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

Exigências térmicas e danos de *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794) (Lepidoptera: Crambidae) em milho e base para seu controle com *Trichogramma galloi* Zucchi, 1988 (Hymenoptera: Trichogrammatidae)

Leandro Delalibera Geremias

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

**Piracicaba
2013**

Leandro Delalibera Geremias
Engenheiro Agrônomo

**Exigências térmicas e danos de *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794)
(Lepidoptera: Crambidae) em milho e base para seu controle com
Trichogramma galloi Zucchi, 1988 (Hymenoptera: Trichogrammatidae)**

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

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

**Piracicaba
2013**

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

Geremias, Leandro Delalibera
Exigências térmicas e danos de *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794)
(Lepidoptera: Crambidae) em milho e base para seu controle com *Trichogramma*
galloi Zucchi, 1988 (Hymenoptera: Trichogrammatidae) / Leandro Delalibera
Geremias.- - Piracicaba, 2013.
91 p: il.

Tese (Doutorado) - - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", 2013.

1. Broca-da-cana 2. Constante térmica 3. Graus-dias 4. Prejuízos 5. Controle
biológico 6. Parasitoide de ovos I. Título

CDD 633.15
G367e

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

Dedico a minha namorada, companheira e amiga Aline Cristina Pereira da Rocha
pelo companheirismo, amizade e incentivo que me permitiram concluir esse
trabalho e o curso de doutorado

Agradeço aos meus pais, Luiz Gonzaga Geremias e Iolanda Braido Delalibera
Geremias pelo inestimável apoio em todos os momentos

AGRADECIMENTOS

Ao professor **José Roberto Postali Parra** pela orientação, amizade e ensinamentos referentes ao trabalho e conversas gerais sobre a universidade, a pós-graduação e a entomologia;

À **Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”** (ESALQ), da Universidade de São Paulo pela oportunidade no curso de pós-graduação e excelente infraestrutura oferecida;

Ao **Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico** (CNPq), pela concessão da bolsa de estudos;

À **Neide Zério**, pela ajuda na criação dos insetos, especialmente *D. saccharalis*, os quais foram criados aproximadamente 122.880 insetos para a realização dos experimentos;

As técnicas **Arodí Prado** e **Cristina Jensen** pelo fornecimento de ovos de *A. kuehniella* necessários para a criação de *T. galloi* os quais não serão computados, pois a conta iria ser muito grande;

Aos ex-estagiários que muito me auxiliaram e com os quais aprendi e pude ensinar um pouco, alguns, atualmente, na pós-graduação: **Aloísio** (Doutorando ESALQ), **Gustavo** (Doutorando ESALQ), **Carol** (Graduanda em Agronomia), **Mariana Zério** (Graduanda em Veterinária), **Mariana Bossi** (Mestranda ESALQ), **Luci** (francesa), **Alexandre Begiatto** (Biólogo e inventor), **Maju Malavolta** (Graduando em Agronomia), **Levi** (Graduando em Geologia), **Marina** (Graduanda em Agronomia), **Charlotte** (francesa 2), **Carol Silva** (Graduanda em Agronomia), **Joice** (Graduanda em Agronomia) e **Lucas** (FATEC);

Ao meu pai **Luiz Geremias** pelo carro, o qual foi extremamente útil para realizar os experimentos em campo;

A **Fazenda Areão** da ESALQ, onde realizei boa parte dos experimentos, os funcionários **Piranha**, **Zé**, e seu administrador **Luiz Fernando**, sempre solícito;

Aos grandes amigos desde os tempos de UFERSA, atualmente na UNESP-Jaboticabal **Daniell Fernandes** e **Alexandre Menezes-Netto** pela amizade, incentivo e companheirismo;

Ao grande amigo **Tiago Lima** pelos conselhos e debates científicos;

Aos grandes amigos do Laboratório de Biologia de Insetos com os quais convivi durante esses seis anos: **Adriana, Ângela, Mariuxi, Everton, Jaci, Sandra, Bruno, Alexandre Diniz, Alexandre De Sene, Aline Bertin, Ademir, Nívia, Johanna, Guilherme, Laís, Fernanda, Vinícius, Marisol.**

Ao professor **Wesley Godoy** pelos auxílios com os modelos não-lineares, pelas conversas e pelo exemplo de profissional e pessoa;

Ao professor **Sinval Silveira** pelas palavras sábias e exemplos, de amor pela entomologia, e como pessoa;

Ao professor **Maurício Bento** pelas conversas e por ceder espaço do seu laboratório para realização de experimentos;

Ao professor **João Lopes** pelo tutoramento durante os dois estágios PAE e pela atenção;

Ao professor **Décio Barbin** (Dept. de Estatística ESALQ) pelos cálculos de derivadas utilizados na estimativa do limiar térmico superior de desenvolvimento dos insetos;

Ao professor **Paulo Sentelhas** (Dept. de Biosistemas ESALQ) pela orientação no uso correto dos dados meteorológicos e posicionamento do *datta logger*;

A todos que me orientaram nas análises estatísticas **Eric Wajnberg** (INRA), **Rafael Moral** (Mestrando em Estatística ESALQ) e o professor **Carlos Tadeu** (Dept. Estatística ESALQ);

Aos professores e ex-professores do Departamento de Entomologia da ESALQ pelos valiosos ensinamentos: **Djair Vendramin, Fernando Cônsoli, Roberto Zucchi, Celso Omoto, Evône Berti Filho, Octávio Nakano, Gilberto Casadei, Gilberto de Moraes, Italo Delalibera, Luis Marchini, Pedro Yamamoto;**

Aos funcionários do Departamento de Entomologia da ESALQ: **Dino, Carlinhos, Carlão, William, Regina, Marta, Marinéia, Andréa e Carol;**

Aos amigos do Departamento de Entomologia da ESALQ com os quais foram divididas as tristezas, angústias e desesperos e multiplicados os conhecimentos, a sapiência e as alegrias;

“Não nos foi dado papel principal no drama cósmico.

É possível que esse papel tenha sido dado a outros.

De todo modo, temos boas razões para sermos HUMILDES.”

Carl Sagan

SUMÁRIO

RESUMO.....	11
ABSTRACT	13
1 INTRODUÇÃO	15
Referências	16
2 Limites térmicos e temperatura ótima de desenvolvimento de <i>Diatraea saccharalis</i> (Fabricius, 1794) (Lepidoptera: Crambidae).....	19
Resumo	19
Abstract	20
2.1 Introdução.....	21
2.2 Material e Métodos	22
2.2.1 Criação estoque de <i>Diatraea saccharalis</i> (Fabricius, 1794) (Lepidoptera: Crambidae)	22
2.2.2 Efeito da temperatura no desenvolvimento de <i>D. saccharalis</i>	24
2.2.3 Taxa de desenvolvimento e modelos matemáticos	24
2.2.4 Análises estatísticas.....	26
2.3 Resultados e discussão	27
2.4 Conclusões	35
Referências.....	35
3 Validação da constante térmica para <i>Diatraea saccharalis</i> (Fabricius, 1794) (Lepidoptera: Crambidae) em campo, para milho	39
Resumo	39
Abstract.....	40
3.1 Introdução.....	41
3.2 Material e métodos	42
3.2.1 Primeira etapa.....	42
3.2.2 Segunda etapa.....	44
3.2.3 Coleta e análise dos dados.....	45
3.3 Resultados e discussão	46
3.4 Conclusão.....	54
Referências.....	54
4 Danos causados por diferentes densidades larvais de <i>Diatraea saccharalis</i> (Fabricius, 1794) (Lepidoptera: Crambidae) em dois estádios fenológicos de milho.....	57
Resumo	57
Abstract.....	58
4.1 Introdução.....	59
4.2 Material e métodos	60
4.3 Resultados e discussão	62
4.4 Conclusões	69
Referências.....	70
5 Dispersão de <i>Trichogramma galloi</i> Zucchi, 1988 (Hymenoptera: Trichogrammatidae) em milho visando ao controle de <i>Diatraea saccharalis</i> (Fabricius, 1794) (Lepidoptera: Crambidae).....	73
Resumo	73

Abstract	74
5.1 Introdução	75
5.2 Material e Métodos.....	76
5.2.1 Criação de <i>Trichogramma galloi</i> Zuchhi, 1988 e <i>Diatraea saccharalis</i> (Fabricius, 1794) (Lepidoptera: Crambidae).....	76
5.2.2 Áreas experimentais e liberação dos parasitoides	78
5.2.3 Coleta e análise dos dados	80
5.3 Resultados e Discussão.....	81
5.4 Conclusões	87
Referências	87

RESUMO

Exigências térmicas e danos de *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794) (Lepidoptera: Crambidae) em milho e base para seu controle com *Trichogramma galloi* Zucchi, 1988 (Hymenoptera: Trichogrammatidae)

A broca-da-cana, *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794) (Lepidoptera: Crambidae) vem se constituindo, em uma importante praga do milho, com relatos de surtos populacionais em diversas partes do país. Devido ao aumento de sua importância, em milho, nos últimos anos, a presente pesquisa teve como objetivos: (a) determinar os limites térmicos e a temperatura ótima de desenvolvimento de *D. saccharalis*; (b) validar as constantes térmicas (K), para fase de ovo e período lagarta-pupa estimadas em laboratório, nas condições de campo, levando-se em consideração as condições microclimáticas; (c) avaliar os danos e consequente perda na produção de grãos provocadas pelo ataque de diferentes densidades larvais de *D. saccharalis* em dois estádios fenológicos de milho e (d) determinar o raio e área de dispersão de *Trichogramma galloi* Zucchi, 1988 (Hymenoptera: Trichogrammatidae) em milho visando ao controle de *D. saccharalis*. Os resultados obtidos mostram que o limiar térmico inferior de desenvolvimento (T_b) de *D. saccharalis* foi de 14; 13 e 12°C para as fases de ovo, larva e pupa, respectivamente; as faixas de temperatura ótima de desenvolvimento (T_{opt}), estimadas experimentalmente, foram de 30 a 32°C para as fases de ovo e larva e de 28 a 30°C para a fase de pupa; o limiar térmico superior ($T_{máx}$) foi de 35,4°C para a fase de larva, estimada pelo modelo de Logan-6 e que ficou dentro da faixa térmica determinada experimentalmente, que indicou também, para este parâmetro, a faixa térmica de 36 a 38°C para a fase de ovo e de 32 a 34°C para a fase de pupa. As previsões em campo de eclosão das lagartas e emergência dos adultos (período lagarta-pupa) podem ser feitas com as constantes térmicas (K) obtidas em laboratório [76,5 graus-dias (GD) para a fase de ovo e 476,2 GD para o período lagarta-pupa], desde que sejam utilizados os dados de temperatura obtidos com a estação meteorológica automática e dados de microclima, para a fase de ovo e período lagarta-pupa, respectivamente. Os danos e as perdas na produção provocado por *D. saccharalis* independem do estágio fenológico das plantas de milho, porém a redução na produção de grãos é proporcional ao número de lagartas por planta utilizadas nas infestações, sendo essas reduções de 11; 17; 28 e 39% para 50; 100; 150 e 200 lagartas por planta. O raio de dispersão de *T. galloi* foi de 11,8 e 12,1 m, sendo a área de dispersão de 176m² e 187m², com as plantas de milho nos estádios v4-6 e v6-8, respectivamente.

Palavras-chave: Broca-da-cana; Constante térmica; Graus-dias; Prejuízos; Controle biológico; Parasitoide de ovos

ABSTRACT

Thermal requirements and damage of *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794) (Lepidoptera: Crambidae) in corn, and basis for its control with *Trichogramma galloi* Zucchi, 1988 (Hymenoptera: Trichogrammatidae)

The sugarcane borer *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794) (Lepidoptera: Crambidae) has become an important pest of corn in Brazil, with reports of outbreaks in many parts of the country in recent years. In view of this situation, this study aimed to: (a) determine the thermal limits of *D. saccharalis*; (b) determine the thermal constants (K) for the egg stage and caterpillar-pupa period estimated in field conditions, taking into consideration the microclimate conditions; (c) evaluate the damage and consequent production losses caused by infestation at different larval densities of *D. saccharalis* at two phenological stages of corn; and (d) determine the dispersal radius and area of *Trichogramma galloi* Zucchi, 1988 (Hymenoptera: Trichogrammatidae) in corn, aiming to control *D. saccharalis*. The results showed that the lower threshold temperature (Tt) of *D. saccharalis* was 14, 13 and 12 °C for the egg, larval and pupal stages, respectively. Optimal temperature ranges (Topt), estimated experimentally, were 30 to 32 °C for the egg and larval stages and 28 to 30 °C for the pupal stage. The upper threshold temperature (Tmax) was 35.4 °C for the larval stage estimated by the Logan-6 model. This was within the thermal range determined experimentally, which also indicated the thermal range for Tmax of 36 to 38 °C for the egg stage and 32 to 34 °C for the pupal stage. Larval hatching and adult emergence (caterpillar-pupa period) in the field can be predicted with thermal constants (K) obtained in the laboratory (76.5 degree-days) (DD) for the egg stage and 476.2 DD for the caterpillar-pupa period), provided that temperature data obtained from the automatic station and microclimate data for the egg stage and caterpillar-pupa period, respectively, are used. The damage caused by *D. saccharalis* was independent of the phenological stage of the corn plants, but the reduction in grain production was proportional to the number of larvae per plant used in the infestation, with reductions of 11, 17, 28 and 39% for 50, 100, 150 and 200 caterpillars per plant. The dispersal radius of *T. galloi* was 11.8 and 12.1 m, and the dispersal area was 176 m² and 187 m² with corn plants in the V4-6 and V6-8 stages, respectively.

Keywords: Sugarcane borer; Biological control; Egg parasitoids

1 INTRODUÇÃO

A intensificação e a expansão dos cultivos, devido à adoção de tecnologias como a irrigação, o uso de sementes melhoradas, a mecanização e o plantio direto, provocaram grandes mudanças na agricultura brasileira (PATERNIANI, 2006). A cultura do milho é um grande exemplo dessas mudanças, nos últimos 20 anos, o Brasil aumentou sua produção em mais de 50% com um acréscimo de apenas 2,5% na área plantada (COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO - CONAB, 2012), e este ano deverá ter 90% da área plantada no Brasil com cultivares transgênicas. Até a década de 80 os agricultores brasileiros tinham apenas uma safra de grãos (de novembro a março) por ano e atualmente, em muitas regiões, são realizadas de duas a três safras, chamadas de: “safra ou safrona” de outubro a janeiro; “safrinha” de fevereiro a maio e “safra de inverno” de junho a setembro (PARRA; KOVALESKI, 2006).

No entanto, a intensificação e a expansão das áreas cultivadas vêm causando alterações na entomofauna, com o surgimento de novas pragas e o aumento de importância de pragas antes consideradas secundárias, sendo possível listar diversos exemplos dentro dessa nova realidade agrícola (PARRA; OMOTO, 2005).

A broca-da-cana, *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794) (Lepidoptera: Crambidae) pode ser apontada como um desses exemplos, pois embora seja considerada a principal praga da cana-de-açúcar e apontada como praga secundária de diversas gramíneas cultivadas (GALLO et al., 2002). No entanto, nos últimos anos surtos populacionais de *D. saccharalis* vêm ocorrendo, com grande frequência, especialmente em plantios de milho (CRUZ, 2007). Esses surtos, também foram observados em outros países, como os EUA (CASTRO et al., 2004). No Brasil, apesar do aumento de sua importância ainda são escassas as informações relacionando *D. saccharalis* com a cultura do milho.

Esta é uma praga de difícil controle, pois a fase de pupa e a maior parte da fase de lagarta encontram-se protegidos no interior do colmo da planta (GALLO et al., 2002), exigindo mais precisão no momento de utilização de alguma tática de controle. A utilização do parasitoide de ovos *Trichogramma galloi* Zucchi, 1988 (Hymenoptera: Trichogrammatidae), é uma opção que pode ser viável aos produtores de milho, já que este é utilizado em cerca de 500.000 hectares de cana-de-açúcar com excelentes resultados (PARRA, 2010). Em milho, este parasitoide

pode ser utilizado em cultivos orgânicos e nos grandes plantios comerciais de forma isolada ou associada com o cultivo de plantas transgênicas, especialmente nas áreas de refúgio.

No entanto, para que a utilização deste inimigo natural tenha sucesso são necessários diversos estudos (PARRA, et al., 2002), os quais foram iniciados em 2006, com a seleção da linhagem de *T. galloi* e pesquisas relacionadas aos aspectos bioecológicos tanto do parasitoide como da praga (GEREMIAS, 2009). Na presente pesquisa, tais estudos continuaram com a verificação dos danos e perdas causados pela praga em milho, além de pesquisas visando determinar o momento (através de modelos de exigências térmicas) e o número de pontos de liberação de *T. galloi* necessários para que haja uma boa eficiência do parasitoide em campo no controle de *D. saccharalis* em milho.

Referências

CASTRO, B.A.; RILEY, T.J.; LEONARD, B.R.; BALDWIN, J. Borers galore: emerging pests in Louisiana corn, grain sorghum and rice. **Louisiana Agriculture**, Baton Rouge, v. 47, p. 4–6, 2004.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. Disponível em: <http://www.conab.gov.br/conteudos.php?a=1252&t=&Pagina_objcmsconteudos=2#A_objcmsconteudos>. Acesso em: 20 mar. 2013.

