 e Maini & Burgio, 1989/90) e garrafas plásticas de leite (Kanour & Burbutis, 1984). Mertz et al. (1995), nos EUA, utilizaram cartões com ovos parasitados protegidos por caixas de papel enceradas, com uma malha protegendo o topo do conjunto, que era então colocado dentro de armadilhas plásticas de feromônio, na cultura do milho doce.

Os recipientes, de um modo geral, são presos às plantas, como comentado anteriormente para cartões desprotegidos, ou são pendurados diretamente em partes das plantas (Lopes, 1988; Neil & Specht, 1990 e Smith, 1994). Em alguns casos, os recipientes têm sido colocados no solo (Gross et al., 1981a) ou presos em estacas de madeira, ao invés de serem colocados diretamente nas plantas (Kanour & Burbutis, 1984 e Smith et al., 1987, 1990). Uma fonte alimentar tem sido adicionada ao recipiente para aumentar a longevidade do parasitóide (Gross et al., 1984 e Lopes, 1988).

Na maioria dos estudos, o material parasitado tem sido distribuído, manualmente, em pontos específicos (Smith, 1994), embora em alguns casos, os recipientes tenham sido colocados mecanicamente, através de um veículo em movimento (Ables et al., 1979).

As técnicas que se baseiam no material parasitado liberado em diferentes pontos apresentam alguns inconvenientes, tais como a necessidade de uma boa distribuição dos pontos por toda a área e que o espaçamento entre os mesmos permita a dispersão do parasitóide por todo o local, uniformemente (Gusev & Lebedev, 1986). Por este motivo, vários pesquisadores tentaram desenvolver técnicas para a distribuição do material parasitado através de dispersão ou pulverização de adultos ou pupas, ao invés de distribuí-los em pontos específicos.

Brower (1988), nos EUA, simplesmente pulverizou, semanalmente, ovos parasitados por *Trichogramma pretiosum* Riley sobre a superfície de amendoins, em um

armazenamento simulado para controlar algumas espécies-pragas. Para sistemas fechados, tais como armazéns de grãos, esta técnica simples é suficiente; entretanto, para condições de campo e florestas, a mecanização da técnica se faz necessária (Smith, 1994).

Schutte & Franz (1961) desenvolveram um pulverizador para aplicar ovos de *Ephestia* (= *Anagasta*) *kuehniella* (Zeller), parasitados por *Trichogramma embryophagum* (Hartig) em um pomar de maçã. Ables et al. (1979) utilizaram um pulverizador de ar comprimido para a aplicação de *Trichogramma* no campo, baseando-se nos resultados obtidos por outros pesquisadores para a aplicação de predadores, e concluíram que a técnica não era adaptável para o parasitóide em questão, especialmente em aplicações em grandes áreas.

Nordlund et al. (1974), nos EUA, desenvolveram um pulverizador pneumático de arranque manual para liberar ovos de *Helicoverpa zea* (Boddie) parasitados por *T. pretiosum* em plantações de algodão. Este pulverizador, acoplado a uma mangueira de 15,2m, permitiu que uma área de oito ruas de largura e 15,2m de comprimento fosse tratada de apenas um ponto de pulverização. Usando esta técnica, Jones et al. (1977), nos EUA, colaram ovos de *Sitotroga cerealella* (Olivier) em flocos de farelo, aplicando-os em um semeador modificado, para testar a primeira liberação em larga escala do gênero *Trichogramma*, por dispersão, na densidade de 176.000 a 247.000 parasitóides por hectare. Mais tarde, também nos EUA, Gross et al. (1981b) desenvolveram um sistema constituído de uma bomba peristáltica, uma corrente e uma ventoinha centrífuga para liberar ovos de *H. zea*, parasitados por *Trichogramma*, acima da copa das plantas de algodão, na densidade de 244.000 parasitóides por hectare. Estes autores concluíram que os sistemas desenvolvidos poderiam ser usados comercialmente para aplicações terrestres, atingindo distribuições uniformes de parasitóides, sem danificá-los. Haji (1997) aplicou *T. pretiosum* via pivô central, em Petrolina, PE, e observou que este sistema de liberação é prático, eficiente e o custo é baixo.

Alguns autores testaram as aplicações aéreas de parasitóides, em florestas (Hope et al., 1990 e Johnson, 1985). No Canadá, Smith & Wallace (1990) modificaram

um equipamento de ventilação manual, para distribuição de ovos soltos de *S. cerealella*, parasitados por *Trichogramma minutum* Riley, em florestas, com o objetivo de simularem uma aplicação aérea.

Bigler et al. (1997) comentaram que a técnica de liberação de *Trichogramma* spp., dentre outros fatores, é importante para a localização do hospedeiro no campo e discutiram algumas vantagens e desvantagens do uso de técnicas que utilizam pupas do parasitóide distribuídas diretamente na cultura, dentro de cápsulas lançadas ao solo ou aderidas a cartões, presos às plantas. Os autores discutiram que, apesar da técnica por dispersão ser simples, apresenta a desvantagem de muitas pupas caírem ao solo, o mesmo ocorrendo com o lançamento de cápsulas, pois os adultos que emergem devem voar ou andar até as plantas, o que não acontece com os parasitóides dos cartões presos às plantas. Forsse et al. (1992) observaram que a liberação de vespas, que apresentam reprodução sexuada, pela técnica da dispersão, pode prejudicar a cópula e o vôo das fêmeas.

São poucos os trabalhos que visam à comparação de técnicas de liberação de *Trichogramma* spp. em campo. Houseweart et al. (1984) testaram diferentes métodos de liberação de *T. minutum* em floresta, em diferentes regiões de Maine, EUA, visando ao controle de *Choristoneura fumiferana* (Clemens). Concluíram que a liberação de pupas por dispersão e por múltiplas liberações, em 4 pontos fixos de liberação ao redor da parcela, foram superiores àquelas utilizando uma única liberação.

Smith & Wallace (1990), no Canadá, testaram duas técnicas de liberação de *T. minutum* em florestas, para o controle de *C. fumiferana*, durante o verão. Uma técnica foi de ponto fixo dentro da área, onde cartões contendo ovos parasitados, protegidos por copos de papel em formato de cone, foram presos em estacas e uma técnica de dispersão, que utilizou uma máquina de pulverização para distribuir pacotes contendo pupas do parasitóide. Concluíram que ambas as técnicas proporcionaram a mesma longevidade, razão sexual, fecundidade e emergência dos parasitóides, além de sua distribuição uniforme.

3 MATERIAL E MÉTODOS

Todos os ensaios foram conduzidos em plantações de cana-de-açúcar, destinadas à produção em Usinas de açúcar e álcool, nos municípios de Piracicaba e Araras, SP. Os dados climáticos foram obtidos na Estação Meteorológica do Depto. de Ciências Exatas da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” (ESALQ), da Universidade de São Paulo (USP), em Piracicaba, SP.

3.1 Criação de *Trichogramma galloi* Zucchi, 1988 e de *Diatraea saccharalis* (Fabr., 1794)

A broca da cana, *D. saccharalis*, utilizada nos ensaios, foi criada e mantida nos Laboratórios de Biologia de Insetos do Departamento de Entomologia, Fitopatologia e Zoologia Agrícola da ESALQ/USP e no Laboratório de Entomologia da Cooperativa dos Plantadores de Cana, Açúcar e Álcool do Estado de São Paulo (COPERSUCAR). O parasitóide *T. galloi* foi criado e mantido somente na primeira instituição. Para a condução dos ensaios, foi necessária a produção mensal de 5.000 pupas da broca da cana e de 1 milhão de parasitóides. Nos períodos em que a criação da broca da cana tinha problemas, pupas de *D. saccharalis* foram cedidas pelos laboratórios da Usina São Martinho, de Pradópolis, Usina São Luiz, de Pirassununga, e Usina Santa Adélia, de Jaboticabal, todas no Estado de São Paulo.

3.1.1 Criação do parasitóide

O parasitóide *T. galloi* foi criado sobre o hospedeiro alternativo, *Anagasta kuehniella* (Zeller, 1879), utilizando-se a metodologia de Parra (1997). Os ovos de *A. kuehniella* foram colados em retângulos de cartolina azul (5,5x0,8 cm) com goma arábica diluída em água (50%). Posteriormente, para inviabilização dos embriões, os ovos eram expostos à lâmpada germicida por 45 minutos, prática rotineira neste tipo de criação (Stein & Parra, 1987), para evitar canibalismo, após a eclosão das lagartas. Cartões como estes eram oferecidos ao parasitismo por *T. galloi*, na proporção de 1 parasitóide para 10 ovos do hospedeiro, em sacos plásticos de 18x25cm, contendo gotículas de mel. O parasitismo era permitido por 24 horas à temperatura de $25\pm 1^{\circ}\text{C}$, umidade relativa de $70\pm 10\%$ e fotofase de 14 horas.

A cada 4 gerações no hospedeiro alternativo, os parasitóides eram criados, por uma geração, em ovos do hospedeiro natural, *D. saccharalis*, provenientes da criação estoque do Laboratório de Biologia de Insetos da ESALQ/USP (item 3.1.2). Para tanto, foram oferecidos aos parasitóides, ovos de 1 a 2 dias de idade, colocados em folhas de papel sulfite, retiradas da gaiola de postura da broca da cana. Os parasitóides foram confinados no interior de sacos plásticos de 18x25cm contendo gotículas de mel, por um período de 24 horas, na proporção de 1 parasitóide para cada 4 ovos do hospedeiro, à temperatura de $25\pm 1^{\circ}\text{C}$, umidade relativa de $70\pm 10\%$ e fotofase de 14 horas. Após este período, as folhas eram retiradas e umedecidas com água destilada, para evitar o ressecamento dos ovos e morte dos parasitóides (Parra & Sales Jr., 1994).

Foram mantidas 2 linhagens de *T. galloi* em laboratório, para serem utilizadas nos experimentos, uma que vem sendo mantida na COPERSUCAR (linhagem Copersucar) e uma proveniente de Sidrolândia, MS (linhagem Sidrolândia), mantida na coleção de linhagens de *Trichogramma* do Depto. de Entomologia, Fitopatologia e Zoologia Agrícola da ESALQ/USP.

3.1.2 Criação da broca da cana-de-açúcar

As pupas da broca da cana foram obtidas a partir da criação estoque do Laboratório de Biologia de Insetos da ESALQ/USP e da COPERSUCAR e separadas por sexo (Butt & Cantu, 1962).

Os adultos recém-emergidos (15 casais) eram transferidos para gaiolas de PVC (21cm de altura x 10cm de diâmetro) revestidas internamente com papel sulfite, que era umedecido diariamente, servindo como substrato de postura. Na parte inferior da gaiola era colocada uma placa de Petri (10,0cm de diâmetro x 1,5cm de altura), com papel de filtro no fundo, e na parte superior tecido do tipo “voil”, preso por elástico. O alimento oferecido aos adultos era solução de mel a 10%, em recipientes de vidro, que eram acessíveis aos mesmos por capilaridade através de rolo dental, sendo a solução trocada a cada 2 dias, para evitar a contaminação por patógenos.

As folhas de papel sulfite contendo as posturas eram tratadas com solução de sulfato de cobre a 1,0%, por 2 minutos, para evitar as possíveis contaminações por fungos.

As posturas eram mantidas em sacos plásticos (18x25cm), em camadas alternadas com algodão hidrófilo levemente umedecido. Posteriormente, os ovos eram contados e colocados em placas de Petri (10,0cm de diâmetro x 1,5cm de comprimento) com papel de filtro umedecido (água destilada) no fundo. As placas eram mantidas à temperatura de 25°C, UR de 70±10% e fotofase de 14 horas.

As lagartas foram criadas de três formas distintas: em tubos de vidro (ESALQ e COPERSUCAR), em caixas acrílicas em um sistema de circulação de ar e sem circulação de ar (ESALQ). Em todos os casos, as lagartas foram criadas em dieta à base de farelo de soja e germe de trigo (King & Hartley, 1985), na ESALQ, e em dieta à base de soja e levedura de cerveja (Hensley & Hammond, 1968 - modificada), na COPERSUCAR (Tabela 1).

Próximo à eclosão das lagartas, quando os ovos estavam escuros, adotaram-se 2 procedimentos distintos, dependendo da forma de criação da broca da cana. Os ovos destinados à criação em caixas de acrílico com e sem circulação de ar eram contados e colados na tampa dos recipientes de criação, no primeiro caso, e colocado diretamente sobre a dieta, no segundo. Os ovos destinados à criação em tubos de vidro eram mantidos em placas de Petri vedadas até a eclosão das lagartas.

O sistema de criação massal com circulação de ar, desenvolvido por Parra et al. (1993), é composto por um compressor de ar, ligado à uma tubulação vertical (180cm de comprimento x 2cm de diâmetro) que percorre toda a extensão de uma estante metálica e alimenta um conjunto de 3 tubulações horizontais (90cm de comprimento x 2cm de diâmetro), com 10 orifícios cada, situados na parte frontal e em prateleiras intercaladas. Estes orifícios permanecem vedados, até que sejam conectados aos recipientes de criação através de uma pequena mangueira plástica (0,5cm de diâmetro), para a circulação de ar. Entre o compressor e a tubulação vertical existe uma válvula para regular a pressão de entrada de ar e um filtro contendo carvão ativado, nesta sequência, sendo que este último é destinado à retenção de impurezas.

Neste sistema, os recipientes acrílicos apresentavam as dimensões de 28x15x5cm, uma tampa removível e dois orifícios localizados lateralmente e opostos entre si. Num dos orifícios foi colocada a mangueira que permitia a entrada de ar e no outro uma tela para permitir a saída de ar. Em cada recipiente eram colocados 600ml da dieta e aproximadamente 300 ovos da broca. Após a colocação dos ovos, os recipientes eram vedados com filme plástico e fita crepe e levados para a estante com o sistema de circulação de ar. As lagartas da broca permaneciam no sistema até o último ínstar larval, em uma sala regulada à temperatura de $28 \pm 1^\circ\text{C}$, umidade relativa de $60 \pm 10\%$ e fotofase de 14 horas.

Na criação da broca em caixas acrílicas sem circulação de ar, os recipientes apresentavam as dimensões de 15x15x5cm. Em cada recipiente eram colocados 250ml da dieta e 50 ovos prestes a eclosão das lagartas. Após a colocação dos ovos, as caixas eram fechadas com fita crepe e levadas às estantes de criação. As

lagartas da broca permaneciam nestas caixas até o último ínstar larval, nas mesmas condições do sistema com circulação de ar.

Na criação das lagartas em tubos de vidro (8,5x2,5cm), de fundo chato, os recipientes eram tamponados com algodão hidrófugo e esterilizados em estufa a 175°C por 1 hora. Em cada tubo eram colocados 25ml da dieta e 5 lagartas recém-eclodidas, e todo o procedimento de transferência das lagartas, realizado em câmara de fluxo laminar, obedecendo à metodologia de Parra (1996). Os tubos eram colocados em estantes de madeira com capacidade para 40 tubos e as lagartas permaneciam nos tubos até a pupação.

As lagartas de último ínstar dos sistemas de criação em caixas acrílicas eram transferidas (para evitar contaminações) para caixas plásticas de acrílico (5,0cm de diâmetro x 2,0cm de altura) (5 por caixa) contendo dieta artificial, conhecida como dieta de realimentação (utilizada na produção de parasitóides), à base de farelo de soja e germe de trigo (Tabela 1), cortada em pedaços de aproximadamente 0,5 x 0,5cm. As pupas aí formadas eram retiradas a cada 2 dias, colocadas em placas de Petri (10,0 x 1,5cm), revestidas com papel de filtro, e mantidas em diferentes temperaturas, para a obtenção de adultos de forma sincronizada (Mélo & Parra, 1988). A umidade relativa foi mantida a $70\pm 10\%$ e a fotofase por 14 horas.

3.2 Determinação do nível de infestação de ovos de *D. saccharalis* necessário para causar danos à cana-de-açúcar

Foram realizados 4 experimentos em diferentes áreas, épocas e variedades de cana-de-açúcar, a partir de infestações artificiais de ovos da broca da cana (Tabela 2).

Tabela 1 - Composição das dietas artificiais para criação de *D. saccharalis* na ESALQ/USP e na COPERSUCAR.

Componentes	Quantidade		
	COPERSUCAR	ESALQ	
		primeiros íntares	últimos íntares ¹
Germe de trigo	-	35,00 g	20,0 g
Soja	300,00 g	-	-
Farelo de soja	-	120,00 g	100,0 g
Levedura	75,00 g	-	-
Açúcar	10,00 g	120,00 g	80,0 g
Sais de Wesson	10,00 g	17,00 g	-
Folha de cana triturada	75,00 g	-	-
Metil-parahidroxibenzoato (nipagin)	10,00 g	7,00 g	3,0 g
Ácido ascórbico	5,00 g	4,20 g	2,0 g
Ácido sórbico	3,00 g	-	-
Cloreto de colina	2,00 g	0,90 g	1,0 g
Formaldeído 37%	-	1,70 ml	2,0 ml
Ácido acético	3,00 ml	-	7,5 ml
Vita Gold®	-	0,90 ml	-
Mistura vitamínica	45,00 ml	25,00 ml	7,5 ml
Tetraciclina (Tetrex)	-	0,30 g	0,4 g
Tetramicina	10,00 ml		
Ágar	30,00 g	25,00 g	20,0 g
Água destilada	2.800 ml	2.000 ml	1.100 ml

¹ Dieta de realimentação utilizada para a pupação das lagartas em meio mais sólido, evitando assim contaminações.

Para a obtenção dos ovos, foram isolados, em gaiolas, 15 casais em laboratório, 2 dias antes da instalação do ensaio, provenientes da criação estoque (item 3.1.2). Neste período, ocorria a cópula e era ultrapassado o período de pré-oviposição de 2 dias, permitindo que fossem levadas ao campo fêmeas no primeiro dia de oviposição, com 48h de idade, para garantir um grande número de posturas (Mélo & Parra, 1988).

No dia da instalação do ensaio, as fêmeas foram separadas dos machos e colocadas individualmente em tubos de vidro (8,5x2,5cm), os quais foram tampados com chumaços de algodão, para que fossem transportadas até o campo.

As fêmeas, no campo, foram confinadas em gaiolas fixadas às folhas de cana, para a realização das posturas. As gaiolas eram constituídas de duas armações retangulares de madeira (10x14cm), revestidas com tela de poliéster, externamente, e espuma, internamente, e fechadas com elásticos (Lopes, 1988) (Figura 1A). As mariposas foram confinadas na região da folha, na parte mediana da planta, próxima à bainha.

Após 24 horas de confinamento nas gaiolas, as fêmeas eram removidas, as folhas marcadas com fita colorida e o número de ovos era estimado, pelo método proposto por Lopes (1988). O método consiste em se colocar uma folha de plástico transparente e quadriculado (0,25x0,25cm, cada quadrado) sobre a postura e contar o número de quadrados ($0,0625\text{cm}^2$ cada) correspondentes ao número de ovos estimados por equações matemáticas. A predação e o parasitismo naturais foram avaliados através da recontagem dos ovos próximo ao período da eclosão, estimando-a com base na constante térmica (GD) da fase de ovo (67,5 GD) (Mélo & Parra, 1988).

Tabela 2 - Local, época e dados das áreas de cana-de-açúcar utilizadas nos diferentes experimentos de infestação artificial de ovos de *D. saccharalis*.

Ensaio	Local	Instalação ¹ /colheita	Dados da cultura (Variedade, idade e estágio fenológico)
1.	Usina São João, Araras, SP	30/09/96 / 06/11/96 (colheita da touceira infestada)	Variedade SP80-1816 7 meses de idade cana-soca (2º corte)
2.	ESALQ/USP, Piracicaba, SP	10/05/97 / - ²	Variedade RB785148 6 meses de idade cana-soca (2º corte)
3.	ESALQ/USP, Piracicaba, SP	27/06/97 / 28/08/97 (colheita da touceira infestada)	Variedade RB785148 7 meses de idade cana-soca (2º corte)
4.	Usina Iracema, Piracicaba, SP	30/04/98 / 18/09/98 (colheita ao acaso na área infestada)	Variedade RB835089 7 meses de idade cana-planta (1º corte)

¹ Data da primeira infestação artificial com ovos de *D. saccharalis*;

² Experimento perdido devido a alta predação na área.

Após a eclosão das lagartas, o desenvolvimento larval em campo foi acompanhado baseando-se também na constante térmica da fase larval (517 GD) (Mélo & Parra, 1988). A cana-de-açúcar foi colhida antes que as lagartas atingissem a fase pupal (para evitar que a sobreposição de gerações da praga mascarasse os resultados), colhendo-se as touceiras onde foram realizadas as posturas, que foram devidamente identificadas e levadas ao Departamento de Entomologia, Fitopatologia e Zoologia Agrícola da ESALQ/USP. Neste local, os colmos de cana foram abertos longitudinalmente para avaliação da intensidade de infestação da broca (Gallo et al., 1988).

No primeiro ensaio, cada parcela experimental tinha 400m² (20x20m), onde foram marcados 25 pontos (1 touceira/ponto), equidistantes entre si, deixando-se uma bordadura de 50m entre as parcelas. Em cada ponto foi colocada uma gaiola, como descrita anteriormente, presa à folha, próximo à bainha, onde foram confinadas as fêmeas da mariposa. Para se obterem diferentes níveis de infestações foram confinadas 1, 2 ou 4 fêmeas/gaiola, em parcelas experimentais distintas.

No segundo e terceiro ensaios, cada parcela experimental foi delineada de forma análoga ao primeiro ensaio. Entretanto, para se obterem 2 condições diferentes de infestação de ovos e melhor distribuídas dentro da área, em relação ao ensaio anterior, confinou-se apenas 1 fêmea/gaiola e utilizaram-se, em parcelas distintas, 2 ou 4 gaiolas/ponto (touceira).

O quarto ensaio foi diferente dos anteriores, simulando-se uma condição de distribuição e tamanho das posturas mais próxima ao que ocorre naturalmente no campo (Caminha Filho, 1935; Hayward, 1943; Bergamin, 1948 e Guagliumi, 1976) e para observação da infestação em colmos após duas gerações da broca da cana, visando abranger a parcela de lagartas hibernantes da geração de inverno (Walder, 1976). As parcelas experimentais foram constituídas por áreas de 400m², sendo as fêmeas distribuídas de forma equidistante e confinadas individualmente em gaiolas confeccionadas no local experimental com tiras de papel alumínio de 30x25cm, colocadas ao redor do limbo foliar, próximos à bainha da cana (Figura 1B). Para se obterem 2 níveis diferentes de infestação de ovos, foram confinadas, individualmente, em cada gaiola 200 fêmeas/400m² ou 400 fêmeas/400m², em parcelas distintas. As fêmeas levadas ao campo, neste ensaio, estavam no terceiro dia de oviposição, garantindo assim um número de posturas menor que dos ensaios anteriores, já que as posturas de *D. saccharalis* decrescem com a idade (Mélo, 1984).

Todos os ensaios tinham uma testemunha, a cerca de 100m de distância, no mínimo, das áreas com infestação artificial, para correção dos valores de infestação natural, pelo teste de Abbot.

Para se estudar a predação natural nos canaviais, foi instalado um ensaio em 21/04/97, em área com cana-soca (2º corte) da variedade RB785148, com 10 meses de idade, no Campus da ESALQ/USP, pertencente ao Depto. de Produção Animal. As infestações artificiais, para obtenção de ovos de *D. saccharalis*, foram realizadas de forma análoga ao primeiro ensaio, confinando-se 1 fêmea/gaiola, em 50 pontos em uma área de 800m². Após um dia de confinamento, as gaiolas foram retiradas e os ovos foram contados pela técnica descrita anteriormente, ficando expostos à predação. Após 24h de exposição, uma recontagem do número de ovos foi realizada para cálculo da porcentagem de predação.

Figura 1 - Gaiolas utilizadas nos experimentos de infestação artificial de ovos de *D. saccharalis*. A – gaiola de madeira com tela de poliéster (Lopes, 1988), utilizada nos 3 primeiros ensaios e; B - gaiola confeccionada com papel alumínio, utilizada no quarto ensaio.

3.3 Avaliação da eficiência de diversas técnicas de liberação, para controle de *D. saccharalis*, e tempo de atuação (permanência) de *T. galloi* em cana-de-açúcar

Foram realizados 3 experimentos para que fossem testadas técnicas de liberação do parasitóide *T. galloi* em campo para o controle de *D. saccharalis*. Utilizaram-se diferentes áreas, épocas e variedades de cana-de-açúcar (Tabela 3), a partir de infestações artificiais de ovos da broca da cana que causassem um mínimo de prejuízo à produção de cana-de-açúcar, baseando-se em 4.1.

A infestação artificial com ovos da broca da cana foi realizada diariamente, durante 7 dias, como descrito no item 3.2, em parcelas de 400m². Estas parcelas foram formadas por 25 pontos de infestação equidistantes, estando um localizado no centro da área, cada grupo de quatro às distâncias de 4,2 , 5,9 , 8,4 e 11,9m e oito a 9,4m do ponto central. Diariamente, as gaiolas eram transferidas das folhas onde estavam, para uma outra ao lado, na mesma planta, e novas fêmeas de *D. saccharalis* eram confinadas, deixando-se as posturas expostas ao parasitismo. As plantas onde se encontravam as posturas eram identificadas pelo tombamento da touceira vizinha, evitando-se assim a utilização de materiais, como fitas plásticas ou tintas, que poderiam interferir no parasitismo por *T. galloi*, como discutido por Micheletti (1987). As fêmeas utilizadas nos ensaios apresentavam 2, 3 e 4 dias de idade, para obtenção de posturas de tamanhos variáveis dentre os pontos de infestação.

Foi realizada apenas uma liberação do parasitóide 24h após a instalação do ensaio, ou seja, após a primeira infestação com ovos da broca. As posturas ficaram expostas ao parasitismo por 24h, após a transferência das gaiolas, sendo as mesmas retiradas todos os dias, cortando-se as folhas em que elas se encontravam, acondicionando-as em sacos plásticos individualizados e identificadas. As folhas eram levadas ao laboratório e mantidas em câmara climatizada à 25±1°C, 80±10% de U.R. e

fotofase de 14h, durante 5 dias, período este suficiente para manifestação do parasitismo (escurecimento de ovos). As posturas coletadas que apresentaram mais de 90% dos ovos predados foram desprezadas.

As técnicas de liberação de *T. galloi* testadas no campo foram as seguintes (Figura 2):

1. liberação de adultos por dispersão (copinho plástico contendo adultos emergidos com 12h de idade) (Figura 2A);
2. liberação de adultos (copinho plástico contendo adultos emergidos com 12h de idade), em ponto fixo e central dentro da parcela (Figura 2B);
3. liberação de pupas, em cartões, não protegidas, cujos ovos tinham sido parasitados no mesmo dia (pupas do mesmo dia) (Figura 2C), em ponto fixo e central;
4. liberação de pupas, em cartões, protegidas (pupas do mesmo dia) (Figura 2D), em ponto fixo e central;
5. liberação de pupas, em cartões, protegidas, cujos ovos tinham sido parasitados em 3 dias consecutivos (pupas de idades diferentes) (Figura 2F), em ponto fixo e central.

A técnica de liberação de adultos consistiu no acondicionamento de cartolinas contendo ovos colados e parasitados (item 3.1.1), de mesma idade, em copos plásticos de 6,5x7,0cm, tampados com filme plástico de PVC (preso por elástico). Os adultos recém-emergidos, no interior dos recipientes, foram levados ao campo para liberação, 12h após a emergência. Antes da emergência dos parasitóides, gotículas de mel foram espalhadas pelo interior do copo plástico, com o auxílio de um estilete, para a alimentação dos adultos.

O copo plástico contendo os adultos do parasitóide foi preso entre as folhas do terço superior da planta e a tampa plástica foi perfurada para a saída dos parasitóides, no caso da técnica de liberação em ponto fixo (Figura 2B), ou os adultos

foram distribuídos manualmente, através de caminhamento em “X” pela área, onde os mesmos eram forçados a sair, através de leves batidas no fundo recipiente, no caso da outra técnica (Figura 2A).

Tabela 3 - Local, época, linhagem do parasitóide e dados da cultura da cana-de-açúcar utilizada dos diferentes experimentos de parasitismo de ovos de *D. saccharalis* por *T. galloi*.

Ensaio	Local	Instalação ¹	Linhagem do parasitóide	Dados da cultura (Variedade, idade, estágio fenológico)
1.	Usina Iracema, Piracicaba, SP	17/06/98	“Copersucar”	‘SP80-1816’ 7 meses de idade cana-planta
2.	Usina Iracema, Piracicaba, SP	26/11/98	“Copersucar”	‘SP79-2233’ 8 meses de idade cana-soca (1º corte)
3.	Usina Iracema, Piracicaba, SP	16/12/98	“Sidrolândia”	‘SP79-2233’ 9 meses de idade cana-soca (1º corte)

¹ Data da primeira infestação artificial com ovos de *D. saccharalis*.