CRUZ, I. **A broca da cana-de-açúcar, *Diatraea saccharalis* em milho, no Brasil**. Sete Lagoas: Embrapa-CNPMS, 2007. 12p. (Circular Técnica, 90).

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

GEREMIAS, L.D. **Seleção de linhagens e efeito da temperatura e do alimento no desempenho de *Trichogramma galloi* Zucchi, 1988 (Hymenoptera: Trichogrammatidae) para o controle de *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794) (Lepidoptera: Crambidae) em milho**. 2009. 81p. Dissertação (Mestrado em Entomologia) - Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2009.

PARRA, J.R.P.; BOTELHO, P.S.M.; CORRÊA-FERREIRA, B.S.; BENTO, J.M.S. Controle Biológico uma visão inter e multidisciplinar. In: PARRA, J.R.P.; BOTELHO, P.S.M.; CORRÊA-FERREIRA, B.S.; BENTO, J.M.S. (Ed.). **Controle biológico no Brasil: parasitóides e predadores**. São Paulo: Manole, 2002. cap. 8, p. 125-142.

PARRA, J.R.P.; OMOTO, C. Cada vez mais terríveis. **Cultivar Grandes Culturas**, Pelotas, n. 69, p. 46-48, 2005.

PARRA, J.R.P.; KOVALESKI, A. Avanços no Manejo Integrado de Pragas (MIP) no Brasil. In: PATERNIANI, E. (Ed.). **Ciência, agricultura e sociedade**. Brasília: EMBRAPA Informação Tecnológica, 2006. cap. 3, p. 75-112, 2006.

PARRA, J.R.P. **Egg parasitoid commercialization in the New World**. In: CÔNSOLI, F.L.; PARRA, J.R.P.; ZUCCHI, R.A. (Ed.). Egg parasitoids in agroecosystems with emphasis on *Trichogramma*. Dordrecht: Springer, 2012. cap. 14, p. 373-388, 2010.

PATERNIANI, E. **Ciência, agricultura e sociedade**. Brasília: EMBRAPA Informação Tecnológica, 2006. 503p.

2 LIMITES TÉRMICOS E TEMPERATURA ÓTIMA DE DESENVOLVIMENTO DE *Diatraea saccharalis* (FABRICIUS, 1794) (LEPIDOPTERA: CRAMBIDAE)

Resumo

O objetivo deste trabalho foi estimar os limites térmicos inferior e superior e a temperatura ótima de desenvolvimento de *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794) (Lepidoptera: Crambidae) com vistas à utilização em programas de Controle Biológico. Para isto, foram realizados estudos, em laboratório, da duração e viabilidade dos estágios imaturos de *D. saccharalis* em temperaturas constantes (18, 20, 22, 25, 28, 30, 32, 34, 36, 38 e $40 \pm 1^\circ\text{C}$), mantidos em câmaras climatizadas, a fim de se estimarem os limiares térmicos, inferior (ou temperatura base) (T_b) e superior ($T_{m\acute{a}x}$) e a temperatura ótima de desenvolvimento (T_{opt}). Os dados de duração obtidos foram aplicados em dois modelos não lineares (Lactin e Logan-6) e um linear (graus-dias). Para validação dos modelos matemáticos utilizados, as faixas térmicas dos parâmetros T_b , T_{opt} e $T_{m\acute{a}x}$ foram determinadas por meio de observações biológicas, em experimentação em laboratório. O limiar térmico inferior (T_b) de *D. saccharalis* foi de 14; 13 e 12°C para as fases de ovo, lagarta e pupa, respectivamente. A temperatura ótima de desenvolvimento (T_{opt}), estimadas pelos modelos de Lactin e Logan-6 foram de $30,7$ e $30,2^\circ\text{C}$; para a fase de lagarta e $30,6$ e $30,4^\circ\text{C}$; para a fase de pupa, respectivamente, estes valores permaneceram dentro do intervalo determinado experimentalmente, que também indicou o intervalo de 30 a 32°C de T_{opt} para a fase de ovo. O limiar térmico superior de desenvolvimento ($T_{m\acute{a}x}$) foi de $35,4^\circ\text{C}$ para a fase de lagarta determinado pelo modelo de Logan-6 e que ficou dentro da faixa de temperatura estimada experimentalmente, que indicou o intervalo de 36 a 38°C para fase de ovo e de 32 a 34°C para a fase de pupa. Dentre os modelos avaliados o modelo de Logan-6 foi o que melhor se ajustou aos dados.

Palavras-chaves: Broca-da-cana; Exigências térmicas; Modelo não-linear; Graus-dias; Modelos de Lactin e Logan

Abstract

This study estimated the upper and lower thermal limits and optimal temperature for the development of *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794) (Lepidoptera: Crambidae), for use in biological-control programs. Laboratory studies were performed to determine the duration and viability of immature stages of *D. saccharalis* at constant temperatures of 18, 20, 22, 25, 28, 30, 32, 34, 36, 38 or 40 $\pm$ 1 $^{\circ}$ C. The immatures were kept in controlled conditions in order to estimate the lower (Tt) and upper (Tmax) temperature development threshold, and the optimal temperature (Topt). The data for duration were applied to two nonlinear (Logan and Lactin-6) and one linear (degree-days) model. To validate the mathematical models, the thermal ranges of the parameters Tt, Topt and Tmax were determined through biological observations, in laboratory testing. At 38 to 40 $^{\circ}$ C, 36 to 40 $^{\circ}$ C and 34 to 40 $^{\circ}$ C there was no development of the eggs, larvae and pupae, respectively. The duration of the immature stages was inversely proportional to the temperature up to a thermal limit, which varied for each pest stage; the lowest viability was observed in extreme temperatures, for all stages. The model Lactin estimated Tmax values above the experimentally verified temperature range. However, the estimated values for Tt by a linear model (degree days) and Tmax by a nonlinear model (Logan-6) were near the thermal range of development that was biologically determined for *D. saccharalis*; these values were 14 to 36 $^{\circ}$ C for the egg stage, 13 to 35 $^{\circ}$ C for larvae and 12 to 35 $^{\circ}$ C for the pupal stage, for Tt and Tmax, respectively. The experimentally determined optimal temperature (Topt) was between 30 and 32 $^{\circ}$ C for the egg and larval stages and 28 to 30 $^{\circ}$ C for the pupal stage.

Keywords: Sugarcane borer; Thermal requirements; Nonlinear model; Degree-days; Lactin and Logan models

2.1 Introdução

O conhecimento dos limites térmicos de desenvolvimento dos insetos pragas permite estudar a sua distribuição espacial e temporal, prever a suscetibilidade para a ocorrência da praga em diferentes regiões, possibilita melhor sincronização do processo de produção nos laboratórios de criação de inimigos naturais e permite prever a ocorrência em campo de estágios mais suscetíveis às táticas de controle (SPORLEDER et al., 2004; BAKER, 1991; PARRA, 2010).

Os limites térmicos de desenvolvimento podem ser estimados por meio de modelos matemáticos. O modelo de graus-dias de desenvolvimento proposto por Réaumur em 1735, citado por Silveira Neto et al. (1976) é uma equação linear, sendo o mais utilizado devido à sua facilidade de aplicação e por permitir estimar os valores de limiar térmico inferior de desenvolvimento ou temperatura base (T_b) e a constante térmica (K). Outros modelos matemáticos mais complexos vêm sendo estudados, sendo a maioria modelos não-lineares que podem ser empregados mesmo quando os estudos biológicos são realizados em condições de temperaturas extremas. Além disso, estes modelos podem estimar outros parâmetros como o limiar térmico superior de desenvolvimento ($T_{máx}$) e a temperatura ótima desenvolvimento (T_{opt}) (LOGAN et al., 1976; LACTIN et al., 1995; BRIERE et al., 1999).

No entanto, quando as estimativas de exigências térmicas determinadas em laboratório são validadas em campo, podem ocorrer discrepâncias de valores (PRUESS, 1983), sendo aceitáveis variações de 10-15% (HIGLEY; PEDIGO; OSTLIE, 1986). Essas variações podem ser devidas à ocorrência, em campo, de temperaturas que ultrapassam os limites térmicos inferior ou superior e que, portanto, interferem no somatório do acúmulo térmico (ALLEN, 1976). O limite térmico superior deve ser levado em consideração, pois em campo são frequentemente verificadas temperaturas próximas ou que o excedem (GOT; LABATTE; PIRY, 1996), especialmente em áreas de clima tropical, como o Brasil. Além disso, o conhecimento dos limites térmicos permite prever o potencial relativo da abundância e a distribuição geográfica dos insetos (SUTHERST; MAYWALD, 1985). Atualmente tem crescido o interesse em tais informações, visando à previsão de pragas em diferentes cenários climáticos (BAKER et al., 2000).

A broca-da-cana, *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794) (Lepidoptera: Crambidae) tem origem Neotropical e está distribuída no continente americano desde o norte da Argentina até o sul dos EUA (BOX, 1952). Os ataques desta praga no Brasil eram restritos aos plantios de cana-de-açúcar. No entanto, recentemente surtos de *D. saccharalis* vêm ocorrendo de forma frequente em plantios de milho, causando perdas na produção (CRUZ, 2007).

King; Brewer; Martin (1975) estudaram alguns parâmetros biológicos de *D. saccharalis*, em oito condições térmicas, nos EUA. Posteriormente, Mélo; Parra (1988a; 1988b) realizaram estudos semelhantes em cinco temperaturas e estimaram o limite térmico inferior (T_b) e a constante térmica (K) de desenvolvimento de *D. saccharalis* por meio do método do coeficiente de variação, proposto por Arnold (1959).

Neste trabalho, objetivou-se estimar os limites térmicos e a temperatura ótima de desenvolvimento de *D. saccharalis* com a utilização de modelos linear, não lineares e comparados com a determinação experimental biológica, com vistas à programas de Controle Biológico desta praga.

2.2 Material e Métodos

Os experimentos para obtenção dos valores da duração e viabilidade em diferentes temperaturas foram realizados no Laboratório de Biologia de Insetos do Departamento de Entomologia e Acarologia da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” (ESALQ) da Universidade de São Paulo (USP), em Piracicaba, estado de São Paulo.

2.2.1 Criação estoque de *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794) (Lepidoptera: Crambidae)

A criação em laboratório foi iniciada com lagartas coletadas em áreas de plantio de milho no município de Bambuí, estado de Minas Gerais, em 2009. Os insetos foram trazidos ao Laboratório de Biologia de Insetos do Departamento de Entomologia e Acarologia da ESALQ/USP e a população foi mantida na dieta artificial de Hensley e Hammond (1968) modificada (utilizando-se caraginata em substituição ao bacto-água como agente gelificante). As pupas obtidas foram

separadas por sexo (BUTT; CANTU, 1962) e colocadas em placas de Petri (8 cm de diâmetro) forradas com papel filtro umedecido. As placas de Petri contendo as pupas foram colocadas em gaiolas feitas de PVC (10 cm de diâmetro x 20 cm de altura), revestidas internamente com uma folha de papel sulfite e na parte superior tais gaiolas foram fechadas com outra placa de Petri.

Após a emergência, os adultos foram transferidos para outras gaiolas semelhantes às descritas anteriormente. Foram colocados 15 casais por gaiola, e foi fornecida água destilada por capilaridade por meio de um rolo dental para a alimentação dos mesmos, pois tais adultos não necessitam de carboidratos (PARRA et al., 1999). As fêmeas realizaram as posturas no papel sulfite que revestia o interior da gaiola sendo estas folhas trocadas diariamente.

As folhas contendo as posturas foram separadas com auxílio de uma tesoura e os ovos tratados com solução de sulfato de cobre por 2 minutos, para evitar o desenvolvimento de micro-organismos contaminantes. As posturas foram separadas de modo que parte foi utilizada para a continuidade da criação dos insetos e parte foi utilizada na realização dos experimentos.

As posturas utilizadas na criação de *D. saccharalis* foram colocadas em placas de Petri revestidas internamente com papel filtro umedecido com água destilada e fechadas com filme plástico PVC e fita adesiva. Estas placas de Petri contendo os ovos foram colocadas em câmaras climatizadas ($25\pm1^{\circ}\text{C}$, umidade relativa de $70\pm10\%$ e fotofase de 14h) até a eclosão das lagartas.

As lagartas recém-eclodidas foram transferidas com auxílio de pincel nº 00 para tubos de vidro (2,5 cm de diâmetro por 8 cm de altura) contendo 10 mL de dieta artificial de Hensley e Hammond (1968) modificada, sendo colocadas quatro lagartas por tubo. Após a transferência, os tubos foram colocados em suportes de madeira, e estes levados para a sala de desenvolvimento de lagartas até a pupação ($25\pm2^{\circ}\text{C}$, umidade relativa de $60\pm20\%$ e fotofase de 14 horas). As pupas obtidas foram retiradas, iniciando-se uma nova geração da praga.

2.2.2 Efeito da temperatura no desenvolvimento de *D. saccharalis*

Os experimentos foram realizados em duas etapas: a primeira visando determinar a duração e a viabilidade da fase de ovo e a segunda visando observar os mesmos parâmetros para as fases de lagarta e pupa.

Para a fase de ovo, posturas de *D. saccharalis* (<10h de idade) foram colocadas em placas de Petri (10 cm de diâmetro) revestidas internamente com papel filtro umedecido; cada placa continha quatro posturas com, no mínimo, 100 ovos. Para as fases de lagarta e pupa, lagartas recém-eclodidas (<8h) foram individualizadas e colocadas em tubos de vidro (8,5 cm de comprimento e 2,5 cm de diâmetro) contendo 10 mL de dieta artificial de Hensley e Hammond (1968) modificada, à base de germe de trigo e levedura de cerveja. As placas de Petri contendo os ovos, e os tubos contendo as lagartas, foram colocadas em câmaras climatizadas (umidade relativa $70\pm 5\%$ e fotofase 14h) em diferentes temperaturas (18, 20, 22, 25, 28, 30, 32, 34, 36, 38 e $40\pm 1^\circ\text{C}$). O ajuste da umidade relativa no interior das câmaras foi feito colocando-se recipientes plásticos com água. A confirmação das temperaturas e umidades nas câmaras foi feita com auxílio de termohigrômetro Testo® modelo 625.

Para a fase de ovo foram realizadas observações a cada 12 h e para as fases de lagarta e pupa foram realizadas observações a cada 24 h.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, e as temperaturas foram os tratamentos; para a fase de ovo, em cada temperatura, foram utilizadas quatro placas com quatro posturas contendo, sendo cada placa de Petri considerada uma repetição. Para as fases de lagarta e pupa foram feitos estudos em conjunto, sendo utilizadas 100 lagartas para cada temperatura; após a formação da pupa as avaliações continuaram até a emergência dos adultos.

2.2.3 Taxa de desenvolvimento e modelos matemáticos

Os valores da duração média foram individualmente registrados e separados para as fases de ovo, lagarta e pupa; a duração do ciclo total de desenvolvimento foi obtida com o somatório da duração média para cada fase nas diferentes temperaturas. As médias para cada fase foram transformadas em taxa de desenvolvimento, sendo:

$$\text{Taxa de desenvolvimento} = \frac{1}{\text{duração (dias)}} \quad (\text{equação 1})$$

A taxa de desenvolvimento foi determinada para aplicação nos modelos matemáticos, pois estes relacionam a mesma com a sua respectiva temperatura.

Diversos modelos de exigências térmicas, capazes de estimar diferentes parâmetros (T_b , T_{opt} e $T_{máx}$), são encontrados na literatura. Entretanto, como o objetivo da presente pesquisa foi determinar a faixa ótima de desenvolvimento de *D. saccharalis*, foram escolhidos os modelos mais adequados, especialmente para os insetos de clima tropical. Portanto, para se estimar o limite térmico inferior de desenvolvimento (T_b) foi empregado o método da hipérbole ou linear, que é amplamente utilizado e que apresenta excelentes resultados, inclusive com comprovação em condições de campo (HADDAD; PARRA; MORAES, 1999; ÁVILA; MILANEZ; PARRA, 2002; NAVA; PARRA, 2003). Os modelos não lineares escolhidos, Lactin e Logan-6 (LOGAN et al., 1976; LACTIN, et al., 1995), são capazes de estimar o parâmetro $T_{máx}$ e T_{opt} e foram aplicados em diversos trabalhos (SANDHU et al., 2010; GOLIZADEH; ZALUICK, 2012) (Tabela 1).

Como padronização, foram adotadas neste trabalho, as siglas: T_{opt} para a temperatura ótima de desenvolvimento e $T_{máx}$ para o limiar térmico superior de desenvolvimento, condizentes com a literatura internacional. Outros parâmetros obtidos foram constante térmica (K) e limiar térmico inferior de desenvolvimento ou temperatura base (T_b) (Tabela 1).