A técnica de liberação de pupas em cartões expostos (não protegidas) consistiu de uma tira de cartolina azul, contendo ovos de *A. kuehniella* parasitados, colados com goma arábica diluída (50%), presa por entre as folhas do terço superior da planta sem proteção alguma (Figura 2C). No caso da técnica com ovos protegidos, foi adotado o mesmo procedimento, com a diferença de que os cartões foram acondicionados em uma caixa de cartolina verde, de 10x10x0,8cm, ficando a parte externa protegida por uma camada de parafina, com pequenas perfurações (0,7mm de diâmetro) em um dos lados, realizadas de dentro para fora, para a saída dos parasitóides,

protegendo-se, assim, as pupas contra a ação de predadores e da chuva (Figuras 2D e 2E).

No caso da liberação de pupas de idades diferentes, pedaços de cartolina contendo ovos de *A. kuehniella*, parasitados em 3 dias diferentes, foram colocados dentro da caixa de cartolina parafinada descrita anteriormente, na proporção de 33,33% de pupas de 11 dias, 33,33% de pupas de 10 dias e 33,33% de pupas de 9 dias de idade (Figura 2F). A emergência de *T. galloi* ocorre a partir do 11º dia, à 25°C (Parra & Sales Jr., 1994).

Alguns procedimentos foram tomados, ainda no laboratório, antes da liberação dos parasitóides. Para se estimar o número de adultos que seriam liberados em campo, na forma de pupas ou adultos, os cartões contendo ovos parasitados por *T. galloi* foram submetidos à avaliação do número médio de ovos parasitados por cm², através da contagem, ao acaso, de 10 pontos, com o auxílio de uma folha plástica transparente e quadriculada (Lopes, 1988), como descrito em 3.1. Descontou-se a porcentagem de viabilidade do parasitóide em ovos de *A. kuehniella*, que foi determinada ser de 80% (Lopes et al., 1987). Desta forma, foi possível determinar qual a dimensão do cartão contendo pupas de *T. galloi* que seria utilizado na liberação. Entretanto, para se confirmar a real viabilidade e data de emergência dos parasitóides, um pequeno pedaço do cartão, utilizado para cada técnica de liberação, foi retirado, com o auxílio de uma tesoura, colocado em um tubo de vidro tampado e deixado exposto às condições ambientais (fora do laboratório, em local sombreado).

A contagem do número de ovos (total e parasitados) foi realizada sob microscópio estereoscópico. Desta forma, foi possível estimar a porcentagem de parasitismo e o tempo de permanência do parasitóide no campo, para as diferentes técnicas testadas.

Figura 2 - Técnicas de liberação de *T. galloi* em campo utilizadas nas parcelas experimentais. A – esquema de liberação dos parasitóides pela técnica de dispersão de adultos; B – copinho plástico com parasitóides, preso às folhas de cana-de-açúcar; C – cartão contendo pupas do parasitóide, preso às folhas das plantas; D – caixa de papelão utilizada para proteger os cartões contendo pupas; E – cartões contendo pupas de 3 idades diferentes, dentro da caixa e; F – orifícios de saída das caixas.

Além das posturas nas folhas, as fêmeas de *D. saccharalis* colocam ovos nas gaiolas. Para se avaliar a quantidade real de ovos colocados no campo pelas mariposas, para calcular a relação parasitóide:ovo, após o término do ensaio, foram recolhidas 25 gaiolas, ao acaso, que foram levadas ao laboratório para contagem dos ovos postos na tela e armação das mesmas. A soma destes valores foi adicionada ao número total de ovos obtidos em cada parcela experimental.

A quantidade de parasitóides a ser liberada foi calculada a partir dos resultados obtidos em 4.1, ou seja, considerando-se cerca de 100 ovos por gaiola. Desta forma, tentou-se manter a relação ideal estabelecida por Lopes (1988), ou seja, 1,6 parasitóides por ovo da praga.

Foi mantida uma área testemunha para todos os ensaios, adotando-se o mesmo procedimento de infestação artificial de ovos, diariamente, para se avaliar o parasitismo natural que poderia ocorrer na área. As testemunhas se localizavam, no mínimo, a 70m das áreas experimentais.

Os cartões contendo pupas, utilizados nas liberações, foram observados diariamente, para avaliação da perda de ovos de *A. kuehniella* (parasitados), pela predação ou pela ação das chuvas. As avaliações foram feitas através de uma observação visual da porcentagem de áreas onde não existiam mais ovos parasitados, que se estenderam até que não fossem mais encontrados parasitóides sobre o cartão. Antes do término dos ensaios, os cartões foram levados ao laboratório para uma análise acurada, sob microscópio estereoscópico, das condições que se encontravam.

A distribuição espacial de *T. galloi*, dentro da área de 400m², foi analisada com base nas porcentagens médias de parasitismo obtidas às diferentes distâncias do ponto central, nas técnicas de liberação estudadas.

A partir dos resultados obtidos em todos os experimentos, sem diferenciar a técnica de liberação utilizada, estabeleceu-se uma relação entre a quantidade de ovos de *D. saccharalis* por ponto de infestação (touceira) e a porcentagem de parasitismo por *T. galloi*.

3.4 Análise estatística

O delineamento estatístico utilizado nos testes de infestação de ovos de *D. saccharalis* foi inteiramente casualizado, sendo cada nível de infestação considerado um tratamento e cada ponto de infestação (touceira) uma repetição. O delineamento estatístico adotado para os testes de técnicas de liberação foi em blocos casualizados, e cada técnica de liberação considerada um tratamento e cada distância do ponto central um bloco, totalizando 5 tratamentos e 6 repetições. Cada repetição foi calculada pela média das porcentagens de parasitismo obtidas nos quatro pontos de observação que apresentavam a mesma distância do ponto central, sendo que a distância de 9,4m, com oito pontos, foi dividida em 2 blocos distintos. Para análise do tempo de permanência do parasitóide em campo, cada data foi considerada um tratamento e cada distância do ponto central um bloco, totalizando 7 tratamentos e 6 repetições.

Todos os dados foram submetidos ao teste de homocedasticidade, para definir a melhor forma de análise, sendo transformados, se necessário, ou analisados através de testes não paramétricos. Estes dados foram submetidos à análise de variância, pelo teste F ou teste de Friedman, e, as médias comparadas pelo teste de Tukey ou Student-Newman-Keuls ($P \leq 0,05$), respectivamente, para análises paramétricas ou não paramétricas.

As seguintes variáveis foram submetidas a uma análise de regressão linear ou polinomial, para determinação da equação de regressão ($y = a + b.x$) e do coeficiente de determinação (R^2): dados obtidos de número médio estimado de ovos de *D. saccharalis* por hectare e de porcentagem de infestação de colmos (1º ensaio do item 3.1); dados de número médio de ovos por ponto de infestação e de porcentagem média de predação (ensaio de 21/04/97 e 3º ensaio do item 3.1); dados de distância do ponto central e de porcentagem média de parasitismo (3 ensaios do item 3.2) e, dados de número médio de ovos por ponto de infestação e de porcentagem média de parasitismo (3 ensaios do item 3.2).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Determinação do nível de infestação de ovos de *Diatraea saccharalis* (Fabr., 1794), necessário para causar danos à cana-de-açúcar

No primeiro ensaio, em setembro de 1996, foram conseguidos 4 diferentes níveis de infestação (Tabela 4), formados por pontos com grande quantidade de ovos (média de 276 ± 200 ovos/ponto). Entretanto, no nível máximo, de 171.550 ovos de *D. saccharalis*/ha, a porcentagem de infestação de entrenós foi pouco maior que 1% (Tabela 4 e Figuras 3A), valor muito baixo, aquém do nível teórico de controle da broca da cana (Gallo et al., 1988). Não existiram diferenças significativas entre as porcentagens de infestações obtidas, sendo a predação alta neste período, na faixa de 50%, nos 4 níveis de infestação analisados (Tabela 4).

A análise de regressão linear dos dados obtidos neste ensaio mostrou que os mesmos se ajustaram a uma reta ($P \leq 0,01$ e $R^2 = 0,961$), indicando correlação positiva entre o número de ovos por hectare e a porcentagem de infestação (Figura 4). Através da equação da reta obtida, pôde-se observar que para se conseguir uma infestação de 5%, que é o valor teórico adotado como nível de controle da broca (Gallo et al., 1988), seria necessário infestar uma área de 1 ha com cerca de 380.000 ovos, desconsiderando-se a predação.

Em certos períodos, a predação chegou a ser de 100%, fator que causou a perda do segundo ensaio, realizado em maio de 1997, pois todos os pontos de infestação, com altas densidades de ovos, foram perdidos.

Figura 3 - Porcentagem de infestação de entrenós a partir de diferentes níveis de infestação de ovos de *D. saccharalis* em cana-de-açúcar, de 7 meses de idade, nos experimentos de 1996, variedade SP80-1816 (cana-soca), em Araras, SP (A), 1997, variedade RB785148 (cana-soca) (B), e 1998, variedade RB835089 (cana-planta), em Piracicaba, SP (C), em condições de campo.

No terceiro ensaio, em junho de 1997, conseguiram-se apenas 2 níveis de infestação de ovos (formados por pontos de 242 ± 151 ovos, em média), porém, superiores àqueles obtidos no primeiro. A intensidade de infestação chegou a 2,2% quando foram colocados 510.750 ovos/ha (Tabela 4 e Figura 3B), existindo diferença estatística entre os 2 valores obtidos. Neste caso, 360.652 ovos por unidade de área, levaram a uma porcentagem de infestação equivalente àquela obtida com 118.900 ovos no primeiro ensaio (Figura 3B), e a predação, neste período, foi inferior à metade (cerca de 20%) da registrada no experimento anterior (Tabela 4). Isto mostra que outros fatores devem estar envolvidos, visto que a predação de ovos não foi a responsável por esta variação.

Figura 4 - Correlação entre número médio de ovos de *D. saccharalis* por hectare e a porcentagem média de infestação de cana-de-açúcar da variedade SP80-1816 (cana-soca), de 7 meses de idade, no ensaio de setembro de 1996. Araras, SP.

Os fatores climáticos influenciaram a infestação da broca da cana em cana-de-açúcar. A temperatura média, no primeiro ensaio, foi superior àquela registrada no terceiro (Figuras 7A, 7B, 8A e 8B), e desde que as temperaturas mais altas favorecem a viabilidade da fase larval (Mélo, 1984; Botelho, 1985), este pode ser um dos motivos da diferença observada entre os resultados dos 2 ensaios (Tabela 4).

A umidade relativa do ar esteve abaixo de 80% durante quase todo o desenvolvimento embrionário, no primeiro ensaio (Figura 7A), o que pode ter afetado tal desenvolvimento, desde que os ovos são muito sensíveis ao ressecamento (Parra et al., 1997). Além disso, ocorreram fortes chuvas durante o período de penetração das lagartas no colmo, que ocorre do 4º ao 5º dia após a primeira ecdise (Bergamin, 1948), prejudicando esta fase do inseto que é muito sensível aos efeitos adversos do clima (Hayward, 1943; Botelho, 1985) (Figura 7A). Mendonça Filho (1978), verificou, em canaviais do Estado do Alagoas, que a precipitação pluviométrica afetou as infestações em cana-soca, concordando com a observação da presente pesquisa. Em contrapartida, no segundo ensaio a umidade relativa do ar foi sempre muito alta e poucas chuvas ocorreram (Figura 7B), o que provavelmente favoreceu a eclosão, garantindo índices de infestação superiores aos do ensaio anterior (Tabela 4 e Figura 3A).

Além do clima, outros fatores podem ter influenciado as infestações observadas, como a variedade da cana e a predação de lagartas, no período em as mesmas estavam fora do colmo.

No quarto ensaio, instalado no final de abril de 1998, uma quantidade de ovos inferior àquela obtida no menor nível do ensaio anterior (280.800 ovos), e composta por cerca de 60% dos pontos de infestação com menos de 50 ovos (média de 31 ± 37 ovos/ponto), levou a uma intensidade de 5%, próximo ao nível de controle teórico estabelecido para a broca da cana (Gallo et al., 1988). Apesar da diferença numérica de 2,26%, não houve diferença estatística entre as porcentagens de infestação obtidas (Tabela 4). É interessante salientar que neste caso, a predação foi elevada, cerca de, em média, 50% (Tabela 4), e que as condições climáticas não foram favoráveis ao desenvolvimento das lagartas (Mélo, 1984; Botelho, 1985) (Figuras 7C e 8C). Além dos

fatores discutidos, convém lembrar que a cultura era formada por cana-planta, mais atacada pela broca da cana.

Tabela 4 - Porcentagem média de predação de ovos de *D. saccharalis* e porcentagem média de infestação de entrenós, a partir de diferentes níveis de infestação artificial em cana-de-açúcar, em diferentes experimentos, em condições de campo. Piracicaba, SP.

Número de ovos por hectare	% de predação	Número real de ovos por hectare ¹	% de infestação de entrenós ²
1996			
57.367	45,0 a ³	25.815	0,42 a ³
86.425	46,4 a	44.595	0,51 a
118.900	48,6 a	67.060	0,88 a
171.550	50,1 a	85.603	1,18 a
Cana-soca, variedade SP80-1816, 7 meses de idade			
1997			
360.652	18,5 a	293.931	0,89 a
510.705	25,1 a	382.314	2,24 b
Cana-soca, variedade RB785148, 7 meses de idade			
1998			
158.827	58,4 a	66.072	2,64 a
280.800	48,9 a	143.489	4,90 a
Cana-planta, variedade RB835089, 7 meses de idade			

¹ Valores já descontada a porcentagem de predação;

² Valores já descontada a porcentagem de infestação natural, pelo teste de Abbot;

³ Médias seguidas de mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$).

O fato do quarto ensaio ter apresentado uma infestação de entrenós superior à dos outros experimentos, a partir de um nível de infestação de ovos inferior aos demais (Tabela 4 e Figura 3C), poderia estar relacionado com o período em que a cana permaneceu no campo até a colheita, que foi suficiente para que duas gerações da broca se desenvolvessem. Entretanto, abrindo-se os colmos, na época da colheita, pôde-se observar que as galerias de perfuração da broca presentes eram, na maioria (85%), velhas, indicando que se houve sobreposição de gerações, a segunda não causou muitos danos à cultura. Este fato pode indicar que a atividade das lagartas foi muito lenta e provavelmente elas entraram em diapausa, concordando com Walder (1976), que observou que uma parte das lagartas de última geração (abril-maio) permaneceram dormentes, em canaviais do Estado de São Paulo, fato confirmado por Parra et al. (1988), a partir de estudos do metabolismo de lagartas coletadas em campo.

Em geral a predação de ovos dificultou a instalação de ensaios de infestações artificiais. Pôde-se constatar no campo que as posturas com muitos ovos eram predadas mais rapidamente e mais intensamente do que as posturas menores. No experimento instalado em 21/04/97 (item 3.1), verificou-se que a porcentagem de predação, por 24h, foi maior em pontos onde existia uma grande concentração de ovos. A análise de regressão linear para estes dados obtidos foi significativa e os mesmos se ajustaram à reta ($P=0,0557$ e $R^2=0,892$) (Figura 5).

Para se confirmar esta relação observada anteriormente, os dados de predação, após uma semana da postura, obtidos no experimento de infestação de junho de 1997 foram analisados, e pôde-se verificar a mesma tendência. A análise de regressão polinomial mostrou que os dados se ajustaram a uma equação quadrática ($P<0,05$ e $R^2=0,822$) (Figura 6).

No ensaio de 1998, a quantidade de ovos por ponto de infestação foi muito menor do que as registradas nos ensaios anteriores, o que levou a uma tendência de decréscimo na porcentagem de predação. A análise de regressão polinomial não foi significativa e mostrou que os dados não se ajustaram a uma reta ou curva de regressão ($P=0,1190$ e $R^2=0,564$). Um outro fator que influenciou esta variação pode estar

relacionado ao estágio fenológico da cana, pois, neste caso, diferentemente dos primeiros ensaios, tratava-se de cana-planta. Informações sobre este aspecto do controle natural de *D. saccharalis* são escassas na literatura e, desta forma, torna-se difícil a comparação dos resultados obtidos para cana-soca (1996 e 1997) e cana-planta (1998).

Ficou claro, com os resultados obtidos, que a porcentagem de predação é dependente da quantidade de ovos existente no ponto de infestação. Esta resposta foi linear e positiva, analisando-se a predação 24h após a postura (Figura 5), e quadrática e positiva, em predação permitida por uma semana, neste último caso crescente até 300 ovos por ponto, tornando-se constante a partir daí (Figura 6).

Mariposas de *D. saccharalis* não colocam mais que 50 ovos por ponto de infestação, em condições naturais, como observado por vários autores (Caminha Filho, 1935; Hayward, 1943; Bergamin, 1948; Guagliumi, 1976). Isto indica que experimentos com infestações artificiais de ovos de *D. saccharalis*, que geralmente utilizam fêmeas com 48h de idade, não expressam a realidade, pois, neste caso, as posturas são muito grandes e bastante predadas. Tais metodologias foram utilizadas por Micheletti (1987) e Lopes (1988), dentre outros, o que pode ter levado a variações nos resultados obtidos.

Ficou evidente, na presente pesquisa, que posturas maiores facilitam ou aumentam a predação em cana-soca. Lopes & Parra (1991) observaram que esta alta concentração de ovos, e conseqüentemente, de cairomônios, também afetam a ação de parasitóides, no caso, *Trichogramma galloi* Zucchi, 1988. De um modo geral, em infestações artificiais, estes aspectos não são levados em consideração, muitas vezes, pela impossibilidade física de aumentar o número de pontos, o que tornaria o trabalho inviável.

Figura 5 - Correlação entre número médio de ovos de *D. saccharalis* por ponto e porcentagem de predação, após 24h da postura (21/04/97), em cana-soca variedade RB785148, com 10 meses de idade. Piracicaba, SP.

Figura 6 - Correlação entre número médio de ovos de *D. saccharalis* por ponto e porcentagem de predação, após uma semana da postura (junho/97), em cana-soca variedade RB785148, 7 meses de idade. Piracicaba, SP.

Para experimentos com *D. saccharalis* que utilizem infestações artificiais, torna-se necessário o desenvolvimento de técnicas que correspondam à real distribuição de ovos na área, que justamente é formada por pontos com pequenas concentrações de ovos, como citado anteriormente. Isto é possível com a utilização de fêmeas mais velhas e de um grande número de pontos de infestação, dentro da área experimental, utilizando-se gaiolas simples, confeccionadas no próprio local (Figura 1B).

Figura 7 - Temperatura média (°C), umidade relativa do ar (%) e precipitação pluviométrica (mm) durante a fase de ovo e uma semana após a eclosão das lagartas nos experimentos, respectivamente, de junho/1996 (A), junho/1997 (B) e abril/1998 (C). Piracicaba, SP. A mudança de tonalidade nas barras indica o momento da eclosão das lagartas.

4.2 Avaliação da eficiência de diversas técnicas de liberação de *T. galloi*, para controle de *D. saccharalis*, em cana-de-açúcar

4.2.1 Parasitismo e tempo de atuação (permanência) do parasitóide

No experimento de junho de 1998 (1º ensaio), testando-se as diferentes técnicas de liberação do parasitóide *T. galloi*, para controle de infestações artificiais de *D. saccharalis*, pôde-se observar que existiram diferenças significativas entre elas (Tabela 5). A quantidade média de ovos da mariposa, obtida em cada parcela experimental, foi de 22.592 ovos/400m², ou seja, o equivalente a 564.800 ovos/ha, durante toda a semana, e a relação parasitóide:ovo foi, em média, de 1,55:1. O número médio de ovos, na infestação artificial, variou de 522.225 a 588.975 (Tabela 6), ocorrendo significativas variações climáticas no período de estudo (Figura 9A).

No primeiro dia após a liberação de *T. galloi*, a porcentagem média de parasitismo, observada para as diferentes técnicas, foi baixa, sendo significativamente maior para a dispersão de adultos e pupas protegidas, de 1 dia de idade (Tabela 5). Seguindo a mesma tendência, o parasitismo foi quase nulo no segundo dia, para todas as técnicas de liberação (Tabela 5 e Figura 10). Este baixo parasitismo observado foi diferente dos resultados obtidos por Lopes & Parra (1991) e Cônsoli & Parra (1996), em laboratório, que verificaram que cerca de 80% do parasitismo concentrou-se nos 3 primeiros dias de vida do parasitóide *T. galloi* e que o parasitismo foi maior no primeiro dia. Também diferiu de Sales Jr. (1992), que observou, em laboratório, cerca de 90% do parasitismo concentrado nos 4 primeiros dias, à 22°C, e nos 2 primeiros dias, à 32°C.

Este baixo parasitismo pode ser explicado pela incidência de chuva (17,8mm) algumas horas após a liberação dos parasitóides, e pela queda da temperatura, no segundo dia ($\pm 17^{\circ}\text{C}$), o que provavelmente reduziu a atividade dos mesmos (Figura 9A). Entretanto, a partir do terceiro dia da instalação do ensaio, as temperaturas máximas registradas foram crescentes, propiciando uma maior atividade dos adultos de *T. galloi*.

Tabela 5 - Porcentagem média de parasitismo de ovos de *D. saccharalis*, por *T. galloi* (linh. “Copersucar”), em sete dias consecutivos após liberação do parasitóide realizada a partir de diferentes técnicas, em junho de 1998 (1º ensaio). Variedade SP80-1816 (cana-planta) com 7 meses de idade. Piracicaba, SP.

TRATAMENTOS		% MÉDIA DE OVOS PARASITADOS							
		19/6	20/6	21/6	22/6	23/6	24/6	26/6	
1	Adultos em copos plásticos espalhados na área	8,62 a ²	1,21 a ¹	12,03 b ¹	6,00 b ¹	9,41 b ¹	3,25 bc ¹	0,00 c ¹	
2	Adultos em copos plásticos em ponto fixo e central na área	2,54 b	0,00 a	18,96 b	9,32 b	0,92 c	4,86 bc	0,00 c	
3	Pupas (1 dia idade) em cartão desprotegido em ponto fixo e central na área	0,00 b	0,29 a	4,72 b	2,03 b	4,87 bc	1,98 c	0,24 c	
4	Pupas (1 dia idade) em cartão protegido em ponto fixo e central na área	3,70 a	3,86 a	30,57 ab	4,51 b	11,57 b	11,02 b	4,53 b	
5	Pupas (3 dias idade) em cartão protegido em ponto fixo e central na área	0,00 b	0,00 a	48,33 a	28,91 a	49,94 a	29,83 a	11,85 a	
Transformação		-	log (x+1)	-	raiz (x+10)	raiz (x+10)	raiz (x+1)	log (x+1)	

1,2 Médias seguidas pela mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey ¹ ou Student-Newman-Keuls ² (P ≤ 0,05).

Tabela 6 - Número total de ovos de *D. saccharalis* e relação parasitóide:ovo obtidos nas parcelas experimentais das diferentes técnicas testadas, em junho de 1998 (1º ensaio). Variedade SP80-1816 (cana-planta) com 7 meses de idade. Piracicaba, SP.

Técnica de liberação	Número de ovos obtido por		Relação parasitóide:ovo ²
	400m ²	Hectare	
Adultos – dispersão	23.559 ¹	588.975	1,49
Adultos – ponto fixo	23.475	586.875	1,49
Pupas – desprotegidas	21.695	542.375	1,61
Pupas – protegidas, 1 idade	20.889	522.225	1,67
Pupas – protegidas, 3 idades	23.344	583.600	1,50

¹ Valores acrescidos do número médio de ovos colocados nas paredes das gaiolas.

² Liberação de 35.000 parasitóides, na forma de pupas ou adultos, em cada parcela (400m²) (emergência de $\pm 90\%$).

O efeito da temperatura no parasitismo verificado neste ensaio confirma os resultados de Biever (1972) e Shui-chen & Chien-chung⁶, citados por Sales Jr. (1992), sendo que o primeiro observou aumento na capacidade de “busca” de fêmeas de várias espécies do gênero *Trichogramma*, à medida que se aumentava a temperatura, mantida constante, de 20 a 35°C, e segundo os outros autores, abaixo desta temperatura mínima, ficava reduzida a atividade das fêmeas de *Trichogramma chilonis* Ishii.

A ocorrência de chuva, logo após a liberação dos parasitóides, e a predação eliminaram cerca de 80% das pupas que estavam aderidas ao cartão desprotegido, refletindo na diminuição da eficiência, concordando com Smith (1994).

⁶ SHUI-CHEN, C. & CHIEN-CHUNG, C. Biological control of the Asian corn borer in Taiwan. **Plant Protection Bulletin**, 28: 23-30, 1986.

A **B** **C**

Figura 9 - Temperaturas mínima, máxima e média (°C), precipitação pluviométrica (mm) e umidade relativa do ar (%) no período em que foram conduzidos os experimentos de liberação de *T. galloi*, nos meses de junho (A), novembro (B) e dezembro (C) de 1998, em Piracicaba, SP. A mudança de tonalidade nas barras dos gráficos de umidade indicam datas onde a mesma esteve abaixo de 80%.

Portanto, aos três dias da liberação, o parasitismo aumentou em todas as técnicas (Figura 10), sendo significativamente maior para aquela de pupas protegidas (Tabela 5). A partir daí, o parasitismo foi diminuindo em todas as parcelas, com exceção daquela em que testou liberação de pupas protegidas, com 3 idades diferentes, que devido à sua característica de liberar adultos gradativamente no ambiente, garantiu uma constância no parasitismo até o último dia (Figura 10). De forma análoga, e em menor escala, a técnica de pupas protegidas, de uma idade, também permitiu que os adultos permanecessem mais tempo no campo. De um modo geral, este decréscimo no parasitismo, a partir do terceiro dia coincide com os resultados obtidos por Lopes & Parra (1991) e Cônsoli & Parra (1996).

* % de parasitismo média considerando o ponto central.

Figura 10 - Porcentagem média de parasitismo de ovos de *D. saccharalis*, por *T. galloi* (linh. “Copersucar”), obtida a partir de diferentes técnicas de liberação, durante 8 dias, em junho de 1998 (1º ensaio). Variedade SP80-1816 (cana-planta) com 7 meses de idade. Piracicaba, SP.

As baixas temperaturas que ocorreram até o terceiro dia após a liberação (Figura 9A) atrasaram a emergência dos parasitóides (que estava programada para este dia), para a técnica de pupas de 3 idades, que devido a esta queda térmica, só ocorreu no final do dia seguinte (21/06), ou seja, no quarto dia. Este fato garantiu aos últimos parasitóides recém-emergidos um período mais favorável, com dias mais quentes, sem chuvas e com alta umidade relativa do ar (Figura 9A), fatores que contribuíram para que esta técnica diferisse das demais, até o oitavo dia após a liberação (Tabela 5).

Independente da técnica utilizada e da eficiência que proporcionaram no controle de ovos de *D. saccharalis*, *T. galloi* permaneceu no campo, após sua liberação, durante 6 dias. As técnicas que protegiam as pupas garantiram um maior tempo de atuação dos parasitóides em campo, atingindo 8 dias após a liberação, com parasitismo ao redor de 10% (Figura 10).

Em novembro, o segundo ensaio foi instalado e diferentes resultados foram obtidos, não existindo, desta vez, diferenças estatísticas significativas entre as porcentagens médias de parasitismo obtidas através das técnicas testadas (Tabela 7). A quantidade média de ovos obtida foi de 10.305 ovos/400m², valor equivalente a 257.625 ovos/ha. A relação parasitóide:ovo foi, em média, de 2,55:1, superior ao primeiro ensaio, com um total de ovos variável de 182.275 a 338.700 na infestação realizada (Tabela 8), com elevadas temperaturas no período (Figura 9B).

Pôde-se observar que, numericamente, o parasitismo foi crescente até o terceiro dia, diminuindo lentamente a partir daí para todas as técnicas (Figura 11). A obtenção de ovos da mariposa neste período foi dificultada pela baixa umidade relativa do ar e altas temperaturas que ocorreram (Figura 9B), causando perdas de pontos de infestação nas parcelas e comprometendo as avaliações do quinto (poucos pontos) e sexto (nenhum ponto) dias. Parra et al. (1997) constataram uma grande sensibilidade dos ovos de *D. saccharalis* ao ressecamento, o que explica o fato comentado anteriormente.

Tabela 7 - Porcentagem média de parasitismo de ovos de *D. saccharalis*, por *T. galloi* (linh. “Copersucar”), em sete dias consecutivos após liberação do parasitoide realizada a partir de diferentes técnicas, em novembro de 1998 (2º ensaio). Variedade SP79-2233 (cana-soca) com 8 meses de idade. Piracicaba, SP.

TRATAMENTOS		% MÉDIA DE OVOS PARASITADOS						
		28/11	29/11	30/11	01/12	02/12	03/12 ³	04/12
1	Adultos em copos plásticos espalhados na área	15,85 a ²	26,79 a ¹	36,33 a ¹	27,57 a ¹	38,64 a ¹	-	0,00 a ²
2	Adultos em copos plásticos em ponto fixo e central na área	21,63 a	17,44 a	27,48 a	20,09 a	37,52 a	-	0,00 a
3	Pupas (1 dia idade) em cartão desprotegido em ponto fixo e central na área	18,05 a	33,16 a	43,92 a	43,44 a	32,66 a	-	12,50 a
4	Pupas (1 dia idade) em cartão protegido em ponto fixo e central na área	12,00 a	24,32 a	48,15 a	31,18 a	11,51 a	-	1,33 a
5	Pupas (3 dias idade) em cartão protegido em ponto fixo e central na área	13,61 a	19,18 a	27,78 a	18,18 a	33,39 a	-	0,13 a

^{1,2} Médias seguidas pela mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey ¹ ou Student-Newman-Keuls ² (P ≤ 0,05);

³ Data de avaliação perdida por falta de ovos de *D. saccharalis*.