Tabela 1 - Parâmetros de estimados com a utilização de modelos linear e não lineares de desenvolvimento

Modelo - equação	Parâmetros estimados			
	T_b	T_{opt}	$T_{máx}$	K
Graus-dias $K = D \times (T - T_b)$	X	-	-	X
Lactin $\exp(\rho \times T) - \exp\{\rho \times T_{máx} - [(T_{máx} - T) / \Delta]\} + \lambda$	-	-	X	-
Logan-6 $mx \times \{\exp(\rho \times T) - \exp[\rho \times T_{máx} - (T_{máx} - T)/\Delta]\}$	-	-	X	-

K , constante térmica (GD (graus-dias)); D , duração (dias); T , temperatura ($^{\circ}\text{C}$); T_b , limiar térmico inferior de desenvolvimento ou temperatura base ($^{\circ}\text{C}$); ρ , taxa de desenvolvimento na temperatura ótima; $T_{máx}$, limiar térmico superior de desenvolvimento ($^{\circ}\text{C}$); Δ , número de graus acima da temperatura base sobre a qual a inibição térmica torna-se predominante; λ , constante empírica; mx , taxa de crescimento próxima à temperatura base.

Para as estimativas dos valores de T_b e K pelo modelo de graus-dias foram utilizados os dados de duração obtidos nas temperaturas de 18 a 32°C para a fase de ovo e de 18 a 30°C para as fases de lagarta e pupa, sendo as demais temperaturas omitidas. Isto é normalmente feito devido à linearidade da equação (HADDAD; PARRA; MORAES, 1999). Esta equação linear foi utilizada por meio do método da hipérbole (HADDAD; PARRA, 1984), sendo os valores de T_b e K obtidos pelas equações 2 e 3:

$$T_b = \frac{-a}{b} \quad (\text{equação 2})$$

$$K = \frac{1}{b} \quad (\text{equação 3})$$

Os procedimentos de cálculo para os modelos avaliados foram realizados no programa Statistica utilizando-se regressão linear e não linear especificada para cada equação; os gráficos foram feitos no programa R.

Os parâmetros T_b , T_{opt} e $T_{máx}$ foram também estimados experimentalmente, em função da viabilidade e da duração média das fases de desenvolvimento de *D. saccharalis* nas temperaturas estudadas. Considerou-se como a T_{opt} a faixa térmica na qual ocorreu a intersecção das temperaturas que apresentaram, estatisticamente, a menor duração e a maior viabilidade. Para a determinação de T_b e $T_{máx}$ foram feitas algumas estimativas: assim, para T_b foi considerado que o valor se encontra aquém de 18°C, pois nesta temperatura houve desenvolvimento do inseto (Tabelas 2 e 3). Para $T_{máx}$, como houve temperaturas em que o desenvolvimento não ocorreu, considerou-se como faixa térmica aquela situada entre tal temperatura e a anterior que permitiu o desenvolvimento do inseto.

2.2.4 Análises estatísticas

A normalidade e homocedasticidade dos dados de duração e viabilidade das fases de ovo, lagarta e pupa de *D. saccharalis*, foram verificadas por meio dos testes de Bartlett ($P < 0,05$) e Shapiro-Wilk ($P < 0,05$), respectivamente.

Os dados de duração foram comparados pelo modelo linear generalizado (MLG), seguindo a distribuição de Poisson, e em seguida foram feitas comparações múltiplas por contrastes com o teste de Tukey ($P < 0,05$).

Com os dados de viabilidade da fase de ovo foi realizada a análise de variância (ANOVA), e as médias comparadas pelo teste de Tukey ($P < 0,05$). Para as

viabilidades das fases de lagarta e pupa, os dados foram comparados por um modelo linear generalizado (MLG) seguindo a distribuição binomial. Os testes comparativos foram feitos a um nível de 5%, mantidos por meio do procedimento de Bonferroni. As análises estatísticas foram realizadas com o programa estatístico R versão 2.15.1 (R DEVELOPMENT CORE TEAM, 2007), excetuando-se a viabilidade da fase de ovo, que foi analisada no programa estatístico SAS versão 9.2 (SAS INSTITUTE, 2010).

2.3 Resultados e discussão

Foram observadas diferenças estatísticas significativas ($P < 0,05$) para o tempo de desenvolvimento e a viabilidade nas temperaturas estudadas para as diferentes fases de desenvolvimento de *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794) (Lepidoptera: Crambidae) (Tabelas 2 e 3).

Não foi verificado desenvolvimento da praga em todas as temperaturas avaliadas, havendo variações para cada fase. Para a fase de ovo ocorreu eclosão entre as temperaturas de 18 e 36°C; as lagartas se desenvolveram entre 18 e 34°C e as pupas entre 18 e 32°C. O tempo de desenvolvimento foi inversamente proporcional ao aumento da temperatura até o limite de 30°C para a fase de ovo e lagarta e de 28°C para pupa, sendo observado que acima destas temperaturas houve uma estabilização, chegando, em alguns casos, a um alongamento do período de desenvolvimento (Tabela 2).

As temperaturas que proporcionaram menor duração do período embrionário foram entre 30 e 36°C, não havendo diferenças estatísticas significativas apesar das avaliações, para esta fase, terem sido realizadas a cada 12 h, fazendo com que pequenas diferenças pudessem ser detectadas. O período médio de incubação, nas temperaturas entre 22 e 32°C, foram semelhantes aos observados por King; Brewer; Martin (1975). Nas temperaturas mais baixas (18 e 20°C) as durações médias foram de 24,01 e 13,50 dias. Mélo, Parra (1988a) verificaram 10,6 dias a 20°C. King; Brewer; Martin (1975) realizaram estudos a 15,6 e 18,4°C, temperaturas diferentes das utilizadas na presente pesquisa, e obtiveram duração média de 16,5 e 10,7 dias, respectivamente.

Na fase larval, a inadequação da temperatura, ficou demonstrada a partir de 34°C, quando ao invés de diminuir a duração, houve um aumento, para 37 dias. A

duração média do desenvolvimento larval foi menor nas temperaturas de 30 e 32°C. De modo geral, os valores encontrados nesta pesquisa foram semelhantes aos verificados por Mélo; Parra (1988a), exceto para 22°C. King; Brewer; Martin (1975) observaram, em condições térmicas semelhantes, durações médias inferiores.

Tabela 2 – Duração média de desenvolvimento (dias) ($\pm$ EPM) de ovos, lagartas, pupas e desenvolvimento total (ovo a adulto) de *D. saccharalis* em diferentes temperaturas em laboratório (UR $70 \pm 5\%$ e 14h de fotofase) em dieta artificial

Temperaturas (°C)	Estágios de desenvolvimento						Ovo-adulto*
	Ovo	n	Lagarta	n	Pupa	n	
18	24,01 $\pm$ 1,38 a	599	86,41 $\pm$ 1,85 a	66	23,83 $\pm$ 0,45 a	53	134,25
20	13,50 $\pm$ 0,06 b	648	45,15 $\pm$ 0,73 b	85	18,92 $\pm$ 0,22 b	74	77,58
22	9,06 $\pm$ 0,19 c	597	37,70 $\pm$ 0,69 c	97	13,04 $\pm$ 0,16 c	84	59,79
25	6,53 $\pm$ 0,02 d	734	27,16 $\pm$ 0,43 d	97	10,17 $\pm$ 0,10 d	92	43,87
28	6,13 $\pm$ 0,09 de	644	24,48 $\pm$ 0,36 e	94	8,92 $\pm$ 0,12 e	89	39,53
30	4,58 $\pm$ 0,04 f	615	20,47 $\pm$ 0,18 f	100	7,81 $\pm$ 0,12 e	94	32,86
32	4,44 $\pm$ 0,05 f	670	21,68 $\pm$ 0,48 f	93	8,23 $\pm$ 0,26 e	55	34,34
34	4,59 $\pm$ 0,02 f	795	37,50 $\pm$ 3,56 c	8	-	-	-
36	5,26 $\pm$ 0,30 ef	528	-	-	-	-	-
38	-	578	-	-	-	-	-
40	-	622	-	-	-	-	-
F	122,75		808,72		183,47		
gl	8		7		6		
P	<0,0001		<0,0001		<0,0001		

Médias seguidas pela mesma letra, nas colunas não são significativamente diferentes (Tukey, $P < 0,05$). O número de repetições é dado pelo valor de n. Ovo-adulto* é o somatório das médias das fases de ovo, lagarta e pupa.

Também para a fase de pupa foi observado fato semelhante, pois a partir de 28°C, houve uma estabilização do período de desenvolvimento, indicando a proximidade com a temperatura inadequada para o desenvolvimento desta fase (Tabela 2). O período de pupa, de modo geral, apresentou resultados semelhantes aos encontrados por King; Brewer; Martin (1975), porém diferem dos resultados observados por Mélo; Parra (1988a), que obtiveram durações médias menores nas diferentes temperaturas estudadas.

Essas diferenças nos resultados encontrados nestas pesquisas podem ter sido devidas às diferenças nas temperaturas utilizadas nos experimentos, às diferenças na origem das populações de *D. saccharalis* (CAMPBELL et al., 1974) ou mesmo devido às variações nutricionais conforme observados por Parra; Mihsfeldt (1992).

De modo geral, nas temperaturas extremas estudadas foram observadas menores viabilidades nas diferentes fases de desenvolvimento de *D. saccharalis*. A viabilidade foi baixa nas temperaturas de 18 a 20°C e entre 34 e 36°C para a fase de ovo; para a fase de lagarta, as temperaturas de 18 e 34°C demonstraram serem inadequadas, e 18 e 32°C proporcionaram baixas viabilidades para a fase de pupa. As temperaturas mais elevadas (36, 34 e 32°C) proporcionaram as menores viabilidades para ovo, lagarta e pupa, respectivamente, ficando abaixo de 60% (Tabela 3).

Considerando-se as mesmas temperaturas utilizadas nas diferentes pesquisas, a viabilidade média foi semelhante àquela observada por King; Brewer; Martin (1975) e superior à encontrada por Mélo; Parra, (1988a) nas diferentes fases de desenvolvimento do inseto. A alta viabilidade observada na presente pesquisa, especialmente para a fase larval, pode ter ocorrido devido à manutenção da umidade no interior das câmaras utilizadas nos experimentos.

Tabela 3 – Viabilidade média (%) ($\pm$ EPM) de ovos, lagartas, pupas e desenvolvimento total (ovo a adulto) de *D. saccharalis* em diferentes temperaturas em laboratório (UR 70 $\pm$ 5% e 14h de fotofase) em dieta artificial

Temperaturas (°C)	Estágios de desenvolvimento							
	Ovo	n	Lagarta	n	Pupa	n	Ovo-adulto*	
18	61,37 $\pm$ 1,38 c	599	66 $\pm$ 4,76 a	100	80,30 $\pm$ 4,93 ab	66	32,52	
20	90,50 $\pm$ 0,06 ab	648	85 $\pm$ 3,63 b	100	87,06 $\pm$ 3,66 a	85	66,97	
22	93,80 $\pm$ 0,19 a	597	97 $\pm$ 1,71 bc	100	86,60 $\pm$ 3,48 a	97	78,79	
25	94,70 $\pm$ 0,02 a	734	97 $\pm$ 1,71 bc	100	94,85 $\pm$ 2,26 a	97	87,13	
28	94,02 $\pm$ 0,19 a	644	94 $\pm$ 2,39 bc	100	94,68 $\pm$ 2,33 a	94	83,68	
30	95,57 $\pm$ 0,03 a	615	100 $\pm$ 0,00 c	100	94,00 $\pm$ 2,19 a	100	89,84	
32	91,60 $\pm$ 0,05 a	670	93 $\pm$ 2,56 bc	100	59,14 $\pm$ 5,13 b	93	50,38	
34	77,65 $\pm$ 0,02 b	795	8 $\pm$ 2,56 d	100	0 $\pm$ 0,00	8	-	
36	3,02 $\pm$ 0,30 d	528	0 $\pm$ 0,00	100	-	-	-	
38	0 $\pm$ 0,00	578	0 $\pm$ 0,00	100	-	-	-	
40	0 $\pm$ 0,00	622	0 $\pm$ 0,00	100	-	-	-	
F	117,96		418,52		457,07			
gl	8,00		7,00		6,00			
P ou χ^2	<0,0001		<0,0001		<0,0001			

Médias seguidas pela mesma letra, nas colunas não são significativamente diferentes teste de Tukey (P<0,05) para fase de ovo e modelo linear generalizada (MLG) (P<0,05) para as fases de lagarta e pupa. O número de repetições é dado pelo valor de n. Ovo-adulto* é o somatório das viabilidades médias das fases de ovo, lagarta e pupa.

A relação taxa de desenvolvimento e temperatura foi adequadamente descrita pelo modelo linear, pois o valor do coeficiente de determinação foi maior que 0,96 para todas as fases, demonstrando um bom ajuste do modelo (Tabela 4). Esse modelo utiliza apenas a parte linear da curva de desenvolvimento (18 a 32°C para fase de ovo e 18 a 30°C para as fases de lagarta e pupa) (Figura 1). Os limiares térmicos inferiores (°C) e as constantes térmicas (GD) para as fases de ovo, lagarta e pupa foram de 14 e 77; 13 e 347; 12 e 139, respectivamente (Tabela 4).

Com o modelo linear de desenvolvimento foram encontrados valores de T_b e K diferentes em relação àqueles estimados por Mélo, Parra (1988b). Isto pode ter ocorrido devido a diferenças nos valores de duração e ao método utilizado, naquele caso, ou seja, o do coeficiente de variação proposto por Arnold (1959), para determinar as exigências térmicas. O modelo linear é simples e fácil de ser aplicado sendo utilizado em diversos trabalhos (HADDAD; PARRA; MORAES, 1999; BERGANT; TRDAN, 2006), entretanto, ele não é capaz de estimar os parâmetros T_{opt} e $T_{máx}$ (LOGAN et al., 1976) e devido a essa deficiência foram utilizados, na presente pesquisa, outros modelos não lineares (Tabela-1), capazes de estimá-lo. Por esses motivos foram utilizados, neste estudo, modelos não lineares de desenvolvimento (Lactin e Logan-6) que permitem estimar o valor dos referidos parâmetros (Tabela 4).

Com o modelo não linear (Lactin e Logan-6) o coeficiente de determinação (R^2) obtido foi superior a 0,9 e o ajuste destes modelos aos dados é representado graficamente na Figura 2. Os valores estimados para a temperatura ótima de desenvolvimento (T_{opt}) foram de 33°C para fase de ovo e 31°C para as fases de lagarta e pupa, pelo modelo de Lactin, o modelo de Logan-6 estimou valor semelhante para fase de ovo e de 30°C para as fases de lagarta e pupa. Já os valores estimados para o limite térmico superior ($T_{máx}$) variaram de 39 a 44°C para fase de ovo; de 35 a 40°C para a fase de lagarta e de 35 a 43°C para a fase de pupa, sendo os maiores valores obtidos com o modelo de Lactin (Tabela 4). Como os estudos foram realizados em diversas temperaturas (de 18 a 40°C) e em pequenos intervalos (2 a 3°C) foi possível, estimar o parâmetro T_{opt} e verificar as faixas de temperaturas para os parâmetros T_b e $T_{máx}$ e assim validar tais estimativas obtidas pelos modelos matemáticos (Figura 1 Tabela 4). Como na menor temperatura estudada (18°C) ocorreu o desenvolvimento do inseto, para a temperatura base ou limiar térmico inferior de desenvolvimento (T_b) foi possível

determinar, experimentalmente, que este parâmetro encontra-se em temperatura menor do que 18°C, para todas as fases de *D. saccharalis*. A faixa térmica para a temperatura ótima de desenvolvimento (Topt) encontra-se entre 30 e 32°C, para as fases de ovo e lagarta e de 28 a 30°C para a fase de pupa da broca-da-cana. Nessas temperaturas foi verificado rápido crescimento de *D. saccharalis* e consequentemente as maiores taxas de desenvolvimento e viabilidades (Figura 1). Conti (2012) observou que as combinações de temperaturas que incluíam 28 e 30°C para a fase de lagarta e de 22; 25 e 28°C para a fase de pupa foram as que proporcionaram o mais rápido desenvolvimento e altas taxas reprodutivas entre as combinações avaliadas para a criação de *D. saccharalis*.

Foi verificado, também experimentalmente que o limite térmico superior situa-se de 36 a 38°C para fase de ovo, 34 a 36°C para a fase de lagarta e para a fase de pupa de 32 a 34°C (Figura 1). Mélo; Parra (1988b) sugeriram que Tmáx para todas as fases de desenvolvimento de *D. saccharalis* se encontra entre 32 e 35°C. Os valores de Tmáx obtidos experimentalmente demonstram ser a fase ovo a mais resistente a altas temperaturas em relação às fases de larva e pupa.

Figura 1 – Faixas térmicas obtidas biologicamente para os parâmetros Tb (temperatura base ou limiar térmico inferior) (↓) (a seta indica ser abaixo de 18°C), Topt (■) (temperatura ótima de desenvolvimento) e Tmáx (■) (limiar térmico superior de desenvolvimento) de *D. saccharalis* em laboratório, por meio da intersecção das viabilidades e desenvolvimentos nas diferentes temperaturas

Os hábitos de *D. saccharalis* podem auxiliar a justificar essa relação entre $T_{m\acute{a}x}$ e suas diferentes fases de desenvolvimento, pois as posturas ocorrem preferencialmente nas folhas (MORÉ, TRUMPER, PROLA; 2003) e, por ser a fase de ovo um estágio sem mobilidade, tal fase se encontra mais suscetível à influência de fatores abióticos, como a temperatura. A fase de pupa e cerca de quatro dos seis ínstaes larvais da praga permanecem protegidas no interior do colmo das plantas, onde as temperaturas são mais amenas (ANGELOCCI et al., 1996, GALLO et al., 2002).

Os valores de $T_{m\acute{a}x}$ estimados pelo modelo de Lactin foram de 44, 40 e 39°C para as fases de ovo, lagarta e pupa, respectivamente. Pelo modelo de Logan-6 estimaram-se valores de 39°C para fase de ovo e de 35°C para o desenvolvimento de lagarta e pupa, temperaturas que, exceto para fase de lagarta, situam-se acima da faixa térmica determinada experimentalmente (Tabela 4). Verifica-se que apesar do modelo de Lactin derivar da equação 6 de Logan (LACTIN et al., 1995), por meio de tal modelo foram estimados valores também acima do intervalo de temperatura obtidos experimentalmente para $T_{m\acute{a}x}$.

Tabela 4 – Parâmetros obtidos para diferentes modelos ou métodos utilizados para estimar as exigências térmicas de *D. saccharalis* em laboratório

Modelos ou método	Parâmetro	Ovo	Lagarta	Pupa
Lactin	ρ	$1,15 \times 10^{-2}$	$2,91 \times 10^{-3}$	$6,77 \times 10^{-3}$
	Δ	3,161	1,696	1,880
	λ	-1,183	-1,040	-1,088
	R^2	0,979	0,981	0,990
	Topt (°C)	32,95	30,73	30,64
	Tmáx (°C)	43,82	39,78	38,95
Logan-6	mx	$1,58 \times 10^{-2}$	$1,21 \times 10^{-2}$	$1,55 \times 10^{-1}$
	Ro	0,168	0,192	0,191
	Δ	5,617	5,150	5,234
	R^2	0,938	0,965	0,979
	Topt (°C)	33,04	30,23	30,43
	Tmáx (°C)	38,81	35,43	35,43
Linear	a	-0,185	-0,037	-0,087
	b	0,013	0,003	0,003
	Tb (°C)	14,20	13,02	12,03
	K (GD)	76,69	347,29	138,92
	R^2	0,968	0,969	0,983
	Topt (°C)	30 a 32	30 a 32	28 a 30
Experimentalmente *	Tb (°C)	< 18	< 18	< 18
	Topt (°C)	30 a 32	30 a 32	28 a 30
	Tmáx (°C)	36 a 38	34 a 36	32 a 34

K, constante térmica (GD (graus-dias)); D, duração (dias); T, temperatura (°C); Tb, limiar térmico inferior de desenvolvimento ou temperatura base (°C); ρ , taxa de desenvolvimento na temperatura ótima; Tmáx, limiar térmico superior de desenvolvimento (°C); Δ , número de graus acima da temperatura base sobre a qual a inibição térmica torna-se predominante; λ , constante empírica; mx, taxa de crescimento próxima à temperatura base. (*) Informação extraída da figura 1.

Portanto considerando-se os valores estimados pelos modelos linear (hipérbole) e não linear (Logan-6) e comprovados biologicamente, a faixa térmica de desenvolvimento de *D. saccharalis* é 14 a 36-38°C para fase de ovo, entre 13 e 34-36°C para as lagartas e de 12 a 32-34°C para fase de pupa. Sugerem-se estudos futuros visando verificar a capacidade reprodutiva desta praga nas temperaturas extremas, indicadas nesta pesquisa, para se comprovar a capacidade de adaptação e estabelecimento de *D. saccharalis* em ampla faixa térmica.

Figura 2 – Relação da taxa de desenvolvimento (dias⁻¹) e temperatura (°C) das diferentes fases de desenvolvimento de *D. saccharalis* descrita pelos modelos linear e não lineares utilizados

Embora sejam necessários mais estudos, levando-se em consideração as flutuações térmicas e as condições microclimáticas que ocorrem em campo, os resultados desta pesquisa podem ser usados em programas de Manejo Integrado de Pragas (MIP) fornecendo informações biológicas úteis para a previsão de surtos e crescimentos populacionais de *D. saccharalis*, podendo auxiliar no zoneamento da praga, verificando-se se as regiões onde ela está ocorrendo em milho são as mais favoráveis ao seu desenvolvimento. Além disso, também podem ser utilizados como suporte para estudo de ocorrência da praga em diferentes cenários climáticos (BAKER et al., 2000) e para controle de produção de inimigos naturais (PARRA et al., 2010).

2.4 Conclusões

- a) O limiar térmico inferior (T_b) de *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794) (Lepidoptera: Crambidae) é de 14; 13 e 12°C para as fases de ovo, lagarta e pupa, respectivamente;
- b) A temperatura ótima de desenvolvimento (T_{opt}) está situada no intervalo de 30 a 32°C para as fases de ovo e lagarta e de 28 a 30°C para a fase de pupa;
- c) O limiar térmico superior de desenvolvimento ($T_{máx}$) foi de 35,4°C para a fase de lagarta, determinado pelo modelo de Logan-6 e que permaneceu dentro do intervalo determinado experimentalmente, que indicou também a faixa térmica para este parâmetro entre 36 e 38°C para a fase de ovo e entre 32 e 34°C para a fase de pupa;
- d) Dentre os modelos avaliados o modelo de Logan-6 foi o que apresentou melhor ajuste, pois apresentou valores de T_{opt} e $T_{máx}$ próximos aos observados experimentalmente, para a maioria das fases de desenvolvimento de *D. saccccharalis*.

Referências

- ALLEN, J.C. A modified sine wave method for calculating degree days. **Environmental Entomology**, Lanham, v. 5, n. 3, p. 388-396, 1976.
- ANGELOCCI, L.R.; VILLA NOVA, N.A.; PARRA, J.R.P.; SILVEIRA NETO, S. Temperatura do colmo de cana-de-açúcar e sua relação com as condições meteorológicas na região de Piracicaba-SP. **Revista Brasileira de Agrometeorologia**, Santa Maria, v. 4, n. 2, p. 49-56, 1996.
- ARNOLD, C.Y. The determination and significance of the base temperature in a linear heat unit system. **American Society for Horticultural Science**, St. Joseph, v. 74, p. 430-445, 1959.
- ÁVILA, C.J.; MILANEZ, J.M.; PARRA, J.R.P. Previsão de ocorrência de *Diabrotica speciosa* utilizando-se o modelo de graus-dia de laboratório. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 37, n. 4, p. 427-432, 2002.

BAKER, C.R.B. The validation and use of a life-cycle simulation model for risk assessment of insect pests. **European and Mediterranean Plant protection Organization, Paris**, v. 21, p. 615-622. 1991.

BAKER, R.H.A.; SANSFORD, C.E.; JARVIS, C.H.; CANNON, R.J.C.; MACLEOD, A.; WALTER, K.F.A. The role of climatic mappig in predicting the potential geographical distribution of non-indigenous pests under current and future climates. **Agriculture, Ecosystem and Environment**, Amsterdam, v. 82, p. 57-71, 2000.

BERGANT, K.; TRDAN, S. How reliable are thermal constants for insect development when estimated from laboratory experiments? **Entomologia Experimentalis et Applicata**, Dordrecht, v. 120, n.3, p. 251-256, 2006.

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

BRIERE, J.F.; PRACROS, P.; LE ROUX, A.Y.; PIERRE, J.S. A novel rate model of temperature-dependent development for arthropods. **Environmental Entomology**, Lanham, v. 28, n. 1, p. 22-29, 1999.

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

CAMPBELL, A.; FRAZER, B.D.; GILBERT, N.; GUTIERREZ, A.P.; MACKAUER, M. Temperature requirements of some aphids and their parasites. **Journal of Applied Ecology**, Oxford, v. 11, n. 2, p. 431-438, 1974.

CONTI, B.F. **Exigências térmicas e monitoramento de *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794) (Lepidoptera: Crambidae), como suporte ao seu controle biológico**. 2012. 120p. Tese (Doutorado em Entomologia) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2012.

CRUZ, I. **A broca da cana-de-açúcar, *Diatraea saccharalis* em milho, no Brasil**. Sete Lagoas: Embrapa-CNPMS, 2007. 12p. (Circular Técnica 90).

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

GOLIZADEH, A.; ZALUICKI, M.P. Estimating temperature-dependent developmental rates of potato tuberworm, *Phthorimaea operculella* (Lepidoptera: Gelechiidae). **Insect Science**, Xangai, v. 19, n. 5, p. 609-620, 2012.

GOT, B.; LABATTE, J.M.; PIRY, S. European corn borer (Lepidoptera: Pyralidae) development time model. **Environmental Entomology**, Lanham, v. 25, n. 2, p. 310-320, 1996.

HADDAD, M.L.; PARRA, J.R.P. **Métodos para estimar os limites térmicos e a faixa ótima de desenvolvimento das diferentes fases do ciclo evolutivo de insetos**. Agricultura e Desenvolvimento EMBRAPA/USP/FEALQ, 1984. 12p.

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

HENSLEY, S.D.; HAMMOND, A.M. Laboratory techniques for rearing the sugarcane borer on an artificial diet. **Journal of Economic Entomology**, College Park, v. 61, p. 1742-1743, 1968.

HIGLEY, L.G.; PEDIGO, L.P.; OSTLIE, K.R. DEGDAY: A program for calculating degree-days, and assumptions behind the degree-day approach. **Environmental Entomology**, Lanham, v. 15, n. 5, p. 999-1005, 1986.

KING, E.G.; BREWER, F.D.; MARTIN, D.F. Development of *Diatraea saccharalis* at constant temperatures. **Entomophaga**, Paris, v. 20, n. 3, p. 301-306, 1975.

LACTIN, D.J.; HOLLIDAY, N.J.; JOHNSON, D.L.; CRAIGEN, R. Improved rate model of temperature-dependent development by arthropods. **Environmental Entomology**, Lanham, v. 24, n. 1, p. 68-75, 1995.

LOGAN, J.A.; WOLLKIND, D.J.; HOYT, S.C.; TANIGOSHI, L.K. An analytic model for description of temperature dependent rate phenomena in arthropods. **Environmental Entomology**, Lanham, v. 5, n. 6, p. 1133-1140, 1976.

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

_____. Exigências térmicas e estimativa do número de gerações anuais da broca da cana-de-açúcar em quatro localidades canavieiras de São Paulo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 23, n. 7, p. 691-696, 1988b.

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

NAVA, D.E.; PARRA, J.R.P. Biology of *Cerotoma arcuatus* (Coleoptera: Chrysomelidae) and field validation of a laboratory model for temperature requirements. **Journal of Economic Entomology**, College Park, v.96, n.3, p.609-614, 2003.

PARRA, J.R.P.; MIHSFELDT, L.H. Comparasion of artificial diets for rearing the sugarcane borer. In: ANDERSON, T.E.; LEPPLA, N.C. (Ed.) **Advances in insect rearing for research and pest management**. Oxford: Westiew Press/Oxford & IBH Publishing cap. 12, p. 195- 228, 1992.

PARRA, J.R.P.; MILANO, P.; CÔNSOLI, F.L.; GRACIANO, N; HADDAD, M.L. Efeito da nutrição de adultos e da umidade na fecundidade de *Diatraea saccharalis* (Fabr.) (Lepidoptera: Crambidae). **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Jaboticabal, v. 28, n.1, p. 49-57, 1999.

PARRA, J.R.P. Mass rearing of egg parasitoids for biological control programs. In: CÔNSOLI, F.L.; PARRA, J.R.P.; ZUCCHI, R.A. (Ed.) **Egg parasitoids in agroecosystem with emphasis on Trichogramma**. New York: Springer, 2010. p. 267-292.

PRUESS, K.P. Day-degree methods for pest management. **Environmental Entomology**, Lanham, v. 12, n. 3, p. 613-619, 1983.

R DEVELOPMENT CORE TEAM. **R**: A language and environment for statistical computing. Vienna: R Foundation for Statistical Computing, 2007. Disponível em: <<http://www.R-project.org>>. Acesso em: 13 jun. 2010.

SANDHU, H.S.; NUESSELY, G.S.; WEBB, S.E.; CHERRY, R.H.; GILBERT, R.A. Temperature-dependent development of *Elasmopalpus lignosellus* (Lepidoptera: Pyralidae) on sugarcane under laboratory conditions. **Environmental Entomology**, Laham, v. 39, n. 3, p. 1012-1020, 2010.

SAS Institute Inc., SAS 9.3. **Help and Documentation**, Cary, NC: SAS Institute Inc, 2010.

SILVEIRA NETO, S; NAKANO, O.; BARDIN, D.; VILLA NOVA, N.A. **Manual de ecologia de insetos**. São Paulo: Agronômica Ceres, 1976. 419p.

SPORLEDER, M.; KROSCHEL, J.; GUTIERREZ QUISPE, M.R.; LAGNAOUI, A.A. temperature-based simulation model for the potato tuberworm, *Phthorimaea operculella* Zeller (Lepidoptera: Gelechiidae). **Environmental Entomology**, Lanham, v. 33, n. 3, p. 477-486, 2004.

SUTHERST, R.W.; MAYWALD, G.F. A computerized system for matching climates in ecology. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, Amsterdam, v. 13, p. 281-299, 1985.

3 VALIDAÇÃO DA CONSTANTE TÉRMICA PARA *Diatraea saccharalis* (FABRICIUS, 1794) (LEPIDOPTERA: CRAMBIDAE) EM CAMPO, PARA MILHO

Resumo

A validação da constante térmica, em graus-dias, é essencial para a correta aplicação desta técnica visando ao monitoramento de pragas em campo. A broca-da-cana, *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794) (Lepidoptera: Crambidae) é também importante praga do milho, causando danos significativos nesta cultura. No presente trabalho, foi determinada a constante térmica (K) para as fases de ovo e período lagarta-pupa em campo, em milho. Os valores obtidos foram comparados com a constante térmica estimada em laboratório a fim de validar este modelo. Para validação do modelo, foram utilizadas as temperaturas obtidas em estações meteorológicas automática, convencional e em condições microclimáticas (temperatura no interior do colmo das plantas). Para a previsão de eclosão de *D. saccharalis* a utilização dos dados de temperatura da estação meteorológica automática torna os resultados mais próximos aos de laboratório, sendo que para o período lagarta-pupa, o melhor resultado foi obtido com as temperaturas constatadas no interior dos colmos (microclima).

Palavras chaves: Broca-da-cana; Previsão de pragas; Temperatura; Constante térmica; Tipos de postos meteorológicos

Abstract

The determination of the thermal constant, in degree-days, is essential for monitoring a pest in the field. The sugarcane borer *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794) (Lepidoptera: Crambidae) is also an important pest of corn and causes significant damage to this crop. This study determined the thermal constant (K) for the stages of egg and caterpillar-pupa period in a cornfield. The values found were compared with the estimated thermal constant in the laboratory, in order to validate this laboratory model. To validate the model, we used the temperatures obtained from automatic and conventional weather stations and microclimatic conditions (temperature inside the stem of the plant). To predict the hatching of *D. saccharalis*, the use of temperature data from an automatic weather station provides results that are closer to those obtained in the laboratory. For the larva-pupa period, the best results were obtained with the temperatures measured inside the stems (microclimate).

Keywords: Sugarcane borer; Pest prediction; Temperature; Thermal constant; Types of weather stations

3.1 Introdução

A temperatura é o fator mais importante para o desenvolvimento de artrópodes (BRIERE et al., 1999). Devido a essa relação direta (temperatura x desenvolvimento), a temperatura ocupa lugar de destaque, dentre os componentes de um modelo matemático, visando à previsão da ocorrência de pragas (HIGLEY; PEDIGO; OSTILE, 1986; HADDAD; PARRA; MORAES, 1999).

O desenvolvimento de modelos da constante térmica levando-se em conta graus-dia é uma importante “ferramenta” do Manejo Integrado de Pragas (MIP) (HADDAD; PARRA; MORAES, 1999; ZOU; STOUT; RING, 2004; DIAZ et al., 2007), pois muitas vezes o insucesso no controle de pragas se deve à época inadequada de aplicação dos diferentes métodos de controle. O modelo em valores de graus-dias permite conhecer a dinâmica populacional da praga, definir o número de gerações que ocorrem por ano e determinar, com mais eficiência, a época de amostragem (NAVA; HADDAD; PARRA, 2005). Isto é extremamente importante quando se utilizam métodos de controle biológico, especialmente com parasitoides, devido à especificidade destes agentes de controle de pragas.