A emergência dos parasitóides na técnica de pupas protegidas, com 3 idades, concentrou-se nos 2 primeiros dias, devido às altas temperaturas registradas, sendo que o primeiro lote começou emergir no momento da liberação (27/11), o segundo pela manhã de 28/11 e o terceiro 12 horas após o anterior. Este fator contribuiu para que não houvesse diferença no tempo de atuação do parasitóide entre esta técnica e as demais, diferente do que havia ocorrido no experimento de junho (1º ensaio). A emergência de *T. galloi* no cartão com pupas desprotegidas ocorreu durante o primeiro dia após a liberação, não existindo, desta forma, o efeito da predação e das chuvas (Figura 9B), as quais foram escassas, se comparadas com o experimento anterior (Figura 9A).

* % de parasitismo média considerando o ponto central.

Figura 11 - Porcentagem média de parasitismo de ovos de *D. saccharalis*, por *T. galloi* (linh. “Copersucar”), obtida a partir de diferentes técnicas de liberação, durante 7 dias, em novembro de 1998 (2º ensaio). Variedade SP79-2233 (cana-soca) com 8 meses de idade. Piracicaba, SP.

As altas temperaturas registradas no período afetaram de forma semelhante as diferentes técnicas de liberação. Entretanto, a despeito de problemas existentes na condução do ensaio, ficou patente a longa permanência do parasitóide em campo, em atividade.

Quando o clima foi favorável ao parasitismo de ovos por *T. galloi*, a técnica de liberação utilizada não interferiu na eficiência de controle, tempo de atuação e distribuição do parasitóide, como pode ser visto no experimento de novembro (Figura 11). Isto indica que o clima é o fator mais importante para o sucesso de uma técnica de liberação, principalmente a temperatura e a precipitação pluviométrica, concordando com Smith (1996), que afirmou ser os parâmetros climáticos os fatores que mais afetam a sobrevivência, a atividade e a fecundidade de *Trichogramma* spp. no campo.

Tabela 8 - Número total de ovos de *D. saccharalis* e relação parasitóide:ovo obtidos nas parcelas experimentais das diferentes técnicas testadas, em novembro de 1998 (2º ensaio). Variedade SP79-2233 (cana-soca) com 8 meses de idade. Piracicaba, SP.

Técnica de liberação	Número de ovos obtido por		Relação parasitóide:ovo ²
	400m ²	Hectare	
Adultos – dispersão	10.256 ¹	256.400	2,44
Adultos – ponto fixo	7.291	182.275	3,43
Pupas – desprotegidas	8.390	209.750	2,98
Pupas – protegidas, 1 idade	13.548	338.700	1,85
Pupas – protegidas, 3 idades	12.040	301.000	2,08

¹ Valores acrescidos do número médio de ovos colocados nas paredes das gaiolas.

² Liberação de 25.000 parasitóides, na forma de pupas ou adultos, em cada parcela (400m²) (emergência de $\pm 82\%$).

Em dezembro, foi instalado o último ensaio (3º ensaio), ocorrendo diferenças significativas na porcentagem de parasitismo entre as técnicas de liberação (Tabela 9). A quantidade média de ovos da mariposa obtida foi de 18.833 ovos/400m², o equivalente a 473.320 ovos/ha, e a relação parasitóide:ovo foi, em média, de 1,67:1. O número de ovos, nas infestações artificiais, nos diferentes tratamentos variou de 397.325 a 564.500 (Tabela 10), havendo uma grande variação climática no período de estudo, à semelhança do primeiro ensaio (Figura 9C).

A porcentagem média de parasitismo até o terceiro dia após a liberação dos parasitóides foi crescente, não havendo diferenças significativas entre as técnicas nos dois primeiros dias (Tabela 9). No terceiro dia, o parasitismo obtido pela técnica de liberação de pupas protegidas, de uma idade, foi o maior registrado no ensaio e diferiu significativamente dos demais. No quinto dia, as maiores porcentagens de parasitismo foram obtidas pelas técnicas de pupas protegidas, que também diferiram das demais formas de liberação (Tabela 9 e Figura 12).

A emergência dos parasitóides na técnica de 3 idades diferentes atrasou, observando-se adultos no dia da liberação, no dia seguinte (18/12) e no início do quarto dia (20/12). Apesar do parasitismo obtido nesta técnica ter sido superior ao dos demais, este atraso na emergência não prolongou o tempo de atuação dos parasitóides, como observado no experimento de junho (1º ensaio) (Figura 10), provavelmente devido às chuvas que ocorreram a partir do quarto dia da liberação dos adultos (Figura 9C).

Após a abertura das caixas de cartolina que protegiam as pupas, nas duas técnicas em que elas foram liberadas, pôde-se observar, na de 3 idades diferentes, que a emergência dos parasitóides, programada para o terceiro dia, ficou ao redor de 50%. Observando-se este cartão sob microscópio estereoscópio, pôde-se constatar a presença de fungos que, provavelmente, foram os causadores da baixa porcentagem de emergência. Esta contaminação, provavelmente, se iniciou no laboratório de criação, pois alguns cartões do mesmo lote daquele utilizado no ensaio já haviam sido perdidos por este motivo, devido à alta umidade da sala de criação.

Tabela 9 - Porcentagem média de parasitismo de ovos de *D. saccharalis*, por *T. galloi* (linh. "Sidrolândia"), em sete dias consecutivos após liberação do parasitóide realizada a partir de diferentes técnicas, em dezembro de 1998 (3° ensaio). Variedade SP79-2233 (cana-soca) com 9 meses de idade. Piracicaba, SP.

TRATAMENTOS		% MÉDIA DE OVOS PARASITADOS							
		18/12	19/12	20/12	21/12	22/12	23/12	24/12	
1	Adultos em copos plásticos espalhados na área	1,14 a ¹	10,20 a ¹	26,40 b ¹	5,57 a ¹	10,36 b ¹	1,73 a ¹	0,12 a ¹	
2	Adultos em copos plásticos em ponto fixo e central na área	11,23 a	23,95 a	19,35 b	19,87 a	12,53 b	3,87 a	1,14 a	
3	Pupas (1 dia idade) em cartão desprotegido em ponto fixo e central na área	12,26 a	22,70 a	19,93 b	9,71 a	3,74 b	1,40 a	0,00 a	
4	Pupas (1 dia idade) em cartão protegido em ponto fixo e central na área	26,21 a	41,81 a	48,02 a	17,73 a	17,66 ab	1,41 a	0,00 a	
5	Pupas (3 dias idade) em cartão protegido em ponto fixo e central na área	30,05 a	37,13 a	18,28 b	17,80 a	32,53 a	4,63 a	0,13 a	
Transformação		log (x+1)	-	-	-	1/raiz (x+1)	1/raiz (x+1)	1/raiz (x+1)	

^{1,2} Médias seguidas pela mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey¹ ou Student-Newman-Keuls² ($P \leq 0,05$);

A umidade relativa do ar esteve abaixo de 80% durante quase todo o experimento. Entretanto, esta condição não afetou a obtenção de ovos, como no ensaio anterior, pois o solo se encontrava muito úmido, consequência de muitas chuvas registradas na semana anterior (precipitação pluviométrica acumulada de 106,1mm), criando um microclima ideal para a oviposição.

Tabela 10 - Número total de ovos de *D. saccharalis* e relação parasitóide:ovo obtidos nas parcelas experimentais das diferentes técnicas testadas, em dezembro de 1998 (3º ensaio). Variedade SP79-2233 (cana-soca) com 9 meses de idade. Piracicaba, SP.

Técnica de liberação	Número de ovos obtido por		Relação parasitóide:ovo ²
	400m ²	Hectare	
Adultos – dispersão	18.022 ¹	450.550	1,78
Adultos – ponto fixo	17.470	436.750	1,83
Pupas – desprotegidas	20.699	517.475	1,55
Pupas – protegidas, 1 idade	15.893	397.325	2,01
Pupas – protegidas, 3 idades	22.580	564.500	1,18

¹ Valores acrescidos do número médio de ovos colocados nas paredes das gaiolas.

² Liberação de 32.000 parasitóides, na forma de pupas ou adultos, em cada parcela (400m²) (emergência de $\pm 88\%$).

Tecendo uma análise geral, o parasitismo foi maior nos meses mais quentes (Tabela 11), resultado semelhante àquele observado por Lopes (1988), que desenvolveu levantamentos em campo e em condições naturais, e concordando com Sales Jr. (1992) e Cônsoli & Parra (1995), que obtiveram maiores índices de parasitismo de ovos da broca da cana, por *T. galloi*, em temperaturas mais elevadas.

* % de parasitismo média considerando o ponto central.

Figura 12 - Porcentagem média de parasitismo de ovos de *D. saccharalis*, por *T. galloi* (linh. “Sidrolândia”), obtida a partir de diferentes técnicas de liberação, durante 7 dias, em dezembro de 1998 (3º ensaio). Variedade SP79-2233 (cana-soca) com 9 meses de idade. Piracicaba, SP.

Além da temperatura, outros parâmetros climáticos influenciaram o parasitismo e o tempo de atuação das fêmeas dos parasitóides. A precipitação pluviométrica, que ocorreu no início do experimento de junho (1º ensaio) e a partir do quarto dia após a liberação em dezembro (3º ensaio) (Figuras 9A e 9C), sem dúvida foi um fator limitante à eficiência das técnicas de liberação (Figuras 10 e 12; Tabelas 5 e 9). Entretanto, a umidade relativa do ar, permanecendo alguns dias abaixo de 80% nos ensaios de novembro e dezembro (Figuras 9B e 9C), não interferiu na porcentagem de parasitismo e nem no tempo de atuação do parasitóide. Este resultado é conflitante com aquele obtido por Sales Jr. (1992), que verificou que *T. galloi*, criado em ovos de *D. saccharalis*, é muito sensível às baixas umidades, sendo a longevidade das fêmeas diminuída por valores inferiores a 80%. Isto mostra que este parâmetro não é tão importante para a eficiência e longevidade de *T. galloi*, em campo, quanto é para *D.*

saccharalis (Parra et al., 1997), concordando com Boldt (1974), que demonstrou que a atividade de locomoção de *Trichogramma evanescens* Westwood e *T. minutum* Riley não é afetada por umidades na faixa de 50 a 80%.

Esta não influência da umidade relativa do ar pode ser explicada pela estágio fenológico das plantas durante o período do ensaio (Tabela 3), pois as mesmas se encontravam completamente fechadas, criando um microclima úmido e favorável ao parasitóide, concordando, neste caso, com as considerações de Sales Jr. (1992).

Aparentemente, a relação parasitóide:ovo não teve influência sobre o parasitismo por *T. galloi*, mesmo existindo diferenças entre os diferentes ensaios (Tabelas 6, 8 e 10). Esta observação concorda com Lopes (1988), pois os valores desta relação ficaram próximos ao limite estabelecido pelo autor, que foi de 1,6 a 3,2.

A porcentagem de parasitismo registrada a partir das diferentes técnicas de liberação, de uma maneira geral, foi muito baixa e inferior àquelas observadas por outros autores em cana-de-açúcar (Micheletti, 1987; Lopes, 1988). O cálculo do número de parasitóides a ser liberado, para se atingir a relação ideal parasitóide-ovo, foi feito estimando-se o número total de ovos colocados durante 7 dias. Entretanto, considerando-se que esta quantidade total de ovos foi oferecida aos poucos, durante toda a semana, às fêmeas de *T. galloi*, a relação parasitóide:ovo no primeiro dia, para o primeiro, segundo e terceiro ensaios, foi de 10,85:1, 15,30:1 e 11,69:1, respectivamente. Por causa desse excesso de fêmeas no ambiente, provavelmente houve uma redução na capacidade de parasitismo das mesmas, como observado por Lopes (1988), para *T. galloi*, e McCravy & Berisford (1998), para *Trichogramma* spp..

Esse fato exposto anteriormente não prejudicou a comparação de técnicas de liberação, pois todas apresentaram relações parasitóide:ovo muito próximas, mas causou uma falsa impressão de ineficiência de *T. galloi* como controlador biológico. Além disso, o parasitismo foi avaliado diariamente, após exposição dos ovos ao parasitismo por 24h, metodologia esta diferente das utilizadas em outros ensaios, que deixavam os ovos expostos por mais tempo, realizando-se menor número de avaliações (Lopes, 1988; Botelho et al., 1995).

Os estudos testando diferentes técnicas de liberação de *T. galloi* em cana-de-açúcar, para o controle de *D. saccharalis*, mostraram que a eficiência no parasitismo em campo varia em função da técnica adotada.

A técnica de dispersão de adultos proporcionou a mesma eficiência que a técnica que liberou parasitóides em ponto fixo e central na área, analisando-se os parâmetros porcentagem de parasitismo, tempo de permanência e distribuição na área. Estes resultados concordam com Smith & Wallace (1990), que compararam as duas técnicas para *T. minutum* em florestas, para controle de *Choristoneura fumiferana* (Clemens), porém, utilizando pupas ao invés de adultos.

A dispersão de adultos, teoricamente, dá a falsa idéia de uma melhor distribuição do parasitismo dentro da área, o que não ocorreu na presente pesquisa. Os parasitóides, nesta técnica, estando mais próximos dos limites da área experimental, facilmente puderam escapar da mesma, certamente não voltando mais ao ponto central, devido à distância que se encontravam, diminuindo assim a relação parasitóide-hospedeiro real e a porcentagem de parasitismo.

Também não existiram diferenças entre as técnicas que se utilizaram de adultos e pupas desprotegidas. Isto indica que o fato de levar adultos recém-emergidos ao ambiente não melhora a eficiência da liberação, e ao contrário, pode ser prejudicial, pois o transporte deste material até o campo deve ser realizado com muito cuidado, devido à sensibilidade dos adultos ao calor excessivo.

Por outro lado, enquanto que a fase do inseto e o método de liberação não influenciaram a eficiência das liberações, a proteção de pupas mostrou ser uma tática importante e que tornou esta técnica superior às demais. Esta tática proporciona à técnica de liberação uma maior segurança quanto às possíveis mudanças de temperatura ou ocorrência de chuvas inesperadas, pois fornece aos parasitóides um abrigo contra estas intempéries, como ficou demonstrado pelos resultados obtidos.

A utilização de pupas protegidas, com diferentes idades, apresentou os mesmos resultados que aqueles obtidos com pupas de uma idade, mostrando que a

primeira técnica não melhora o tempo de atuação do parasitóide em campo, como era de se esperar.

As diferenças observadas podem também estar ligadas às diferentes linhagens de *T. galloi* utilizadas, bem como às variedades de cana-de-açúcar, que foram variáveis e se encontravam em diferentes estágios fenológicos (Tabela 3).

Tabela 12 - Porcentagem média de parasitismo diário de ovos de *D. saccharalis*, por *T. galloi*, após liberação do parasitóide realizada a partir de diferentes técnicas, durante todos os ensaios, em 1998. Piracicaba, SP.

TRATAMENTO		% de parasitismo média diária		
		Junho	Novembro	Dezembro
1	Adultos em copos plásticos dispersos na área	5,75 b ¹	25,15 a	7,20 b
2	Adultos em copos plásticos em ponto fixo e central na área	9,06 b	20,95 a	13,97 b
3	Pupas (1 dia idade) em cartão desprotegido em ponto fixo e central na área	3,19 b	30,21 a	11,43 b
4	Pupas (1 dia idade) em cartão protegido em ponto fixo e central na área	16,21 a	22,35 a	26,55 a
5	Pupas (3 dias idade) em cartão protegido em ponto fixo e central na área	27,50 a	20,74 a	24,11 a
Transformação		log (x+1)	-	-
Variedade da cana-de-açúcar		‘SP80-1816’	‘SP79-2233’	‘SP79-2233’
Estágio fenológico		cana-planta	cana-soca	cana-soca
Idade		7 meses	8 meses	9 meses
Linhagem de <i>T. galloi</i>		“Copersucar”	“Copersucar”	“Sidrolândia”

¹ Médias seguidas pela mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$).

4.2.2 Distribuição espacial e temporal do parasitismo

Não existiram diferenças significativas na distribuição do parasitismo dentro das parcelas experimentais (400m²), nos 3 experimentos, podendo-se observar, pelas representações esquemáticas (Figuras 13, 14, 15, 16 e 17), uma grande heterogeneidade nos resultados obtidos. Os parasitóides chegaram até 11,9m em 1 dia, coincidindo com os resultados de Lopes (1988), que observou que *T. galloi* atua em um raio de 10m, neste período, sem comprometimento no parasitismo.

Entretanto, o parasitismo foi numericamente menor nos pontos mais distantes do local de liberação, especialmente nas técnicas em que se utilizavam pupas protegidas, nos meses de junho (1º ensaio) e dezembro (3º ensaio) (Figura 18A e 18B). Nas outras técnicas, a porcentagem média de parasitismo foi quase constante em todas as distâncias, com exceção feita à liberação de adultos em ponto fixo, em junho, que seguiu a tendência das liberações com pupas protegidas (Figura 18A e 18B). A liberação por dispersão de adultos apresentou uma distribuição mais uniforme, como era de se esperar.

A maior inclinação da reta de tendência observada para as técnicas de pupas protegidas, em relação às demais, pode ser explicada pela emergência contínua de adultos, especialmente no caso da técnica com parasitismo em 3 idades, favorecendo os altos índices de parasitismo no ponto de liberação, e próximo dele (Figuras 18A e 18B).

Figura 13 - Porcentagem de parasitismo, nos pontos de infestação de *D. saccharalis*, do 1º ao 4º dia após a liberação dos parasitóides, em junho de 1998 (1º ensaio). Variedade SP80-1816 (cana-planta) com 7 meses de idade. Piracicaba, SP. Técnicas de liberação: A – adultos por dispersão; B – adultos em ponto fixo e central; C – pupas desprotegidas em ponto fixo; D – pupas de 1 idade protegidas em ponto fixo e; E – pupas de 3 idades diferentes protegidas em ponto fixo. A borda escura de alguns quadrados indica o ponto de liberação.

Figura 14 - Porcentagem de parasitismo, nos pontos de infestação de *D. saccharalis*, do 5º ao 8º dia após a liberação dos parasitóides, em junho de 1998 (1º ensaio). Variedade SP80-1816 (cana-planta) com 7 meses de idade. Piracicaba, SP. Técnicas de liberação: A – adultos por dispersão; B – adultos em ponto fixo e central; C – pupas desprotegidas em ponto fixo; D – pupas de 1 idade protegidas em ponto fixo e; E – pupas de 3 idades diferentes protegidas em ponto fixo. A borda escura de alguns quadrados indica o ponto de liberação.

Figura 15 - Porcentagem de parasitismo, nos pontos de infestação de *D. saccharalis*, do 1º ao 4º dia após a liberação dos parasitóides, em novembro de 1998 (2º ensaio). Variedade SP79-2233 (cana-soca) com 8 meses de idade. Piracicaba, SP. Técnicas de liberação: A – adultos por dispersão; B – adultos em ponto fixo e central; C – pupas desprotegidas em ponto fixo; D – pupas de 1 idade protegidas em ponto fixo e; E – pupas de 3 idades diferentes protegidas em ponto fixo. A borda escura de alguns quadrados indica o ponto de liberação.

Figura 16 - Porcentagem de parasitismo, nos pontos de infestação de *D. saccharalis*, do 1º ao 4º dia após a liberação dos parasitóides, em dezembro de 1998 (3º ensaio). Variedade SP79-2233 (cana-soca) com 9 meses de idade. Piracicaba, SP. Técnicas de liberação: A – adultos por dispersão; B – adultos em ponto fixo e central; C – pupas desprotegidas em ponto fixo; D – pupas de 1 idade protegidas em ponto fixo e; E – pupas de 3 idades diferentes protegidas em ponto fixo. A borda escura de alguns quadrados indica o ponto de liberação.

Figura 17 - Porcentagem de parasitismo, nos pontos de infestação de *D. saccharalis*, no 5º dia após a liberação dos parasitóides, em dezembro de 1998 (3º ensaio). Variedade SP79-2233 (cana-soca) com 9 meses de idade. Piracicaba, SP. Técnicas de liberação: A – adultos por dispersão; B – adultos em ponto fixo e central; C – pupas desprotegidas em ponto fixo; D – pupas de 1 idade protegidas em ponto fixo e; E – pupas de 3 idades diferentes protegidas em ponto fixo. A borda escura de alguns quadrados indica o ponto de liberação.

Figura 18 - Relação entre distância do ponto central (m) e porcentagem média diária de parasitismo (24h), durante os 7 dias após a liberação dos parasitóides, em junho (A) e dezembro (B) de 1998. Piracicaba, SP.

4.3 Efeito da densidade de ovos de *D. saccharalis*, por touceira de cana-de-açúcar, no parasitismo por *T. galloi*

Analisando os dados obtidos nos experimentos que compararam as técnicas de liberação, e através de observações em campo, pôde-se verificar que existiu uma relação positiva entre a densidade de ovos por touceira e a porcentagem de parasitismo por *T. galloi*, existindo diferenças significativas entre os dados (Tabela 13). A análise de regressão polinomial, para os 3 ensaios, indicou que os dados se ajustaram a uma curva de regressão quadrática ($P \leq 0,01$) (Figuras 19, 20 e 21).

Em junho, a densidade variou de 1 a 507 ovos por touceira, nas 5 parcelas experimentais (400m²), durante uma semana de amostragens diárias. Em novembro, a densidade variou de 1 a 546 ovos, e em dezembro, de 1 a 552 ovos/touceira.

McCravy & Berisford (1998) observaram estreita dependência entre a porcentagem de parasitismo por *Trichogramma* spp. e a densidade de ovos de *Rhyacionia frustana* (Comstock) (Lepidoptera, Tortricidae), em *Pinus*, nos EUA, em condições naturais. Os autores constataram que as altas densidades podem causar uma redução drástica no número de ovos colocado por *Trichogramma* spp. e no nível de “motivação” de “procura” do hospedeiro, pois os parasitóides, encontrando grande número de ovos parasitados, deixam a área, permanecendo muitos ovos sem serem parasitados.

Na presente pesquisa, a partir de observações de campo, pôde-se constatar a presença de muitas fêmeas sobre as posturas grandes (mais de 50 ovos); entretanto, o parasitismo, nestas posturas maiores, foi baixo (Figuras 19, 20 e 21 e Tabela 13), com a maioria dos ovos escuros (parasitados) situando-se na periferia das mesmas. Isto pode indicar que os parasitóides deixaram a área com alta densidade de ovos, como comentado por McCravy & Berisford (1998), e esta falta de “motivação” para parasitar, pode ter ocorrido devido a um excesso de caiomônios no microambiente, como

observado por Lopes & Parra (1991), para *T. galloi*, que pode ter causado uma confusão entre as fêmeas.

Tabela 13 - Porcentagem média diária de parasitismo por *T. galloi*, em diferentes densidades de ovos de *D. saccharalis* por ponto de infestação (touceira), nos 3 ensaios realizados em 1998. Piracicaba, SP.

Número de ovos por ponto de infestação	Junho	Novembro	Dezembro
	% de parasitismo		
1 – 20	14,84 (117) ³ a ¹	36,60 (84) a ²	31,68 (118) a ¹
21 – 40	11,39 (113) ab	35,40 (82) ab	25,42 (102) a
41 – 60	11,63 (211) ab	24,70 (41) ab	15,06 (90) b
61 – 80	10,26 (82) ab	21,40 (29) bc	9,59 (81) bc
81 – 100	7,57 (68) b	21,40 (35) bc	11,69 (59) bc
mais de 100	7,12 (309) b	8,80 (152) c	6,13 (222) c
Variedade	‘SP80-1816’	‘SP79-2233’	‘SP79-2233’
Estágio fenológico	cana-planta	cana-soca	cana-soca
Idade	7 meses	8 meses	9 meses
Linhagem de <i>T. galloi</i>	“Copersucar”	“Copersucar”	“Sidrolândia”

^{1,2} Médias seguidas pela mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey ¹ ou teste de Student-Newman-Keuls ² ($P \leq 0,05$);

³ Número de observações entre parênteses.

Paron et al. (1998) verificaram que a porcentagem de parasitismo de *Trichogramma atopovirilia* Oatman & Platner em ovos de *Helicoverpa zea* (Boddie), em laboratório, foi inversamente proporcional ao aumento do número de ovos, com os dados se ajustando a uma curva de regressão quadrática (tubos com uma ou dez fêmeas) ou a uma reta de regressão linear (três ou cinco fêmeas). Esta resposta obtida pelos autores citados é comum em ensaios que fornecem ao parasitóide uma quantidade determinada de ovos, dentro de um ambiente fechado, para avaliação da capacidade de

parasitismo. Entretanto, não esclarece se *Trichogramma* spp. atua igualmente em duas áreas, com o mesmo número de ovos, porém, uma delas, com um grande número de pontos com poucos ovos (mais próxima à natureza), e a outra, com poucos pontos contendo uma grande quantidade de ovos em cada um deles (comum em infestações artificiais).

A presente pesquisa mostrou a existência de uma relação inversa entre a porcentagem de parasitismo e o número de ovos por ponto de infestação. O parasitismo diminuiu com o aumento do número de ovos até uma densidade de aproximadamente 100 ovos por ponto, nos 3 experimentos, permanecendo constante a partir daí (Figuras 19, 20 e 21). Além disso, foi possível determinar que até cerca de 50 ovos por ponto de infestação não ocorreu diminuição significativa na porcentagem de parasitismo por *T. galloi*, por 24h (Tabela 13).

Figura 19 - Relação entre número médio de ovos de *D. saccharalis* por ponto de infestação e porcentagem média diária de parasitismo por *T. galloi* (linh. “Copersucar”), durante 7 dias de junho de 1998 (1º ensaio). Variedade SP80-1816 (cana-planta), com 7 meses de idade. Piracicaba, SP.

Figura 20 - Relação entre número médio de ovos de *D. saccharalis* por ponto de infestação e porcentagem média diária de parasitismo por *T. galloi* (linh. “Copersucar”), durante 6 dias de novembro de 1998 (2º ensaio). Variedade SP79-2233 (cana-soca), com 8 meses de idade. Piracicaba, SP.

Figura 21 - Relação entre número médio de ovos de *D. saccharalis* por ponto de infestação e porcentagem média diária de parasitismo por *T. galloi* (linh. “Sidrolândia”), durante 7 dias de dezembro de 1998 (3º ensaio). Variedade SP79-2233 (cana-soca), com 9 meses de idade. Piracicaba, SP.

5 CONCLUSÕES

1. A densidade de ovos é fundamental para estudos de infestação de *Diatraea saccharalis* (Fabr., 1794) e de parasitismo de *Trichogramma galloi* Zucchi, 1988, em campo;
2. Independente desta densidade, existe uma relação direta entre o número de ovos de *D. saccharalis*, por unidade de área, e a intensidade de infestação em colmos de cana-de-açúcar;
3. Existe uma relação direta entre o número de ovos de *D. saccharalis* por ponto de infestação e a porcentagem de predação, e inversa entre o número de ovos e a porcentagem de parasitismo por *T. galloi*;
4. A temperatura e a precipitação pluviométrica são os principais fatores que interferem na eficiência e no tempo de atuação de *T. galloi* no campo;
5. O efeito da umidade relativa do ar sobre *T. galloi* depende da fenologia da cana-de-açúcar;
6. O tempo de atuação de *T. galloi*, em campo, é de 6 dias, independente da técnica de liberação, embora o parasitismo seja decrescente com a idade;
7. A distribuição espacial do parasitóide não é afetada pela técnica de liberação utilizada;
8. A eficiência de *T. galloi* e seu tempo de atuação são semelhantes quando as liberações são feitas em um ponto fixo ou por dispersão na área;

9. A eficiência e o tempo de atuação de *T. galloi* no campo são semelhantes quando são realizadas liberações de adultos ou de pupas desprotegidas;
10. A técnica de pupas protegidas assegura o sucesso da liberação de *T. galloi*, em qualquer condição climática;
11. A utilização de pupas de *T. galloi* de uma idade e de três idades diferentes, nos recipientes de liberação, propicia resultados semelhantes de parasitismo e de permanência do parasitóide no campo.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABLES, J.R.; REEVES, B.G.; MORRISON, R.K.; KINZER, R.E.; JONES, S.L.; RIDGWAY, R.L.; BULL, D.L. Methods for the field release of insect parasites and predators. **Transactions of the ASAE**, v. 18, n. 1, p. 59-62, 1979.
- ALLEN, J.C.; GONZALEZ, D. Spatial attack patterns of *Trichogramma pretiosum* around release sites compared with a random diffusion model. **Environmental Entomology**, v. 3, n. 4, p. 647-652, 1974.
- ANDOW, D.A.; PROKRYM, D.R. Release density, efficiency and disappearance of *Trichogramma nubilale* for control of european corn borer. **Entomophaga**, v. 36, n.1, p. 105-113, 1991.
- ANDOW, D.A.; KLACAN, G.C.; BACH, D.; LEAHY, T.C. Limitations of *Trichogramma nubilale* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) as an inundative biological control of *Ostrinia nubilalis* (Lepidoptera: Crambidae). **Environmental Entomology**, v. 24, n. 5, p. 1352-1357, 1995.
- BERGAMIN, J. A broca da cana-de-açúcar. **Brasil Açucareiro**, v. 32, n. 5, p. 105-110, 1948.
- BIEVER, K.D. Effect of temperatures on the rate of search by *Trichogramma* and its potential application in field releases. **Environmental Entomology**, v. 1, n. 2, p.194-197, 1972.
- BIGLER, F. Mass production of *Trichogramma maidis* Pint. et Voeg. and its field application against *Ostrinia nubilalis* Hbn. in Switzerland. **Journal of Applied Entomology**, v. 101, n. 1, p. 23-29, 1986.