Esse modelo envolvendo graus-dia é feito com base nos estudos de exigências térmicas realizados em laboratório ou campo (LEGG et al., 1998); no entanto, é importante que os dados obtidos em laboratório sejam validados em condições de campo, pois os resultados podem diferir, especialmente, devido ao fato da temperatura ser mantida constante em laboratório, o que não ocorre em campo; tal diferença entre o tempo de desenvolvimento em temperaturas constantes (laboratório) e flutuantes (campo) depende da temperatura média, da amplitude térmica e da frequência da flutuação térmica (CAMPBELL et al., 1974), sendo essa diferença maior em condições térmicas extremas, temperaturas menores que o limiar térmico inferior de desenvolvimento (T_b) e/ou acima do limiar térmico superior de desenvolvimento ($T_{máx}$), e as possíveis diferenças nas condições microclimáticas que não são registradas em campo (BEASLEY; ADAMS, 1996; NAVA; PARRA, 2003).

Devido aos danos causados pelos ataques de *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794) (Lepidoptera: Crambidae) em milho (CASTRO et al., 2004; CRUZ, 2007), este trabalho tem como objetivo validar o modelo da constante térmica em graus-dias obtido em laboratório.

3.2 Material e métodos

Foram realizadas duas etapas experimentais em anos distintos, em plantios de milho híbrido Agrocere® AG5055, no município de Piracicaba, estado de São Paulo, Brasil.

A população de *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794) (Lepidoptera: Crambidae) utilizada nos experimentos foi coletada no município de Bambuí, estado de Minas Gerais, em plantio de milho. A criação estoque da broca-da-cana foi mantida em dieta artificial de Hensley e Hammond (1968) modificada (substituindo-se o bacto-água por caraginata), no Laboratório de Biologia de Insetos do Departamento de Entomologia e Acarologia da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” (ESALQ) da Universidade de São Paulo (USP).

3.2.1 Primeira etapa

Foi realizada na Fazenda Areão, pertencente à ESALQ (22° 41' 39" latitude sul e 47° 38' 43" longitude oeste, elevação de 555 m), entre os meses de janeiro e abril de 2011. O plantio foi realizado em uma área de aproximadamente 10 hectares, utilizando-se o espaçamento de 0,8 m entre linhas e sete plantas por metro linear. Nenhum tipo de aplicação de produtos fitossanitários foi feito.

Para verificar a duração do período embrionário de *D. saccharalis* 100 plantas de milho, 30 dias após o plantio, foram marcadas com uma fita colorida e em cada planta foi colocada uma gaiola, contendo em seu interior uma fêmea de *D. saccharalis* com dois ou três dias de vida, previamente acasalada. As infestações foram realizadas no terço superior das plantas e na face adaxial das folhas, sempre no fim da tarde, pois a oviposição ocorre durante a noite (WALKER, 1965). No dia seguinte, pela manhã as gaiolas contendo as fêmeas foram removidas.

Para evitar a predação dos ovos e facilitar a contagem das lagartas eclodidas, ao redor de cada postura foi aplicada uma camada de cola (“sticky”). Cerca de quatro dias após a infestação, foi feita a contagem do número de ovos em cada planta, tempo suficiente para o escurecimento dos ovos, devido ao desenvolvimento embrionário, o que facilita a contagem em campo.

Diariamente, no final da tarde (às 18 h), foi contado o número de lagartas eclodidas e em seguida estas foram retiradas e descartadas, para que não fossem contadas novamente.

A duração do período lagarta-pupa foi determinada com a infestação das plantas de milho com lagartas recém-eclodidas (<12 h) de *D. saccharalis* que foram coletadas na criação estoque do laboratório e colocadas em recipientes plásticos (50 mL), totalizando 200 lagartas por recipiente. Cada recipiente foi revestido internamente com papel filtro umedecido e continha pedaços de folhas de milho para a alimentação das lagartas. Os recipientes contendo as lagartas permaneceram em câmaras climatizadas (temperatura de $25 \pm 1^\circ\text{C}$, umidade de $70 \pm 10\%$ e fotofase de 14 h) por dois dias. Esse procedimento foi realizado para diminuir a mortalidade em campo das lagartas recém-eclodidas após a infestação. Ao final deste período, os recipientes contendo as lagartas foram levados ao campo, no início da manhã, para a infestação das plantas. Foram infestadas 100 plantas com 200 lagartas cada. As folhas de milho, com as lagartas, foram colocadas na bainha da última folha aberta, próxima ao colmo.

Para a captura dos adultos e determinação do período lagarta-pupa, foi utilizado um aparato feito com plástico, fita adesiva dupla face e fios de arame (Figura 1). Esse dispositivo foi colocado nas plantas quando foram observados orifícios de saída feitos pelas lagartas, indicativo de que estas estavam próximas da fase de pupa (PINTO; PARRA; OLIVEIRA, 2004). Estes dispositivos foram diariamente verificados no final da tarde (às 18 h) e a data de emergência dos adultos de *D. saccharalis* foi registrada.

Figura 1 – Aparato feito de plástico, fita adesiva dupla face e fios de arame colocado no colmo das plantas de milho no orifício de saída feito por *D. saccharalis* para coleta dos adultos emergidos

3.2.2 Segunda etapa

A segunda etapa experimental foi realizada em área de plantio de milho do Departamento de Entomologia e Acarologia pertencente à ESALQ (22° 42' 480" latitude sul e 47° 37' 340" longitude oeste, elevação de 573 m) entre os meses de outubro de 2012 a janeiro de 2013. O plantio, espaçamento utilizado e os tratos culturais foram semelhantes aos realizados na etapa anterior, com uma área plantada de 0,8 hectare.

Nessa área, as infestações para estudo da duração da fase de ovo e do período lagarta-pupa também foram realizadas nas plantas, sendo essas infestações e posteriores avaliações realizadas de forma semelhante á da primeira etapa.

3.2.3 Coleta e análise dos dados

As coletas dos dados meteorológicos foram feitas junto ao Departamento de Engenharia de Biosistemas da ESALQ, que possui um posto meteorológico contendo uma estação meteorológica automática e uma estação meteorológica convencional, localizado dentro do campus da ESALQ (latitude: 22° 30'30"S, longitude: 47°38'00"W e altitude: 546 m). Para a primeira etapa experimental foram utilizados os dados de temperatura média diária e da temperatura obtida a cada 15 minutos pela estação meteorológica automática.

Na segunda etapa, além dos dados obtidos junto às estações meteorológicas foi utilizado o *data logger* Testo® modelo 625 equipado com uma sonda para coleta dos dados de temperatura. Esta sonda foi colocada no terço inferior da planta, no interior do colmo. O orifício para colocação da sonda contendo o sensor no colmo foi feito com um prego de aproximadamente 0,3 cm de diâmetro. Os sensores foram fixados às plantas por meio de uma fita adesiva e o aparelho realizou leituras de temperaturas a cada 30 minutos.

Os somatórios do acúmulo térmico em campo para se determinar as constantes térmicas (K) foram feitas de forma direta pela fórmula:

$$K = D \times (T - Tb)$$

Onde:

K = constante térmica em graus-dias (GD);

D = duração (dias);

T = temperatura registrada (°C);

Tb = temperatura base inferior ou limiar térmico inferior (°C).

Os dados do limiar térmico inferior (Tb) utilizados nas fórmulas foram obtidos no capítulo 2: "Limites térmicos e temperatura ótima de desenvolvimento de *Diatraea sacharalis* (Fabricius, 1794) (Lepidoptera: Crambidae)". Para a fase de ovo foi utilizada Tb; de forma direta, por outro lado, devido ao hábito do inseto de broquear o colmo e permanecer a maior parte de seu estágio larval e todo o estágio pupal no interior do mesmo não há possibilidade de separação da duração das fases de lagarta e pupa sem a abertura do colmo e consequente destruição da planta, e por

este motivo foi calculado o limiar térmico inferior (T_b), considerando-se as duas fases de desenvolvimento juntas (fase de lagarta + fase de pupa), com os dados de duração obtidos do capítulo 2, sendo $T_b = 12,67^{\circ}\text{C}$.

Os valores de K obtidos em campo foram comparados com os valores estimados em laboratório (Capítulo 2), sendo estes, para fase de ovo, de 76,5GD e para o período lagarta-pupa de 476,2 GD.

Para a comparação dos valores das constantes térmicas obtidas em laboratório com os valores verificados em campo foi utilizado o teste estatístico de Dunnett ($P < 0,05$), considerando-se K estimado em laboratório como padrão. As análises estatísticas foram feitas com o uso do programa SAS 9.2 (SAS INSTITUTE, 2010).

3.3 Resultados e discussão

Foi verificado, em condições de campo que o acúmulo térmico necessário para a eclosão das lagartas foi próximo ao valor obtido em laboratório, apresentando uma diferença menor que 20% considerando-se as temperaturas obtidas nas duas estações meteorológicas, automática e convencional (Tabela 1). No entanto, apenas o valor da constante térmica (K) obtido com a estação automática não apresentou diferença estatística em relação ao laboratório, demonstrando que os dados de temperatura obtidos com esta estação tornam a previsão para a eclosão de lagartas de *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794) (Lepidoptera: Crambidae) mais precisa, com uma diferença em relação aos dados obtidos em laboratório de apenas 2% (Tabela 1).

Tabela 1 – Constante térmica (K) em graus-dias (GD) ($\pm$ EPM) para a fase de ovo de *D. saccharalis* estimada em laboratório e comparado com valores calculados em campo de milho com dados de temperaturas coletadas pela estação meteorológica convencional e automática

Origem dos dados de temperatura		Diferença em relação ao laboratório	
	K (GD)	GD	%
Laboratório	Estação convencional		
	89,14 $\pm$ 0,65 *	12,65	16,53
	76,5 $\pm$ 0,65		
	Estação automática		
	78,05 $\pm$ 0,48 ^{NS}	1,55	2,03

* diferença estatística significativa pelo teste de Duncan ($P < 0,05$); NS diferença estatística não significativa;

Para o período lagarta-pupa a constante térmica (K) registrada durante o período de realização dos experimentos em campo, considerando os dados de temperaturas obtidos com a estação meteorológica automática e convencional, variou de 577 a 625 GD no primeiro ano e de 572 a 600 GD no segundo ano, respectivamente, apresentando diferenças de 20 a 31% em relação à constante térmica estimada em laboratório. (Tabela 2). Essa elevada variação representa um erro na previsão de emergência de *D. saccharalis* de cerca de 8 a 12 dias, considerando-se uma temperatura média diária de 25°C.

Os dados microclimáticos coletados no interior do colmo das plantas apresentaram pequena variação em relação ao acúmulo térmico necessário para a emergência de *D. saccharalis* estimado em laboratório, com uma diferença de 31 GD, o correspondente a 6% do valor determinado em laboratório.

Tabela 2 – Constante térmica (K) em graus-dias (GD) ($\pm$ EPM) para o período lagarta-pupa de *D. saccharalis* estimada em laboratório e comparada com valores calculados em campo de milho com dados de temperaturas coletadas pela estação meteorológica convencional e automática

Origem dos dados de temperatura		Diferença em relação ao laboratório	
	K (GD)	GD	%
Laboratório 476,20 $\pm$ 0,98	Estação convencional (ano 1)	148,98	31,29
	625,18 $\pm$ 5,39 *		
	Estação automática (ano 1)	101,13	21,24
	577,33 $\pm$ 5,03 *		
	Estação convencional (ano 2)	124,15	26,07
	600,35 $\pm$ 5,98 *		
	Estação automática (ano 2)	96,14	20,19
	572,34 $\pm$ 5,57 *		
	Microclima	30,73	6,45
	506,93 $\pm$ 4,70 ^{NS}		

* diferença estatística significativa pelo teste de Duncan ($P < 0,05$); NS diferença estatisticamente não significativa

Segundo Higley et al.(1986), diferenças entre o acúmulo térmico obtido em laboratório e em campo de 10 a 15% são consideradas adequadas para a tomada de decisão no manejo de pragas. Portanto, para a fase de ovo de *D. saccharalis* a utilização dos dados provenientes da estação automática (erro de 2%) pode ser utilizada, visando ao monitoramento desta fase; para o período lagarta-pupa (erro de 6%) a previsão da praga deve ser baseada em dados microclimáticos.

Essas diferenças (1,5 e 30,7 GD) representam, no primeiro caso, menos de um dia de erro no monitoramento de eclosão das lagartas de *D. saccharalis* e, no segundo caso cerca de três dias, visando ao monitoramento da emergência dos adultos, em campo.

Os dados de temperatura coletados pela estação automática apresentaram valores, em geral, menores do que os dados obtidos com a estação convencional (Figura 2).

Figura 2 – Variação das temperaturas médias coletadas pelas estações automática e convencional da ESALQ em Piracicaba-SP, registradas durante o período experimental para o desenvolvimento da fase de ovo de *D. saccharalis* em milho

As variações nas constantes térmicas para o período lagarta-pupa entre o primeiro e o segundo anos podem ter ocorrido devido às diferentes estações do ano nas quais foram realizados os experimentos, desde a infestação das lagartas a avaliação da emergência dos adultos. No primeiro ano, os experimentos foram realizados entre o verão e o outono e no segundo ano entre a primavera e o verão. Carvalho (2003) verificou variações na constante térmica ao longo das estações do ano para o bicho-furão dos citros *Gymnandrosoma aurantianum* (Lima, 1927) (Lepidoptera: Tortricidae) em campo, sendo propostos fatores de correção diferentes para cada estação.

Este aspecto pode ser considerado em estudos posteriores, já que devido à intensificação do cultivo de milho no Brasil atualmente, essa cultura vem, sendo plantada durante o ano inteiro (PARRA; OMOTO, 2005).

Assim como para a fase de ovo, durante o período lagarta-pupa, as temperaturas registradas pela estação convencional foram superiores às temperaturas registradas pela estação automática (Figura 3).

Figura 3 – Variação das temperaturas médias coletadas pelas estações automática e convencional da ESALQ em Piracicaba-SP, registradas durante o período experimental para o desenvolvimento do período lagarta-pupa de *D. saccharalis* em milho

As diferenças nas temperaturas entre os dois tipos de estações meteorológicas foram também constatadas por Sentelhas et al. (1997) que, como na presente pesquisa, verificaram que a estação convencional registra temperaturas superiores às registradas pela estação automática.

Durante o segundo ano, com a utilização do *datta logger* foram coletados os dados de temperatura do interior do colmo do milho (microclima) (Figura 4), local onde *D. saccharalis* passa a maior parte do desenvolvimento (GALLO et al., 2002). Tais temperaturas foram menores que as obtidas com as estações meteorológicas automática e convencional. Estes dados microclimáticos apresentaram elevada amplitude térmica quando comparados com os dados obtidos nas estações meteorológicas (Figura 4), pois apesar do sensor do *datta logger* estar localizado no interior do colmo do milho a exposição constante, deste colmo, durante o dia a insolação faz com que ele aqueça rapidamente. Por outro lado, durante a noite, há um rápido resfriamento devido à exposição direta do colmo ao ar frio. Como os sensores das estações automáticas e convencionais encontram-se protegidos no interior de abrigos meteorológicos os resultados aí obtidos são diferentes dos dados microclimáticos (ANGELOCCI et al., 1996).

Figura 4 – Variação das temperaturas médias coletadas pelas estações automática e convencional e microclima (interior do colmo) da ESALQ em Piracicaba-SP, registradas durante o período experimental para o desenvolvimento do período lagarta-pupa de *D. saccharalis* em milho

A utilização de estações meteorológicas automatizadas vem crescendo em todo o mundo (TANNER, 1990) e os dados provenientes deste tipo de estação podem contribuir para o aumento da precisão da previsão de ocorrência de pragas, como observado na presente pesquisa para a fase de ovo de *D. saccharalis*. No entanto, o hábito da praga também deve ser levado em consideração, pois as temperaturas registradas podem, muitas vezes, não refletir aquelas nas quais a praga está submetida. Isto ficou evidente quando se compararam os valores das constantes térmicas para o período lagarta-pupa de *D. saccharalis* em milho. Essas diferenças microclimáticas também foram verificadas por Angelocci, et al. (1996) em cana-de-açúcar, que referiram que as condições atmosféricas, o tamanho das plantas, a temperatura do ar e o local no colmo onde foram feitas as medições de temperatura podem interferir na temperatura do interior do colmo das plantas.

É importante salientar que os cálculos dessas diferenças entre a constante térmica (K) estimada em laboratório e o campo são feitos com a média; no entanto, há diferenças na duração entre os indivíduos de uma população, sendo que para a fase de ovo a duração variou de 8 a 10 dias, com mais de 70% das lagartas eclodindo 8 dias após a oviposição, com um acúmulo de cerca de 64 GD. Com os dados da estação meteorológica convencional o acúmulo térmico foi maior em cerca

de 6 GD, em relação ao valor obtido na estação meteorológica automática (Figura 5).

Figura 5 – Distribuição da porcentagem de lagartas eclodidas de *D. saccharalis* em função da duração da fase de ovo (dias) e do acúmulo térmico diário em graus-dias (GD) (parte superior do gráfico) com dados de temperaturas coletados pela estação convencional e automática, em plantio de milho em Piracicaba-SP

Para o período lagarta-pupa, no primeiro ano de realização dos experimentos os adultos emergiram no intervalo de 41 a 70 dias após inoculação das lagartas nas plantas, havendo o pico de emergência (77% dos adultos) entre 51 e 60 dias, quando foram acumulados cerca de 660 e 704 GD, considerando-se as temperaturas registradas pelas estações automática e convencional, respectivamente (Figura 6). Para o segundo ano o pico de emergência (83% dos adultos) ocorreu entre 41 e 50 dias após a inoculação das lagartas (Figura 7). A maior concentração de emergência no segundo ano se deveu às temperaturas mais elevadas registradas durante o período, havendo, como consequência um encurtamento do ciclo do inseto. Apesar desta diferença, em dias, os acúmulos térmicos necessários para a emergência de *D. saccharalis* podem ser considerados próximos, entre os dois anos de realização dos experimentos (Figuras 6 e 7).

Figura 6 – Distribuição da porcentagem de emergência de *D. saccharalis* em função da duração do período lagarta-pupa (dias) e de suas constantes térmicas (K) em graus-dias (GD) (parte superior do gráfico) calculadas com os dados de temperaturas coletados pela estação convencional e automática, em plantio de milho em Piracicaba-SP

Figura 7 – Distribuição da porcentagem de emergência de *D. saccharalis* em função da duração do período lagarta-pupa (dias) e de suas constantes térmicas (K) em graus-dias (GD) (parte superior do gráfico) calculadas com os dados de temperaturas coletados pela estação convencional e automática e microclima (interior do colmo), em plantio de milho em Piracicaba-SP

Portanto, ficou comprovado que as constantes térmicas (K) estimadas em laboratório por meio do modelo de constante térmica em graus-dias para *D.*

saccharalis podem ser utilizadas em campo, desde que sejam levadas em consideração a origem dos dados de temperatura utilizados no somatório do acúmulo térmico.

Os estudos que visam validar modelos graus-dias de desenvolvimento em campo são ainda escassos na literatura, principalmente quando se consideram as condições microclimáticas onde a praga permanece durante todo ou parte de seu ciclo biológico. Este trabalho fornece importantes informações a respeito do desenvolvimento de *D. saccharalis* em campo, sobre plantas de milho. Estas informações poderão, no futuro, ser utilizadas como parte de um modelo matemático visando à previsão de ocorrência desta praga.

3.4 Conclusão

- a) Os valores das temperaturas do ar registradas pelas estações meteorológicas automática e convencional variam;
- b) A temperatura do interior do colmo do milho é, em geral, menor do que a temperatura do ar, apresentando elevada amplitude térmica;
- c) Para a fase de ovo a temperatura do ar, obtida com a estação automática, é a mais adequada para prever a eclosão de *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794) (Lepidoptera: Crambidae);
- d) As determinações microclimáticas (no interior do colmo do milho) são as mais adequadas para prever a emergência de *D. saccharalis* em milho.

Referências

ANGELOCCI, L.R.; VILLA NOVA, N.A.; PARRA, J.R.P.; SILVEIRA NETO, S. Temperatura do colmo de cana-de-açúcar e sua relação com as condições meteorológicas na região de Piracicaba-SP. **Revista Brasileira de Agrometeorologia**. Santa Maria, v. 4, n. 2, p. 49-56, 1996.

BEASLEY, C.A.; ADAMS, C.J. Field-based, degree-day model for pink bollworm (Lepidoptera: Gelechiidae) development. **Journal of Economic Entomology**, College Park, v. 89, n. 4, p. 881-890, 1996.

BRIERE, J.F.; PRACROS, P.; LE ROUX, A.Y.; PIERRE, J.S. A novel rate model of temperature-dependent development for arthropods. **Environmental Entomology**, Lanham, v. 28, n. 1, p. 22-29, 1999.

CAMPBELL, A.; FRAZER, B.D.; GILBERT, N.; GUTIERREZ, A.P.; MACKAUER, M. Temperature requirements of some aphids and their parasites. **Journal of Applied Ecology**, Oxford, v. 11, n. 2, p. 431-438, 1974.

CARVALHO, D.R. **Comparação de métodos de monitoramento e controle do bicho-furão, *Ecdytolopha aurantiana* (Lima,1927) (Lepidoptera,Trotricidae), em citros**. 2003. 38p. Dissertação (Mestrado em Entomologia) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2003.

CASTRO, B.A.; RILEY, T.J.; LEONARD, B.R.; BALDWIN, J. Borers galore: emerging pests in Louisiana corn, grain sorghum and rice. **Louisiana Agriculture**, Baton Rouge, v. 47, p. 4-6, 2004.

CRUZ, I. **A broca da cana-de-açúcar, *Diatraea saccharalis* em milho, no Brasil**. Sete Lagoas: Embrapa-CNPMS, 2007. 12p. (Circular Técnica 90).

DIAZ, B.M.; MUÑIZ, M.; BARROS, L.; FERERES, A. Temperature thresholds and thermal requirements for development of *Nasonovia ribisnigri* (Hemiptera: Aphididae). **Environmental Entomology**, Lanham, v.36, n. 4, p. 681-688, 2007.

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

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

HENSLEY, S.D.; HAMMOND, A.M. Laboratory techniques for rearing the sugarcane borer on an artificial diet. **Journal of Economic Entomology**, College Park, v. 61, p. 1742-1743, 1968.

HIGLEY, L.G.; PEDIGO, L.P.; OSTLIE, K.R. DEGDAY: A program for calculating degree-days, and assumptions behind the degree-day approach. **Environmental Entomology**, Lanham, v. 15, n. 5, p. 999-1005, 1986.

LEGG, D.E.; STRUTTMANN, S.M.; van VLEET, S.M.; LLOYD, J. E. Bias and variability in lower developmental thresholds estimated from field studies. **Environmental Entomology**, Lanham, v. 91, n. 4, p. 891-898, 1998.

NAVA, D.E.; PARRA, J.R.P. Biology of *Cerotoma arcuatus* (Coleoptera: Chrysomelidae) and field validation of a laboratory model for temperature requirements. **Journal of Economic Entomology**, College Park, v.96, n. 3, p.609-614, 2003.

NAVA, D.E.; HADDAD, M.L.; PARRA, J.R.P. Exigências térmicas, estimativa do número de gerações de *Stenoma catenifer* e comprovação do modelo em campo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. Brasília, v.40, n. 10, p.961-967, 2005.

PARRA, J.R.P.; OMOTO, C. Cada vez mais terríveis. **Cultivar Grandes Culturas**, Pelotas, n. 69, p. 46-48, 2005.

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

SAS Institute Inc., SAS 9.3. **Help and Documentation**, Cary, NC: SAS Institute Inc, 2010.

SENTELHAS, P.C.; MORAES, S.O.; PIEDADE, S.M.S.; PEREIRA, A.R.; ANGELOCCI, L.R.; MARIN, F.R. Análise comparativa de dados meteorológicos obtidos por estações convencional e automática. **Revista Brasileira de Agrometeorologia**, Santa Maria, v. 5, n. 2, p. 215-221, 1997.

TANNER, B.D. Automated weather stations. **Remote Sensing Reviews**, New York, v. 5, n. 1, p. 73-98, 1990.

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

ZOU, L.; STOUT, M.J.; RING, D.R. Degree-day models for emergence and development of the rice water weevil (Coleoptera: Curculionidae) in southwestern Louisiana. **Environmental Entomology**, Lanham, v. 33, n. 6, p. 1541 – 1548, 2004.

4 DANOS CAUSADOS POR DIFERENTES DENSIDADES LARVAIS DE *Diatraea saccharalis* (FABRICIUS, 1794) (LEPIDOPTERA: CRAMBIDAE) EM DOIS ESTÁDIOS FENOLÓGICOS DE MILHO

Resumo

Este trabalho teve como objetivo verificar os danos e as perdas na produção causadas pelo ataque de *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794) (Lepidoptera: Crambidae) em milho. Os estudos foram realizados em campo com quatro níveis de infestação (50, 100, 150 e 200 lagartas/planta) em dois estádios fenológicos da cultura, v6-8 e v8-10 e o controle (sem infestação). Após as infestações, foram avaliados o número de orifícios de saída, causados por *D. saccharalis*, o número de plantas tombadas e a produção de grãos. Os danos e as perdas na produção de grãos causados por *D. saccharalis* independe dos estádios fenológicos da cultura, dentre os estudados. As viabilidades do período lagarta-pupa, em infestações artificiais, são baixas e independem do número de lagartas inoculadas. As perdas na produção de grãos de milho são diretamente proporcionais ao número de lagartas colocadas na planta, sendo de 11; 17; 28 e 39% para infestações com 50; 100; 150 e 200 lagartas/planta, respectivamente. Há correlação entre a porcentagem de plantas atacadas x porcentagem de redução da produção de grãos, portanto, essa relação pode ser utilizada para indicação do nível de controle de *D. saccharalis* em milho.

Palavras chaves: Broca-da-cana; Pragas do milho; Infestação em campo; Perdas causadas

Abstract

This study assessed the damage and production losses caused by the attack of *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794) (Lepidoptera: Crambidae) in corn (maize). The studies were conducted in the field with four infestation levels (50, 100, 150 and 200 larvae/plant) in two corn phenological stages, v6-8 and v8-10, and a control (uninfested). After the infestation was accomplished, we assessed the number of outlet holes caused by *D. saccharalis*, the number of plants fallen plants and the grain production. The damage caused by *D. saccharalis* was independent of the phenological stages studied. Larval-pupal viability in these artificial infestations was low, and independent of the number of larvae inoculated. Losses of corn production were directly proportional to the number of larvae introduced in the plant: 11, 17, 28 and 39% for infestations with 50, 100, 150 and 200 larvae/plant, respectively. The percentage of damaged plants was correlated with the percentage of reduction of grain production; therefore, this relationship can be used to indicate the control level of *D. saccharalis* in corn.

Keywords: Sugarcane borer; Corn pests; Infestation in the field

4.1 Introdução

A broca-da-cana-de-açúcar, *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794) (Lepidoptera: Crambidae) é a principal praga da cana-de-açúcar, *Saccharum officinarum* L., no continente americano (REAGAN, 2001; GALLO et al., 2002). No entanto, desde o final da década de 90, surtos populacionais vêm ocorrendo em diferentes regiões do Brasil, especialmente no Sul, Sudeste e Centro-Oeste, causando prejuízos também na cultura do milho, *Zea mays* L. (CRUZ, 2007). Esta mudança na sua ocorrência também foi registrada recentemente nos EUA, onde *D. saccharalis*, antes restrita à região Sudeste em áreas cultivadas com cana-de-açúcar (MAREDIA; MIHM, 1991), vem aumentando sua distribuição geográfica no Centro-Sul dos EUA, com destaque para os estados da Luisiana e Texas (CASTRO et al., 2004) e se tornando a espécie predominante, com uma ocorrência de mais de 70% entre as brocas de milho coletadas na Luisiana (HUANG; LEONARD; BALDWIN, 2006).

No Brasil, diversas razões são apontadas para o aumento dos ataques de *D. saccharalis* no milho, destacando-se: o aumento da área cultivada com cana-de-açúcar, principal hospedeira desta praga e a expansão e intensificação das áreas plantadas com outras espécies hospedeiras como o próprio milho, sorgo, *Sorghum* sp., milheto, *Pennisetum glaucum* (L.) e capim elefante, *Pennisetum purpureum* Schumacher.

Os danos causados por *D. saccharalis* são variados, pois as lagartas podem atacar diversas partes das plantas de milho como folhas, estruturas de crescimento; espiga, alimentando-se dos grãos e/ou broqueando o sabugo (PEAIRS; SAUNDERS, 1979; FLYNN; REAGAN, 1984; RODRIGUES DEL-BOSQUE; SMITH Jr.; BROWNING, 1990). Porém, a maior parte dos danos ocorre quando as lagartas alimentam-se do colmo. Nesta região podem ter uma ação mecânica, quando o colmo fica enfraquecido e susceptível ao tombamento causado pelo vento ou ação fisiológica, impedindo o fluxo normal de água e nutrientes pela planta, provocando redução na quantidade e no peso das espigas (LÓPEZ; PIESCHACÓN; MUNÓZ, 1989; MUNÓZ, 1990; GRECO, 1995a; SERRA; TRUMPER, 2006).

Perdas na produção devido aos danos causados pela broca-da-cana em milho chegaram a 39% no Nordeste do México (RODRIGUES DEL-BOSQUE; SMITH Jr.; BROWNING, 1988). Na Luisiana, devido aos surtos populacionais de

espécies de lepidópteros brocas, incluindo *D. saccharalis*, as perdas estimadas em muitos campos foram maiores do que 30% (CASTRO et al., 2004).

Este trabalho visa estimar os danos causados pela *D. saccharalis* e consequente perda na produção na cultura do milho com quatro densidades de lagartas em dois estádios fenológicos da cultura.

4.2 Material e métodos

O experimento foi realizado na Fazenda Areão pertencente à Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” (ESALQ), localizada em Piracicaba-SP (22° 41’ 716” latitude sul e 47° 38’ 478” longitude oeste), durante a safra 2009/10. O milho híbrido Dow AgroSciences® 2A106 foi plantado em uma área de 800m², utilizando-se o espaçamento de 0,8m entre linhas e oito sementes por metro linear. Para o experimento foram utilizadas 18 linhas com aproximadamente 70m de comprimento.

Após 15 dias da germinação foram realizados os desbastes, permanecendo sete plantas por metro linear, equivalendo a uma população de 87.500 plantas por hectare. O controle de plantas daninhas foi realizado de forma manual. Devido ao ataque de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797) foi necessária a pulverização com inseticida, sendo utilizado o produto comercial Tracer® (37,5ml/ha).

Foram realizadas infestações com lagartas de 1º ínstar de *D. saccharalis* em dois diferentes estádios fenológicos de milho (v6-8 e v8-10 da escala proposta por Magalhães; Durães, 2006), havendo um intervalo de cerca de 15 dias entre as infestações; para cada estágio fenológico, as plantas de milho foram infestadas com 50, 100, 150 ou 200 lagartas por planta.

As lagartas recém-eclodidas de *D. saccharalis*, obtidas na criação do Laboratório de Biologia de Insetos do Departamento de Entomologia e Acarologia da ESALQ, mantidas em dieta artificial de Hensley e Hammond (1968) modificada (substituindo-se o bacto-ágar por caraginata), foram separadas, contadas (conforme cada tratamento) e colocadas em copos plásticos descartáveis Copaza® modelo P-100ml; no interior de cada copo havia um pedaço de papel filtro umedecido e pedaços de folhas de milho para alimentação das lagartas. Vinte e quatro horas após, os copos contendo as lagartas, foram levados à área experimental em caixas de isopor. As liberações foram realizadas no início da manhã ou no final da tarde,

evitando-se as horas mais quentes do dia. As folhas de milho, com as lagartas, foram colocadas na bainha da última folha aberta, próxima ao colmo.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado em quatro blocos no esquema fatorial (2x4) com tratamento adicional (controle, sem infestação), perfazendo nove tratamentos. Cada parcela foi constituída por cinco linhas e somente as três linhas centrais foram infestadas sendo as demais consideradas como bordaduras. Em cada linha foram infestadas 13 plantas, realizando-se as avaliações em sete delas, pois além das bordaduras entre linhas foram utilizadas três plantas como bordaduras entre parcelas.

As espigas foram colhidas, levadas ao Laboratório de Biologia de Insetos e debulhadas com auxílio de um debulhador manual de milho; os grãos debulhados foram colocados em sacos de papel etiquetados e secos em estufa regulada a $50\pm 10^{\circ}\text{C}$, até que o peso dos grãos estivesse constante. Em seguida, os grãos foram pesados em balança convencional. O peso obtido foi convertido em produção por hectare, multiplicando-se o valor médio da produção de cada parcela pela população de plantas que seria obtida em um hectare utilizando-se os mesmos espaçamentos do experimento.

Em campo, no momento da colheita das espigas, foram também avaliados o número de plantas tombadas (considerando-se tombadas quando a planta estava caída com a espiga chegando a tocar o solo) e o número de orifícios de saída causados por *D. saccharalis*. O número de plantas tombadas foi analisado utilizando-se a proporção de plantas tombadas pelo número de plantas na parcela.

As interações envolvendo: estádios fenológicos, número de lagartas por planta, plantas tombadas e número de orifícios de saída do adulto por planta foram submetidas à análise de variância e ao teste F ($P<0,05$). As interações que apresentaram significância foram desdobradas e os tratamentos foram comparados pelo teste de Tukey ($P<0,05$). Foi feita análise de regressão e o teste F das regressões para verificar qual dos modelos se ajustou aos dados. Os parâmetros número de orifícios/planta e plantas tombadas para o controle foram comparados com a interação (número de lagartas/planta x estádios fenológicos) pelo intervalo de confiança. O orifício de saída é realizado por lagartas de último ínstar (GUEVARA; WIENDL, 1980), portanto foi estimada a viabilidade lagarta-pupa de acordo com o número de lagartas colocadas e os orifícios de saída existentes sendo essas

viabilidades estimadas e comparadas pelo teste de Tukey ($P < 0,05$). Foram realizadas análises de correlação entre percentual de plantas atacadas por *D. saccharalis* (plantas com orifícios mais plantas tombadas) e a redução na percentual da produção de grãos, para os dois estádios fenológicos. As análises estatísticas e os gráficos foram feitos utilizando-se o programa estatístico R versão 2.15.1 (R DEVELOPMENT CORE TEAM, 2007).