- BIGLER, F.; SUVERKROPP, B.P.; CERUTTI, F. Host searching by *Trichogramma* and its implications for quality control and release techniques. In: ANDOW, D.A.; RAGSDALE, D.W.; NYVALL, R.F. **Ecological interactions and biological control**. Boulder: Westview Press, 1997. p. 240-253.
- BLEICHER, E.; STEIN, C.P.; PARRA, J.R.P.; RODRIGUES FILHO, I.L. Método modificado de criação de *Sitotroga cerealella* (Oliv., 1819) (Lepidoptera: Gelechiidae) para estudos com *Trichogramma*. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v. 16, n.2, p. 447-451, 1987.
- BOLDT, P.E. Temperature, humidity, and host: effect on rate of search of *Trichogramma evanescens* and *T. minutum* auctt. (not Riley, 1871). **Annals of the Entomological Society of America**, v. 67, n. 4, p. 706-708, 1974.
- BOTELHO, P.S.M. Tabela de vida ecológica e simulação da fase larval da *Diatraea saccharalis* (Fabr., 1794) (Lep., Pyralidae). Piracicaba, 1985. 110p. Tese (Doutorado) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo.
- BOTELHO, P.S. Eficiência de *Trichogramma* em campo. In: PARRA, J.R.P.; ZUCCHI, R.A. (Ed.) ***Trichogramma e o controle biológico aplicado***. Piracicaba: FEALQ, 1997. p.303-318.
- BOTELHO, P.S.M.; MACEDO, N.; MENDES, A.C. Flutuação populacional e densidade média da *Diatraea saccharalis* (Fabr., 1794) em Araras, SP. **Brasil Açucareiro**, v. 94, n. 2, p. 11-19, 1979.
- BOTELHO, P.S.M.; PARRA, J.R.P.; MAGRINI, E.A.; HADDAD, M.L.; RESENDE, L.C.L. Efeito do número de liberações de *Trichogramma galloi* (Zucchi, 1988) no parasitismo de ovos de *Diatraea saccharalis* (Fabr., 1794). **Scientia Agricola**, v. 52, n. 1, p. 65-69, 1995.

- BRENIÈRE, J.; BORDAT, D.; VERCAMBRE, B.; HAMZA, H.; RENAND, M. Les opérations de lutte biologique contre le foreur du maïs *Chilo partellus* (Swinhoe), Lepidoptera, dans l'île de Ngazidja. **L'Agronomie Tropicale**, v. 40, n. 2, p. 157-166, 1985.
- BROWER, J.H. Population suppression of the almond moth and the Indianmeal moth (Lepidoptera: Pyralidae) by release of *Trichogramma pretiosum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) into simulated peanut storage. **Journal of Economic Entomology**, v. 81, n. 3, p. 944-948, 1988.
- BURBUTIS, P.P.; KOEPKE, C.H. European corn borer control in peppers by *Trichogramma nubilale*. **Journal of Economic Entomology**, v. 74, n. 2, p. 246-247, 1981.
- BURBUTIS, P.P.; MORSE, B.W.; MORRIS, D.; BENZON, G. *Trichogramma nubilale* (Hymenoptera: Trichogrammatidae): progeny distribution and superparasitism in European corn borer (Lepidoptera: Pyralidae). **Environmental Entomology**, v. 12, n. 5, p. 1587-1589, 1983.
- BURRELL, R.W.; McCORMICK, W.J. Effect of *Trichogramma* releases on parasitism of sugarcane borer eggs. **Journal of Economic Entomology**, v. 55, n. 1, p. 880-882, 1962.
- BUTT, B.A.; CANTU, E. **Sex determination of lepidopterous pupae**. Washington: USDA, 1962. 7p.
- CAMINHA FILHO, A. A broca da canna de assucar, *Diatraea saccharalis* (Fabricius). **Brasil Açucareiro**, v. 5, n. 1, p. 7-14, 1935.
- CÔNSOLI, F.L.; PARRA, J.R.P. Effects of constant and alternating temperatures on *Trichogramma galloi* Zucchi (Hym., Trichogrammatidae) biology II. – parasitism capacity and longevity. **Journal of Applied Entomology**, n. 119, p. 667-670, 1995.
- CÔNSOLI, F.L.; PARRA, J.R.P. Biology of *Trichogramma galloi* and *T. pretiosum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) reared in vitro and in vivo. **Annals of the Entomological Society of America**, v. 89, n. 6, p. 828-834, 1996.

- DEGASPARI, N.; MACEDO, N.; BOTELHO, P.S.M.; ARAÚJO, J.R.; ALMEIDA, L.C. de. Predadores e parasitos de ovos da *Diatraea saccharalis* em cana-de-açúcar. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 22, p. 785-792, 1987.
- DOLPHIN, R.E.; CLEVELAND, M.L.; MOZING, T.E.; MORRISON, R.K. Releases of *Trichogramma minutum* and *T. cacoeciae* in apple orchard and the effects on populations of codling moth. **Environmental Entomology**, v. 1, n. 4, p. 481-484, 1972.
- FORSSE, E.; SMITH, S.M.; BOURCHIER, R.S. Flight initiation in the egg parasitoid *Trichogramma minutum*: effects of ambient temperature, mates, food and host eggs. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, n. 62, p. 147-154, 1992.
- FUCKS, T.W.; HARDING, J.A. Oviposition patterns, egg parasitism, and spring emergence of the sugarcane borer *Diatraea saccharalis*. **Environmental Entomology**, v. 7, n. 4, p. 601-604, 1978.
- GALLO, D.; NAKANO, O.; SILVEIRA NETO, S.; CARVALHO, R.P.L.; BATISTA, G.C. de; BERTI FILHO, E.; PARRA, J.R.P.; ZUCCHI, R.A.; ALVES, S.B.; VENDRAMIM, J.D. **Manual de entomologia agrícola**. São Paulo: Ceres, 1988. 649p.
- GOMES, S.M. Comparação de três hospedeiros alternativos para criação e produção massal de *Trichogramma pretiosum* Riley, 1879 e *T. galloi* Zucchi, 1988. Piracicaba, 1997. 106p. Dissertação (Mestrado) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo.
- GREATTI, M.; ZANDIGIACOMO, P. Postrelease dispersal of *Trichogramma brassicae* Bezdenko in corn fields. **Journal of Applied Entomology**, n. 119, p. 671-675, 1995.
- GROSS, H.R.; LEWIS, W.J.; NORDLUND, D.A. *Trichogramma pretiosum*: effect of prerelease parasitization experience on retention in release areas and efficiency. **Environmental Entomology**, v. 10, n. 4, p. 554-556, 1981a.

- GROSS, H.R.; LEWIS, W.J.; BEEVERS, M.; NORDLUND, D.A. *Trichogramma pretiosum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae): effects of augmented densities and distributions of *Heliothis zea* (Lepidoptera: Noctuidae) host eggs and kairomones on field performance. **Environmental Entomology**, v. 13, n. 4, p. 981-985, 1984.
- GROSS, H.R.; HARRELL, E.A.; LEWIS, W.J.; NORDLUND, D.A. *Trichogramma* spp.: concurrent ground application of parasitized eggs, supplemental *Heliothis zea* host eggs, and host-seeking stimuli. **Journal of Economic Entomology**, v. 74, n. 2, p. 227-229, 1981b.
- GUAGLIUMI, P. Taladrador de la caña de azúcar. **Gazeta Agrícola**, v. 21, n. 546, p.17, 1976.
- GUEVARA, L.A.C. Aspectos da biologia em condições naturais e freqüência de acasalamento da *Diatraea saccharalis* (Fabr., 1794) (Lepidoptera – Crambidae) a broca da cana-de-açúcar. Piracicaba, 1976. 70p. Dissertação (Mestrado) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo.
- GUSEV, G.V.; LEBEDEV, G.I. Present state of *Trichogramma* application and research. In: VOEGELÉ, J.; WAAGE, J.K.; VAN LENTEREN, J.C. (Ed.) **Trichogramma and other egg parasites: les trichogrammes et autres parasitoides oophages**. Paris: INRA, 1986. p. 477-481. (Les Colloques de l’INRA, 43).
- HAJI, F.N.P. Controle biológico da traça do tomateiro com *Trichogramma* no Nordeste do Brasil. In: PARRA, J.R.P.; ZUCCH■, R.A. (Ed.) **Trichogramma e o controle biológico aplicado**. Piracicaba: FEALQ, 1997. p. 319-324.
- HASSAN, S.A.; KOHLER, E.; ROST, W.M. Mass production and utilization of *Trichogramma*: 10. Control of the codling moth *Cydia pomonella* and the summer fruit tortrix moth *Adoxophyes orana* (Lep.: Tortricidae). **Entomophaga**, v. 33, n. 4, p.413-420, 1988.

- HASSAN, S.A.; STEIN, E.; DANNEMANN, K.; REICHEL, W. Mass-production and utilization of *Trichogramma*: 8. Optimizing the use to control the European corn borer *Ostrinia nubilalis* Hbn. **Journal of Applied Entomology**, v. 101, n. 5, p. 508-515, 1986.
- HAYWARD, K.J. A broca da cana-de-açúcar. **Brasil Açucareiro**, v. 22, n. 11, p. 69-74, 1943.
- HENSLEY, S.D.; HAMMOND, A.H. Laboratory techniques for rearing the sugar cane borer on an artificial diet. **Journal of Economic Entomology**, v. 61, n. 6, p. 1742-1743, 1968.
- HOPE, C.A.; NICHOLSON, S.A.; CHURCHER, J.J. Aerial release system for *Trichogramma minutum* Riley in plantation forests. **Inundative release of the egg parasitoid, *Trichogramma minutum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae), against forest insect pests such as the spruce budworm, *Choristoneura fumiferana* (Lepidoptera: Tortricidae): the Ontario Project 1982-1986**. Ontario, 1990. p. 38-44. (Memoirs of the Entomological Society of Canada, 153).
- HOUSEWEART, M.W.; JENNINGS, D.T.; LAWRENCE, R.K. Field releases of *Trichogramma minutum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) for suppression of epidemic spruce budworm, *Choristoneura fumiferana* (Lepidoptera: Tortricidae), egg populations in Maine. **Canadian Entomologist**, v. 116, n. 10, p. 1357-1366, 1984.
- HULME, M.A.; MILLER, G.E. Potential for control of *Barbara colfaxiana* (Kearfott) (Lepidoptera: Olethreutidae) using *Trichogramma* sp. In: VOEGELÉ, J.; WAAGE, J.K.; VAN LENTEREN, J.C. (Ed.) **Trichogramma and other egg parasites: les trichogrammes et autres parasitoides oophages**. Paris: INRA, 1986. p. 483-488. (Les Colloques de l'INRA, 43).
- JOHNSON, S.J. Low-level augmentation of *Trichogramma pretiosum* and naturally occurring *Trichogramma* spp. parasitism of *Heliothis* spp. in cotton in Louisiana. **Environmental Entomology**, v. 14, n. 1, p. 28-31, 1985.

- JONES, S.L.; MORRISON, R.K.; ABLES, J.R.; BULL, D.L. A new and improved technique for the field release of *Trichogramma pretiosum*. **Southwestern Entomologist**, v. 2, n. 4, p. 210-215, 1977.
- KANOUR, W.W.; BURBUTIS, P.P. *Trichogramma nubilale* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) field releases in corn and a hypothetical model for control of European corn borer (Lepidoptera: Pyralidae). **Journal of Economic Entomology**, v. 77, n. 1, p. 102-107, 1984.
- KELLER, M.A.; LEWIS, W.J.; STINNER, R.E. Biological and practical significance of movement by *Trichogramma* species: a review. **Southwestern Entomologist**, v. 8, p. 138-155, 1985.
- KING, E.G.; HARTLEY, G.G. *Diatraea saccharalis*. In: SINGH, P.; MOORE, R.F. (Ed.) **Handbook of insect rearing**. New York: Elsevier, 1985, p. 265-270.
- LAING, J.E.; EDEN, G.M. Mass-production of *Trichogramma minutum* Riley on factitious host eggs. In: SMITH, S.M.; CARROW, J.R.; LAING, J.E. (Ed.) **Inundative release of the egg parasitoid, *Trichogramma minutum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae), against forest insect pests such as the spruce budworm, *Choristoneura fumiferana* (Lepidoptera: Tortricidae): the Ontario Project 1982-1986**. Ontario, 1990. p. 10-24. (Memoirs of the Entomological Society of Canada, 153).
- LI, LI-YING. *Trichogramma* sp. and their utilization in Peoples' Republic of China. In: VOEGELÉ, J. (Ed.) **Les Trichogrammes**. Paris: INRA, 1982. p. 23-29. (Les Colloques de l'INRA, 9).
- LONG, W.H. Studies of the ecology and control of *Diatraea* on sugarcane in São Paulo State, Brasil. Piracicaba: CENA, 1976. 17p. /Conferência apresentada no 3º Congresso Brasileiro de Entomologia, Maceió, 1976/
- LOPES, J.R.S. Estudos bioetológicos de *Trichogramma galloi* Zucchi, 1988 (Hym., Trichogrammatidae) para o controle de *Diatraea saccharalis* (Fabr., 1794) (Lep.,

- Pyralidae). Piracicaba, 1988. 141p. Dissertação (Mestrado) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo.
- 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**, v. 66, n. 3, p. 221-244, 1991.
- LOPES, J.R.S.; PARRA, J.R.P.; JUSTI Jr., J. Influência do armazenamento e estágio embrionário de diferentes hospedeiros no parasitismo por tricogramatídeos. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENTOMOLOGIA, 11., Campinas, 1987. Campinas: SEB, 1987. p. 256.
- LOPES, J.R.S.; PARRA, J.R.P.; JUSTI JR., J.; OLIVEIRA, N.H. Metodologia para infestação artificial de ovos de *Diatraea saccharalis* (Fabr., 1794) em cana-de-açúcar visando estudos com *Trichogramma* spp. **Anais da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”**, v. 46, n. 2, p. 375-390, 1989.
- MAGRINI, E.A. Estudo comparativo entre substratos para oviposição de *Diatraea saccharalis* e posterior parasitismo por *Trichogramma* sp. **Brasil Açucareiro**, v.106, n. 2, p. 15-17, 1988.
- MAINI, S.; BURGIO, G. Lotta biologica contro *Ostrinia nubilalis* (Hb.) (Lepidoptera, Pyralidae) su peperone in coltura protetta. **Bollettino dell’Istituto di Entomologia ‘Guido Grandi’ della Universita degli Studi di Bologna**, n. 44, p. 23-36, 1989-90.
- MAINI, S.; CELLI, G.; GATTAVECCHIA, C.; PAOLETTI, M. Presenza e impiego nella lotta biologica del *Trichogramma maidis* Pintureau e Voegelé (Hymenoptera, Trichogrammatidae) parassita oofago di *Ostrinia nubilalis* Hb. (Lepidoptera, Pyralidae) in alcune zone dell’Italia settentrionale. **Bollettino dell’Istituto di Entomologia ‘Guido Grandi’ della Universita degli Studi di Bologna**, n. 37, p. 209-217, 1982.

- MAINI, S.; BURCHI, C.; GATTAVECCHIA, C.; CELLI, G.; VOGELÉ, J. *Trichogramma maidis* Pint. Voeg. in northern Italy: augmentative releases against *Ostrinia nubilalis* (Hbn.). In: VOGELÉ, J.; WAAGE, J.K.; VAN LENTEREN, J.C. (Ed.) **Trichogramma and other egg parasites: les trichogrammes et autres parasitoides oophages**. Paris: INRA, 1986. p. 515-517. (Les Colloques de l'INRA, 43).
- MANI, M.; KRISHNAMOORTHY, A. Recovery of two exotic parasites, *Trichogramma brasiliensis* [Hym.: Trichogrammatidae] and *Eucelatoria bryani* [Dip.: Tachinidae] from *Heliothis armigera* [Lep.: Noctuidae] in tomato fields. **Entomophaga**, v. 28, n. 4, p. 401-406, 1983.
- McCRAVY, K.W.; BERISFORD, C.W. Parasitism by *Trichogramma* spp. (Hymenoptera: Trichogrammatidae) in relation to nantucket pine tip moth (Lepidoptera: Tortricidae) egg density and location. **Environmental Entomology**, v. 27, n. 2, p. 355-359, 1998.
- MÉLO, A.B.P. de. Biologia de *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794) (Lepidoptera – Pyralidae) em diferentes temperaturas para determinação das exigências térmicas. Piracicaba, 1984. 101p. Dissertação (Mestrado) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo.
- 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**, v. 23, p. 691-696, 1988.
- MENDES, A.C.; BOTELHO, P.S.M.; MACEDO, N.; LAVORENTI, N.A. Correlation between the intensity of infestation and population index of the sugarcane borer, *Diatraea saccharalis* (Fabr., 1794). In: CONGRESS OF THE INTERNATIONAL SOCIETY OF SUGAR CANE TECHNOLOGISTS, 17, , 1980. **Proceedings**. :ISSCT, 1980. p.1719-1730.

- MENDONÇA FILHO, A. As brocas da cana-de-açúcar *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794) e *Diatraea flavipennella* (Box, 1931) (Lepidoptera: Pyralidae) e seu controle biológico no Estado de Alagoas. Piracicaba, 1978. 201p. Dissertação (Mestrado) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo.
- MERTZ, B.P.; FLEISCHER, S.J.; CALVIN, D.D.; RIDGWAY, R.L. Field assessment of *Trichogramma brassicae* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) and *Bacillus thuringiensis* for control of *Ostrinia nubilalis* (Lepidoptera: Pyralidae) in sweet corn. **Journal of Economic Entomology**, v. 88, n. 6, p. 1616-1625, 1995.
- MICHELETTI, S.M.F.B. Distribuição espacial e temporal de ovos de *Diatraea saccharalis* (Fabr., 1794) (Lep.: Pyralidae) e seu parasitismo por *Trichogramma* sp. (Hym., Trichogrammatidae). Piracicaba, 1987. 95p. Dissertação (Mestrado) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo.
- MORRISON, R.K.; JONES, S.L.; LOPEZ, T.D. A unified system for the production and preparation of *Trichogramma pretiosum* for field release. **Southwestern Entomologist**, v. 3, n. 1, p. 62-68, 1978.
- NEIL, K.A.; SPECHT, H.B. Field releases of *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae) for suppression of corn earworm, *Heliothis zea* (Boddie) (Lepidoptera: Noctuidae), egg populations on sweet corn in Nova Scotia. **Canadian Entomologist**, v. 122, n. 11-12, p. 1259-1266, 1990.
- NEWTON, P.J. Movement and impact of *Trichogrammatoidea cryptophlebiae* Nagaraja (Hymenoptera: Trichogrammatidae) in citrus orchards after inundative releases against the false codling moth, *Cryptophlebia leucotreta* (Meyrich) (Lepidoptera: Tortricidae). **Bulletin of Entomological Research**, v. 78, n. 1, p. 85-99, 1988.

- NORDLUND, D.A.; LEWIS, W.J.; GROSS, H.R.; HARRELL, E.A. Description and evaluation of a method for field application of *Heliothis zea* eggs and kairomones for *Trichogramma*. **Environmental Entomology**, v. 3, n. 6, p. 981-984, 1974.
- PAK, G.A.; OATMAN, E.R. Biology of *Trichogramma brevicapillum*. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v. 32, p. 61-67, 1982.
- PARON, M.J.E.O.; CIOCIOLA, A.I.; CRUZ, I. Resposta de *Trichogramma atopovirilia* Oatman & Platner (Hymenoptera: Trichogrammatidae) a diferentes densidades de ovos do hospedeiro natural, *Helicoverpa zea* (Boddie) (Lepidoptera: Noctuidae). **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v. 27, n. 3, p. 427-434, 1998.
- PARRA, J.R.P. **Técnicas de criação de insetos para programas de controle biológico**. 3.ed. Piracicaba: FEALQ, 1996. 137p.
- PARRA, J.R.P. Técnicas de criação de *Anagasta kuehniella*, hospedeiro alternativo para produção de *Trichogramma*. In: PARRA, J.R.P.; ZUCCHI, R.A. (Ed.) ***Trichogramma e o controle biológico aplicado***. Piracicaba: FEALQ, 1997. cap. 4, p. 121-150.
- PARRA, J.R.P. Potencial de uso de *Trichogramma* em culturas no Brasil. In: SIMPÓSIO DE CONTROLE BIOLÓGICO, 6., Rio de Janeiro, 1998. Rio de Janeiro: FIOCRUZ, 1998. p.118.
- PARRA, J.R.P.; SALES Jr., O. Biology of *Trichogramma galloi* Zucchi reared on natural and factitious hosts under different temperatures and relative humidities. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON TRICHOGRAMMA AND OTHER EGG PARASITES, 4., Cairo, 1994. Paris: INRA, 1994. p. 95-99. (Les Colloques de l'INRA, 73).
- PARRA, J.R.P.; BOTELHO, P.S.M.; ALVES, S.B.; MAGRINI, E.A. **Controle biológico da lagarta-da-soja *Anticarsia gemmatilis*: projeto piloto para produção de *Baculovirus anticarsia*, visando ao seu controle**. Piracicaba: PCLQ, 1993. 8p. (Boletim Técnico, 3).

- PARRA, J.R.P.; ESTEVAM, R.C.; BOTELHO, P.S.M; AGUIAR, J.A.D. Respiratory metabolism of *Diatraea saccharalis*. **Sugarcane: the International Journal of Cane Agriculture**, apr./june (supl.), 1988, p. 19-23.
- PARRA, J.R.P.; LOPES, J.R.S.; SERRA, J.H.P.; SALES Jr., O. Metodologia de criação de *Anagasta kuehniella* (Zeller, 1879) para produção massal de *Trichogramma* spp. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v. 18, n. 2, p. 403-415, 1989.
- PARRA, J.R.P.; MILANO, P.; CÔNSOLI, F.L.; ZÉRIO, N.G. Efeito da nutrição de adultos e da umidade na fecundidade de *Diatraea saccharalis* (Fabr.). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENTOMOLOGIA, 16. Salvador, 1997. **Resumos**. Salvador: SEB;EMBRAPA,CNPMPF, 1997. p. 91.
- PROKRYM, D.R.; ANDOW, D.A.; CIBOROWSKI, J.A.; SREENIVASAM, D.D. Suppression of *Ostrinia nubilalis* by *Trichogramma nubilale* in sweet corn. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v. 64, n. 1, p. 73-85, 1992.
- RIDGWAY, R.L.; MORRISON, R.K. Worldwide perspective on practical utilization of *Trichogramma* with special reference to control of *Heliothis* on cotton. **Southwestern Entomologist**, supl., n. 8, p. 190-195, 1985.
- SALES JR., O. Bioecologia de *Trichogramma galloi* Zucchi, 1988 no hospedeiro natural *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794) e em hospedeiros alternativos. Piracicaba, 1992. 97p. Tese (Doutorado) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo.
- SCHUTTE, F.; FRANZ, J.M. Untersuchungen Zur Apfelwickler-Bekämpfung (*Carposapsa pomonella* L.) Mit Hilfe von *Trichogramma* Hartig. **Entomophaga**, v.6, n. 3, p. 237-247, 1961.

- SHI, G.Z.; ZHOU, Y.N.; ZHAO, J.S.; LI, T.; LIAN, M.L.; CHANG, R.Q.; LI, T.X.; CHEN, S.J.; YANG, X.L.; NIOU, J.Q. The techniques of protection of the *Trichogramma* population in the fields. In: VOEGELÉ, J.; WAAGE, J.K.; VAN LENTEREN, J.C. (Ed.) **Trichogramma and other egg parasites: les trichogrammes et autres parasitoides oophages**. Paris: INRA, 1986. p. 581-583. (Les Colloques de l'INRA, 43).
- SILVEIRA NETO, S.; CARVALHO, R.P.L.; PARANHOS, S.B. Flutuação populacional de pragas da cana-de-açúcar em Piracicaba. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE ENTOMOLÓGICA BRASILEIRA, 1., Piracicaba, 1968. Piracicaba: SEB, 1968. p. 26-27.
- SMITH, S.M. Methods and timing of releases of *Trichogramma* to control lepidopterous pests. In: WAJNBERG, E.; HASSAN, S.A. (Ed.). **Biological control with egg parasitoids**. Wallingford: CAB International, 1994. cap. 6, p. 113-144.
- SMITH, S.M. Biological control with *Trichogramma*: advances, successes, and potential of their use. **Annual Review of Entomology**, n.41, p. 375-406, 1996.
- SMITH, S.M.; WALLACE, D.R. Ground systems for releasing *Trichogramma minutum* Riley in plantation forests. In: SMITH, S.M.; CARROW, J.R.; LAING, J.E. (Ed.) **Inundative release of the egg parasitoid, *Trichogramma minutum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae), against forest insect pests such as the spruce budworm, *Choristoneura fumiferana* (Lepidoptera: Tortricidae): the Ontario Project 1982-1986**. Ontario, 1990. p. 31-37. (Memoirs of the Entomological Society of Canada, 153).
- SMITH, S.M.; HUBBES, M.; CARROW, J.R. Ground releases of *Trichogramma minutum* (Hym.: Trichogrammatidae) against epidemic populations of eastern spruce budworm. **Canadian Entomologist**, v. 119, n. 3, p. 251-263, 1987.

- SMITH, S.M.; WALLACE, D.R.; HOWSE, G.; MEATING, J. Suppression of spruce budworm populations by *Trichogramma minutum*. In: SMITH, S.M.; CARROW, J.R.; LAING, J.E. (Ed.) **Inundative release of the egg parasitoid, *Trichogramma minutum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae), against forest insect pests such as the spruce budworm, *Choristoneura fumiferana* (Lepidoptera: Tortricidae): the Ontario Project 1982-1986**. Ontario, 1990. p. 46-81. (Memoirs of the Entomological Society of Canada, 153).
- STEIN, C.P.; PARRA, J.R.P. Uso da radiação para inviabilizar ovos de *Anagasta kuehniella* (Zeller, 1879) visando estudos com *Trichogramma* spp. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v. 16, n. 1, p. 229-231, 1987.
- STINNER, R.E. Efficacy of inundative releases. **Annual Review of Entomology**, v.22, p. 414-531, 1977.
- STINNER, R.E.; RIDGWAY, R.L.; COPPEDGE, J.R.; MORRISON, R.K.; DICKERSON, W.A. Parasitism of *Heliothis* eggs after field releases of *Trichogramma pretiosum* in cotton. **Environmental Entomology**, v. 3, n. 3, p. 497-500, 1974.
- TERÁN, F.O. Natural control of *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794) eggs in sugarcane fields of São Paulo. In: CONGRESS OF THE INTERNATIONAL SOCIETY OF SUGAR CANE TECHNOLOGISTS, 17, Philippines, 1980. p. 1704-1714.
- TUCKER, R.W.E. Rate of egg deposition by *Diatraea saccharalis*. Extent of larval mortality in cane fields. Their relation to control of *Diatraea* by *Trichogramma minutum*. **Agriculture**, v. 2, n. 4, p. 33-52, 1933.
- WALDER, J.M.M. Estudo da população de *Diatraea saccharalis* (Fabr., 1794) em quatro regiões canavieiras do Estado de São Paulo. Piracicaba, 1976. 111p. Tese (Doutorado) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo.

- YU, D.S.; BYERS, J.R. Inundative release of *Trichogramma brassicae* Bezdenko (Hymenoptera: Trichogrammatidae) for control of European Corn Borer in sweet corn. **Canadian Entomologist**, v. 126, n.2, p. 291-301, 1994.
- YU, D.S.K.; LAING, J.E.; HAGLEY, E.A.C. Dispersal of *Trichogramma* spp. (Hymenoptera: Trichogrammatidae) in an apple orchard after inundative releases. **Environmental Entomology**, v. 13, n. 2, p. 371-4, 1984.
- ZUCCHI, R.A. New species of *Trichogramma* (Hym., Trichogrammatidae) associated with the sugarcane borer *Diatraea saccharalis* (F.) (Lep., Pyralidae) in Brazil. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON TRICHOGRAMMA AND OTHER EGG PARASITES, 2., Guangzhou, 1986. Paris, INRA, 1988. p. 133-40. (Les Colloques de l'INRA, 43).