4.3 Resultados e discussão

Foram verificadas diferenças significativas em todos os parâmetros avaliados em relação ao número de lagartas colocadas por planta. Os estádios fenológicos estudados (v6-8 e v8-10), assim como a interação estádios fenológicos e número de lagartas (Ef x N) não tiveram efeito sobre o número de orifícios por planta, número de plantas tombadas e nem sobre a produção (Tabela 1).

Em todos os parâmetros avaliados foram observadas diferenças significativas entre o controle (plantas não infestadas) e as plantas infestadas, independente do número de lagartas colocadas e do seu estágio fenológico (Tabela 1)

Tabela 1 – Efeito do número de lagartas de *D. saccharalis* (N), dos estádios fenológicos (Ef), da interação (Ef x N) e do controle (sem infestação) na interação estágio fenológico x número de lagartas, sobre o número de orifícios, plantas tombadas e produção em plantas de milho em campo híbrido Dow AgroSciences® 2A106

Fonte de variação	Orifícios por planta		Plantas tombadas		Produção	
	gl	F	gl	F	gl	F
Bloco	3	4,79*	3	5,47 NS	3	7,31*
Número de lagartas (N)	3	12,54*	3	11,39*	3	17,38*
Estádio fenológico (Ef)	1	2,15 NS	1	3,45 NS	1	1,76 NS
Ef x N	3	0,85 NS	3	0,61 NS	3	0,18 NS
Controle x (Ef x N)	-	**	-	**	1	20,94*

* diferença significativa pelo teste F ($P < 0,05$); NS diferença estatisticamente não significativa; ** Os parâmetros número de orifícios e de plantas tombadas tiveram valor zero para o controle e não sendo feita, portanto a análise de variância.

Estudos semelhantes também não verificaram variações significativas na produção entre os estádios fenológicos de milho infestados (FLYNN; REAGAN; OGUNWOLU, 1984; MAREDIA; MIHM, 1991). No entanto, assim como na presente pesquisa as plantas infestadas apresentaram menor produção de grãos em relação

ao controle (plantas não infestadas) (Tabela 1). A perda na produção ocorreu devido ao ataque de *D. saccharalis* se concentrar nos colmos das plantas que são responsáveis, nos estádios fenológicos estudados, pelo armazenamento de sólidos solúveis utilizados posteriormente durante a formação dos grãos (FANCELLI; DOURADO NETO, 2004).

O controle, obviamente, apresentou menor número de plantas tombadas e menor número de orifícios que os demais tratamentos (Tabela 2). O número de orifícios por planta foi superior nos tratamentos de 150 e 200 lagartas em relação às plantas infestadas com 50 lagartas. A infestação com 200 lagartas também proporcionou elevado número de plantas tombadas (Tabela 2). Esses dois parâmetros (número de orifícios e plantas tombadas) podem estar relacionados, pois o número de orifícios de saída permite inferir sobre a quantidade de lagartas que sobrevivem até os últimos ínstares (PINTO; PARRA; OLIVEIRA, 2004) e que, portanto causam os maiores danos ao colmo, levando ao tombamento das plantas.

Tabela 2 – Efeito do número de lagartas de *D. saccharalis* colocadas por planta sobre o número de orifícios e plantas tombadas e na produção de milho híbrido Dow AgroSciences® 2A106 em campo

Tratamentos	Orifícios por planta	Plantas tombadas	Produção (Kg/ha)
50	1,39 ± 0,17 a	5,87 ± 1,01 a	6.179,34 ± 225,48 a
100	2,25 ± 0,28 ab	6,37 ± 1,00 ab	5.754,09 ± 270,43 ab
150	2,93 ± 0,37 bc	8,25 ± 1,18 ab	4.966,51 ± 207,06 bc
200	3,98 ± 0,55 c	9,12 ± 1,22 b	4.201,40 ± 288,15 c
Controle	0 (0 - 0) A ¹	0 (0 - 0) A ¹	6938,35 ± 209,82 A ²
Ef x N	2,64 (2,14 - 3,14) B ¹	7,41 (6,23 - 8,58) B ¹	5275,334 ± 169,41 B ²

Médias seguidas pela mesma letra não são significativamente diferentes pelos testes de Tukey ($P < 0,05$) para as letras minúsculas; ⁽¹⁾ os parâmetros número de orifícios e de plantas tombadas para o controle foram zero, portanto a comparação deste tratamento com a interação Ef. x N foi feita por meio do intervalo de confiança, apresentado entre parênteses, sendo que as médias seguidas pela mesma letra não são significativamente diferentes; ⁽²⁾ médias seguidas pela mesma letra não são significativamente diferentes pelo teste F ($P < 0,05$).

Além disso, os orifícios causados por *D. saccharalis* permitem a entrada de microorganismos que podem contribuir para o enfraquecimento do colmo (GRECO, 1995b). As perdas causadas pelo tombamento das plantas podem ser maiores onde são realizadas colheitas mecanizadas, devido à queda das espigas e seu não aproveitamento durante a colheita (MIGUÉZ; ALONSO, 1984). Outro tipo de dano

ocorre quando a espiga fica em contato com o solo o que pode provocar a sua germinação e o aparecimento de plantas de milho em épocas indesejadas.

O melhor ajuste para representar a relação do número de lagartas colocadas por planta e o número de orifícios ($F = 37,35$; $gl = 1$; $P < 0,05$) e de plantas tombadas ($F = 5,88$; $gl = 1$; $P < 0,05$) devido ao ataque de *D. saccharalis*, em campo foi obtido com a equação linear (Figura 1).

Com a equação obtida por meio da regressão foi verificado que foi necessária a infestação com cerca de 30 lagartas para causar um orifício na planta. O número de plantas tombadas aumenta linearmente chegando a cerca de nove, quando as plantas foram infestadas com 200 lagartas.

Figura 1 – Relação da infestação com diferentes densidades de lagartas de *D. saccharalis* por planta e: (A) número de orifícios de saída, causados pela broca-da-cana; (B) número de plantas tombadas, em plantas de milho em campo

O número de plantas tombadas pode ter sofrido influência da época na qual foram feitas as avaliações, pois há um aumento do tombamento das plantas com o atraso da colheita ou da avaliação, a partir da maturidade fisiológica da planta (DAGOBERTO, 1989 citado por SERRA; TRUMPER, 2006). Este parâmetro também é afetado pela ocorrência de fortes ventos, que auxiliam na queda das plantas atacadas (GALLO, et al., 2002).

A produção de grãos apresentou relação inversa com o aumento do número de lagartas de *D. saccharalis* colocadas por planta de milho, com perdas médias na produção chegando a 11; 17; 28 e 39%, considerando-se 50; 100; 150 e 200 lagartas, respectivamente. Esta relação, número de lagartas x produção, foi também melhor descrita pela equação linear ($F = 51,32$; $gl = 1$; $P < 0,05$) (Figura 2), que apesar do ajuste significativo obtido, deve-se considerar que os danos causados por essas infestações obedecem a limites mínimos (quando não há diferença na produção em relação ao controle) e máximos (quando mesmo com aumento na quantidade de lagartas colocadas há uma estabilização na porcentagem de redução de produção), por isso sugere-se que em estudos futuros sejam avaliadas densidades de infestações diferentes a fim de se determinar tais limites.

Figura 2 – Relação da infestação com diferentes densidades de lagartas de *D. saccharalis* e a produção de grãos de milho (Kg/ha) em campo

Realizando infestações artificiais Flynn; Reagan; Ogunwolu (1984) verificaram reduções de 10 a 14% na produção, enquanto que Maredia; Mihm (1991) observaram diminuição variável de 16 a 24%. Em infestações naturais, as perdas na produção de milho provocadas pelo ataque de *D. saccharalis* variaram de 1 a 12% observadas por Flynn; Reagan (1984) e López; Pieschacón; Muñoz (1989).

A estimativa de perda na produção em função do número de lagartas na planta (Figura 2) deve levar em consideração a viabilidade lagarta-pupa, pois os maiores danos causados por *D. saccharalis* devem ocorrer nos últimos ínstaes, com alimentação das lagartas grandes no interior do colmo. Por esse motivo, a sobrevivência de *D. saccharalis* foi indiretamente determinada, para cada densidade de infestação nos diferentes estádios fenológicos, por meio do número de orifícios de saída, pois apenas lagartas de últimos ínstaes fazem esta abertura no colmo para a posterior saída do adulto (GUEVARA; WIENDL, 1980) (Tabela 3).

As viabilidades estimadas observadas foram baixas, variando de 1,5 a 2,9%, não havendo diferenças significativas para as diferentes densidades de infestação e estádios fenológicos (Tabela 3), demonstrando não ter ocorrido efeito da densidade larval sobre a viabilidade. A baixa sobrevivência de *D. saccharalis*, em campo nas plantações de milho, também foi constatada por Flynn; Reagan; Ogunwolu (1984), que observaram que mais de 90% da mortalidade larval ocorre nos primeiros 15 dias após a infestação. Observações preliminares realizadas também constataram baixa viabilidade larval após a infestação artificial das plantas.

Essa baixa viabilidade se deve à elevada mortalidade causada por fatores abióticos, pois em condições controladas de temperatura, umidade e luminosidade em cana-de-açúcar a viabilidade larval chegou a 25% (CONTI, 2012), e bióticos devido à presença de inimigos naturais de *D. saccharalis* em áreas plantadas com milho (TERÁN, 1983; FENOGLIO; TRUMPER, 2007)

Devido a essa baixa viabilidade, as plantas foram infestadas com elevado número de lagartas (chegando a 200 lagartas/planta), o que causou redução na produção de 39%, superior ao observado em trabalhos registrados na literatura (FLYNN; REAGAN; OGUNWOLU, 1984; MAREDIA; MIHM, 1991).

Tabela 3 – Viabilidade média estimada do período lagarta-pupa de *D. saccharalis* com diferentes densidades de infestação (50, 100, 150 e 200 lagartas/planta) em dois estádios fenológicos (v6-8 e v8-10) de plantas de milho híbrido Dow AgroSciences® 2A106 em campo

Densidade de infestação		Viabilidade estimada (%)
Estádio fenológico v6-8	50	2,88 ± 0,63 aA
	100	2,30 ± 0,40 aA
	150	2,38 ± 0,62 aA
	200	2,08 ± 0,47 aA
Estádio fenológico v8-10	50	2,70 ± 0,66 aA
	100	2,21 ± 0,49 aA
	150	1,52 ± 0,25 aA
	200	1,91 ± 0,35 aA

Médias seguidas pela mesma letra, minúscula (gl = 3; F = 0,78 para v6-8; gl = 3; F = 1,19 para v8-10) no mesmo estágio fenológico e maiúsculas (gl = 7; F = 1,05) entre os estádios fenológicos, não são significativamente diferentes pelo teste de Tukey (P<0,05).

Foi verificada correlação da porcentagem de plantas atacadas e redução na produção de grãos nos estádios v6-8 (t = 3,69; gl = 14; P < 0,001; ρ = 0,70) e v8-10 (t = 3,30; gl = 14; P < 0,001; ρ = 0,66) (Figura 3). O melhor ajuste foi encontrado com a equação linear de regressão (F = 13,65; gl = 1; p < 0,05) (F = 10,89; gl = 1; p < 0,05), nos estádios fenológicos v6-8 e v8-10, respectivamente.

Com as equações obtidas podem ser estimadas as perdas na produção de grãos de milho em função da porcentagem de plantas atacadas. No estágio fenológico v6-8, as perdas iniciam-se quando cerca de 27% das plantas são atacadas, enquanto que no estágio v8-10 as perdas iniciam-se a partir de 37% das plantas atacadas. A redução máxima na produção (quando ocorrem 100% das plantas são atacadas) é de cerca de 40 e 34%, nos estádios fenológicos v6-8 e v8-10, respectivamente (Figura 3).

A maior suscetibilidade a perdas na produção no estágio v6-8 ocorreu possivelmente, porque neste estágio é definido o número de óvulos e o tamanho das espigas e desta forma, o ataque de pragas pode reduzir seriamente o número potencial de sementes e o tamanho das espigas a serem colhidas (FANCELLI; DOURADO NETO, 2004; MAGALHÃES; DURÃES, 2006).

Figura 3 – Relação de plantas atacadas (%) por *D. saccharalis* e redução na produção de grãos (%) (A) plantas infestadas no estágio v6-8; (B) plantas infestadas no estágio v8-10, em campo

A porcentagem de plantas atacadas pode ser utilizada como indicativo pelos agricultores das perdas na produção de milho decorrentes dos ataques de *D. saccharalis*. Apesar da necessidade de mais estudos, levando-se em consideração, especialmente, outras condições edafoclimáticas e cultivares de milho, a

porcentagem de plantas atacadas poderá ser utilizada no futuro como método de monitoramento de danos e na determinação de níveis de dano de *D. saccharalis* em milho.

A baixa viabilidade lagarta-pupa verificada indica que somente quando há grandes infestações de ovos e, por consequência de lagartas ocorrem perdas significativas na produção de milho, provocada pelo ataque de *D. saccharalis*. Tais observações também foram feitas em cana-de-açúcar, pois nesta cultura a inviabilidade da fase de ovo é o fator determinante na tendência populacional de *D. saccharalis* (BOTELHO, 1985).

Essas elevadas infestações podem ocorrer devido á presença constante de plantas hospedeiras, provocada pela intensificação dos cultivos e aumento das áreas de produção, especialmente com grãos e cana-de-açúcar (PARRA; OMOTO, 2004).

O ataque das lagartas de *D. saccharalis* no colmo das plantas impedem a passagem de nutrientes para as espigas, além de consumir as reservas armazenadas no colmo, provocando redução na quantidade e no peso das espigas (LÓPEZ; PIESCHACÓN; MUNÓZ, 1989; MUNÓZ, 1990; GRECO, 1995; FANCELLI; DOURADO NETO, 2004; SERRA; TRUMPER, 2006).

O presente estudo demonstra que as perdas na produção e os danos causados pelo ataque de *D. saccharalis* em milho são significativos e proporcionais ao número de lagartas presentes. Entretanto, tais perdas (produção de grãos) e danos (número de orifícios de saída por planta e número de plantas tombadas) independem do estágio fenológicos estudados do milho. No entanto, há correlação da porcentagem de plantas atacadas e a redução na porcentagem de produção de grãos, sendo esta correlação diferente entre os estádios fenológicos estudados. Foi demonstrado que o parâmetro porcentagem de plantas atacadas pode ser utilizado como método de amostragem a fim de serem adotados níveis de dano e controle.

4.4 Conclusões

- a) Os danos e a redução da produção de grãos causados por *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794) (Lepidoptera: Crambidae) em milho independe do estágio fenológico da cultura;

- b) As viabilidades larvais-pupais para os estudos de danos com infestações artificiais em milho por *D. saccharalis*, são baixas (1,5 a 2,9%) dependendo da população inicial;
- c) As perdas na produção de grãos de milho são diretamente proporcionais ao número de lagartas colocadas na planta, sendo de 11; 17; 28 e 39% para infestação com 50; 100; 150 e 200 lagartas/planta, respectivamente;
- d) Há correlação entre a porcentagem de plantas atacadas x porcentagem de redução da produção de grãos e que poderá servir como indicação do nível de controle de *D. saccharalis* em milho.

Referências

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

CASTRO, B.A.; RILEY, T.J.; LEONARD, B.R.; BALDWIN, J. Borers galore: emerging pests in Louisiana corn, grain sorghum and rice. **Louisiana Agriculture**, Baton Rouge, v. 47, p. 4–6, 2004.

CONTI, B.F. **Exigências térmicas e monitoramento de *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794) (Lepidoptera: Crambidae), como suporte ao seu controle biológico**. 2012. 120p. Tese (Doutorado em Entomologia) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1985.

CRUZ, I. **A broca da cana-de-açúcar, *Diatraea saccharalis* em milho, no Brasil**. Sete Lagoas: Embrapa-CNPMS, 2007. 12p. (Circular Técnica 90).

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

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

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

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

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

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

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

GUEVARA, L.A.C.; WIENDL, F.M.F.M. Aspectos da biologia, em condições de campo, de broca da cana-de-açúcar. **Agropecuária Técnica**, Areia, v. 1, n. 1, p. 24-31, 1980.

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

HUANG, F.; LEONARD, B.R.; BALDWIN, J. Corn borers and transgenic Bt corn technology. **Louisiana Agriculture**, Baton Rouge, n. 49, p. 25-26, 2006.

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

MAGALHÃES, P.C.; DURÃES, F.O.M. **Fisiologia da produção de milho**. Local: EMBRAPA Milho e Sorgo: Sete Lagoas, 2006. (Circular Técnica, 76)

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

MÍGUEZ, F.H.; ALONSO, S.N. Algunas observaciones sobre el barreador del tallo de maíz (*Diatraea saccharalis* F.) en Rojas. **Revista Facultad de Agronomía**, La Plata, v.5, n. 1-2, p. 83-93, 1984.

MUÑOZ, J.E. Evaluación de la fertilización sobre el daño de *Diatraea* spp. y producción en parentales e híbridos de maíz. **Acta Agronomica**, Palmira, v. 40, n. 1/2, p. 142-157, 1990.

PARRA, J .R.P.; OMOTO, C. Cada vez mais terríveis. **Cultivar Grandes Culturas**, Pelotas , n. 69, p. 46-48, 2005.

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

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

R DEVELOPMENT CORE TEAM. **R**: A language and environment for statistical computing. Vienna: R Foundation for Statistical Computing, 2007. Disponível em: <<http://www.R-project.org>>. Acesso em: 13 jun. 2010.

REAGAN, T.E. Integrated pest management in sugarcane. **Louisiana Agriculture**, Baton Rouge, v. 44, n.4, p. 16-18, 2001.

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

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

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

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

5 DISPERSÃO DE *Trichogramma galloi* ZUCCHI, 1988 (HYMENOPTERA: TRICHOGRAMMATIDAE) EM MILHO VISANDO AO CONTROLE DE *Diatraea saccharalis* (FABRICIUS, 1794) (LEPIDOPTERA: CRAMBIDAE)

Resumo

O estudo da dispersão de inimigos naturais é parte essencial de um programa de controle biológico de pragas. Em programas de controle biológico aplicado tais estudos são ainda mais importantes a fim de se determinar o número de pontos de liberação por hectare. Portanto, neste trabalho foi avaliado o tipo de infestação mais adequado para a realização de tais estudos e a dispersão de *Trichogramma galloi* Zucchi, 1988 (Hymenoptera: Trichogrammatidae) em milho sobre ovos de *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794) (Lepidoptera: Crambidae). As plantas de milho ovipositadas diretamente pelas mariposas de *D. saccharalis* apresentaram maior parasitismo por *T. galloi*. Os raios de dispersão de *T. galloi* foram de 11,8 m e 12,1 m nos estádios v4-6 e v6-8 de plantas de milho, respectivamente, sendo a área de dispersão de 176m² e 187 m² também para os dois estádios fenológicos. Por meio destes dados foram determinados que são necessários 58 e 54 pontos de liberação por hectares para que haja uma cobertura homogênea da área de liberação pelos parasitoides, nos estádios fenológicos v4-6 e v6-8 de milho, respectivamente.

Palavras - chaves: Parasitoide de ovos; Controle biológico aplicado; Broca-da-cana

Abstract

Dispersal of natural enemies is an essential part of a program of biological control of pests. In applied biological control programs these studies are even more important in order to determine the number of release points per hectare. Therefore in this work was evaluated the kind of infestation most suitable for conducting these studies and the dispersal of *Trichogramma galloi* Zucchi, 1988 (Hymenoptera: Trichogrammatidae) in corn on eggs of *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794) (Lepidoptera: Crambidae). Corn plants with eggs laid directly by *D. saccharalis* moths showed higher parasitism by *T. galloi*. Dispersal rays of *T. galloi* were 11.8 and 12.1 m in V4-6 and V6-8 corn plants, respectively, and the dispersal areas were 176 m² 187 m² for the two phenological stages too. Using these data was determined that 58 and 54 release points are required per hectare so there is a homogeneous coverage of the release area by parasitoids, on the corn phenological stages v4-6 and v6-8, respectively.

Keywords: Egg parasitoid; Applied biological control; Sugarcane borer

5.1 Introdução

Os parasitoides do gênero *Trichogramma* estão entre os inimigos naturais mais utilizados em programas de controle biológico de pragas (SMITH, 1996), sendo liberados anualmente em cerca de 15 milhões de hectares (LENTEREN; BUENO, 2003). Dentre as pragas controladas por *Trichogramma* destacam-se as brocas-do-colmo de diversas espécies de gramíneas cultivadas e *Heliothis* spp. e/ou *Helicoverpa* spp. em milho, algodão e tomate (MILLS, 2010).

No Brasil, os estudos visando à utilização de *Trichogramma* foram iniciados há mais de 30 anos, com excelentes resultados em diversas culturas (PARRA, 2010). Atualmente, *Trichogramma galloi* Zucchi, 1988 (Hymenoptera: Trichogrammatidae) é a espécie mais utilizada, sendo liberado em cerca de 500.000 hectares todos os anos em cana-de-açúcar visando ao controle da broca-da-cana, *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794) (Lepidoptera: Crambidae) (PARRA, 2010). Recentemente, surtos populacionais desta praga vêm ocorrendo com frequência também em áreas plantadas com milho (HUANG; LEONARD; BALDWIN, 2006; CRUZ, 2007) e essas infestações chegam a causar redução na produção de grãos de até 24% (MAREDA; MIHM, 1991).

Diversos fatores podem afetar a eficiência de *Trichogramma* em campo, sendo necessária a realização de vários estudos, entre estes, o de dispersão que é considerada de grande importância, pois afeta as técnicas de liberação utilizadas, o potencial efeito sobre pragas não-alvos e o tempo para colonização de áreas cultivadas (SALLAM; OVERHOLT; KAIRU, 2001; PARRA et al., 2002; YONG; HOFFMAN, 2006).

No caso do controle biológico aplicado, no qual são realizadas liberações inundativas, o conhecimento da capacidade de dispersão é de fundamental importância porque permite determinar o número ideal de pontos de liberação dos parasitoides em campo para que haja uma cobertura homogênea da área “tratada” (PARRA et al., 2002; PARRA, 2010).

Na China, as liberações de *Trichogramma dendrolimi* (Matsumura, 1926), em milho para o controle de *Ostrinia furnacalis* (Guenée, 1854) (Lepidoptera: Crambidae) são feitas a partir de 45 pontos por hectare, sendo realizadas duas liberações, com intervalo de sete dias, utilizando-se em cada liberação entre 150.000 a 300.000 parasitoides/hectare (WANG; KANGLAI; YAN, 2005).

Em alguns países da Europa (França, Alemanha e Suíça), visando à supressão de *Ostrinia nubilalis* (Hübner, 1796) em milho, são realizadas, normalmente entre três e quatro liberações, com intervalo de uma semana, em 50 pontos por hectare, sendo liberados entre 135.000 a 300.000 parasitoides por hectare (HASSAN, 1982; BIGLER, 1986).

Como *T. galloi* é a espécie mais comum sobre ovos de *D. saccharalis* (ZUCCHI; PARRA; SILVEIRA NETO, 1991) e no Brasil já existem empresas que comercializam este parasitoide visando ao controle desta praga em cana-de-açúcar, portanto o objetivo deste trabalho foi avaliar a dispersão deste parasitoide em milho a fim de se determinar o número ideal de pontos de liberação por hectare visando ao controle da praga.

5.2 Material e Métodos

5.2.1 Criação de *Trichogramma galloi* Zuchhi, 1988 (Hymenoptera: Trichogrammatidae) e *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794) (Lepidoptera: Crambidae)

Os insetos utilizados nos experimentos foram criados no Laboratório de Biologia de Insetos, do Departamento de Entomologia e Acarologia pertencente à Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” (ESALQ).

Para a criação de *T. galloi* foram utilizados ovos do hospedeiro alternativo *Anagasta kuehniella* (Zeller, 1879) (Lepidoptera: Pyralidae) mantidos em laboratório conforme Parra (2012). Os ovos coletados foram colados em cartões (10,0 x 7,5 cm) quadriculados (0,5 x 0,5 cm), utilizando-se goma arábica diluída em água (50%); posteriormente, estes foram submetidos ao processo de inviabilização pela exposição à lâmpada germicida (luz ultravioleta) a uma distância de 15 cm da fonte, durante 45 minutos (STEIN; PARRA, 1987).

Após terem sido inviabilizados, os ovos foram submetidos ao parasitismo em sacos plásticos (6 L) por 12 horas; ao final deste período, os parasitoides foram removidos das cartelas e colocados em sacos plásticos novos para o seu desenvolvimento e utilização em campo ou início de um novo ciclo de criação. A

cada quatro gerações em ovos de *A. kuehniella* os parasitoides foram criados por uma geração em ovos de *D. saccharalis*.

As pupas de *D. saccharalis*, obtidas da criação estoque, foram separadas por sexo (BUTT; CANTU, 1962) e colocadas em placas de Petri (8 cm de diâmetro) forradas com papel filtro umedecido. As placas de Petri contendo as pupas foram colocadas em gaiolas feitas de PVC (10 cm de diâmetro x 20 cm de altura), revestidas internamente com uma folha de papel sulfite e na parte superior tais gaiolas foram fechadas com outra placa de Petri.

Após a emergência, os adultos foram transferidos para outras gaiolas semelhantes às descritas anteriormente. Foram colocados 15 casais por gaiola, e foi fornecida água destilada por capilaridade por meio de um rolo dental para a alimentação dos mesmos, pois tais adultos não necessitam de carboidratos (PARRA et al., 1999). As fêmeas realizaram as posturas no papel sulfite que revestia o interior da gaiola sendo estas folhas trocadas diariamente.

As folhas contendo as posturas foram separadas com auxílio de uma tesoura e os ovos tratados com solução de sulfato de cobre por 2 minutos, para evitar o desenvolvimento de micro-organismos contaminantes. As posturas foram separadas de modo que parte foi utilizada para a continuidade da criação dos insetos e parte foi utilizada na realização dos experimentos.

As posturas utilizadas na criação de *D. saccharalis* foram colocadas em placas de Petri revestidas internamente com papel filtro umedecido com água destilada e fechadas com filme plástico PVC e fita adesiva. Estas placas de Petri contendo os ovos foram colocadas em câmaras climatizadas ($25\pm 1^{\circ}\text{C}$, umidade relativa de $70\pm 10\%$ e fotofase de 14h) até a eclosão das lagartas.

As lagartas recém-eclodidas foram transferidas com auxílio de pincel nº 00 para tubos de vidro (2,5 cm de diâmetro por 8 cm de altura) contendo 10 mL de dieta artificial de Hensley e Hammond (1968) modificada (substituição do bacto-água por caraginanina), sendo colocadas quatro lagartas por tubo. Após a transferência, os tubos foram colocados em suportes de madeira, e estes levados para a sala de desenvolvimento de lagartas até a pupação ($25\pm 2^{\circ}\text{C}$, umidade relativa de $60\pm 20\%$ e fotofase de 14 horas). As pupas obtidas foram retiradas e iniciou-se uma nova geração da praga.

5.2.2 Áreas experimentais e liberação dos parasitoides

Os experimentos foram realizados na Fazenda Areão, pertencente à ESALQ, localizada em Piracicaba-SP (22° 41' 390" latitude sul e 47° 38' 430" longitude oeste, elevação de 555 m), em duas épocas, sendo a primeira em fevereiro de 2011 e a segunda entre os meses de março e abril de 2012. O milho híbrido Agromen® AG5055 foi plantado em uma área de aproximadamente 10 hectares, utilizando-se o espaçamento de 0,8 m entre linhas e sete plantas por metro linear. Nenhuma aplicação de inseticida foi realizada.

Nessa área foram demarcados quatro círculos concêntricos com raios de 5, 10, 15 e 20 m. O número de plantas infestadas foi proporcional ao perímetro de cada círculo, sendo: oito plantas no primeiro círculo (31,4 m), 16 plantas no segundo círculo (62,8 m), 24 plantas no terceiro círculo (94,2 m) e 32 plantas no quarto círculo (125,7 m); os pontos foram separados de modo equidistantes em cada raio (Figura 1). Este procedimento foi repetido em outras duas áreas, distanciadas 100 m uma das outras de modo a impedir que os parasitoides liberados em uma das áreas interferissem nos resultados das outras.

Figura 1 – Disposição dos pontos de infestação (●), nos diferentes raios, com ovos de *D. saccharalis* e o ponto de liberação de *T. galloi* (★) em milho

Os estudos de dispersão foram realizados em duas etapas: na primeira, além da dispersão foram comparados dois métodos de infestação das plantas de milho com ovos de *D. saccharalis*. No primeiro método, foram utilizadas gaiolas de plástico que confinavam no seu interior uma fêmea de *D. saccharalis* com dois ou três dias de vida, previamente acasalada em laboratório. Estas infestações foram realizadas no final da tarde, pois a oviposição ocorre durante a noite (WALKER, 1965), colocando-se duas gaiolas (ponto de infestação) por planta na face adaxial das folhas. Na manhã do dia seguinte, as gaiolas e as fêmeas foram retiradas. No segundo método de infestação, as plantas foram infestadas com posturas de *D. saccharalis* (<12h), obtidas em laboratório, estes ovos estavam aderidos às folhas de papel sulfite que foram recortadas, com tesouras, separando-se as posturas e, com auxílio de um grampeador, fixadas nas plantas de milho, de modo que a postura permanecesse em contato direto com a planta; este procedimento foi realizado no início da manhã (até as 7h), antes da liberação dos parasitoides.

Após a infestação das plantas foi realizada uma liberação dos parasitoides recém-emergidos (<24h), no ponto central dos círculos de infestação (Figura 1). O número de *T. galloi*, liberado levou em consideração a recomendação de 200.000 parasitoides por hectare, utilizada para o controle de *D. saccharalis* em cana-de-açúcar (BOTELHO et al., 1999), sendo liberados cerca de 25.133 parasitoides, número proporcional a área do experimento. A liberação foi feita pela manhã logo após a retirada das gaiolas e das fêmeas (1º método), e do término da fixação dos ovos, obtidos em laboratório, nas plantas (2º método).

O parasitismo foi permitido por 24 horas; posteriormente, as folhas de milho contendo os ovos de *D. saccharalis* foram retiradas, identificadas e levadas ao laboratório onde foram colocadas em recipientes plásticos (copos) de 100 ml contendo em seu interior papel filtro umedecido, permanecendo em câmaras climatizadas (25 ± 1 °C, fotofase de 14h) até a manifestação do parasitismo (escurecimento dos ovos). Posteriormente, realizou-se a contagem dos ovos parasitados e não parasitados com auxílio de um microscópico estereoscópico e calculou-se a porcentagem de parasitismo.

Esta primeira etapa foi realizada durante o mês de fevereiro com as plantas entre os estádios v4-6, segundo a escala de Magalhães e Durães (2006), plantas com 4-6 folhas desenvolvidas.

Na segunda etapa, as infestações foram realizadas utilizando-se apenas as gaiolas que confinavam as fêmeas de *D. saccharalis*, para que estas realizassem as posturas diretamente sobre as folhas do milho. Estes estudos foram feitos nos estádios v6-8 (plantas com 6-8 folhas desenvolvidas) em fevereiro de 2011 e nos estádios v4-6 e v6-8 entre os meses de março e abril de 2012.

Antes das infestações e liberações dos parasitoides foram realizadas infestações com as mariposas nas plantas, para a obtenção das posturas, a fim de se verificar a existência de parasitoides de ovos de *D. saccharalis* na área controle.

5.2.3 Coleta e análise dos dados

Para avaliação dos métodos de infestação (posturas obtidas nas plantas e no papel) foram comparadas as porcentagens de parasitismo em cada distância (5, 10, 15 e 20m) e em todas as distâncias, considerando-se cada ponto de infestação uma repetição. Para realização das análises, os dados de porcentagem de parasitismo foram transformados em $\arcsen(\sqrt{x}) \times 180/\pi$ (LOGAN, 2010) e as médias comparadas por meio do teste t ($P < 0,05$), através de um modelo linear generalizado (MGL).

Foram calculadas as porcentagens médias de parasitismo nos diferentes raios (5, 10, 15 e 20m) para cada estágio fenológico (v4-6 e v6-8); em seguida, foram realizadas análises de variância da regressão a fim de se obter a equação matemática que melhor se ajustasse aos dados.

Foram também calculadas a distância média de dispersão (DM) e a área de dispersão (s^2) de *T. galloi* por uma adaptação do método proposto por Dobzhansky e Wright (1943), para os estádios v4-6 e v6-8 das plantas de milho.

$$s^2 = \frac{\sum \left(r^3 \times \frac{i}{a} \right)}{\sum \left(r \times \frac{i}{a} \right) + \frac{\bar{C}}{2\pi}}$$

$$DM = \frac{\sum \left(r^2 \times \frac{i}{a} \right)}{\sum \left(r \times \frac{i}{a} \right) + \frac{\bar{C}}{2\pi}}$$

Onde:

s^2 = variância e indica a área de dispersão;

DM = distância média (metros) de dispersão;

r = distância do centro aos locais de avaliação;

a = número de pontos de infestação por círculo;

$\bar{c}$ = porcentagem média de ovos parasitados por armadilha no círculo central;

i = número total de ovos parasitados em cada círculo.

A razão sexual dos parasitoides liberados foi estimada com a retirada de amostras das cartelas de liberação e posterior contagem do número de machos e fêmeas (BOWEN; STERN, 1966).

As análises estatísticas e os gráficos de regressão foram feitos por meio do programa R (R DEVELOPMENT CORE TEAM, 2007).

5.3 Resultados e Discussão

Não foram verificadas infestações naturais de *Trichogramma* spp. ou qualquer outro parasitoide sobre os ovos de *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794) (Lepidoptera: Crambidae) durante a realização dos experimentos.

A razão sexual dos parasitoides liberados variou entre 0,65 e 0,67.

A porcentagem de parasitismo foi superior quando os ovos foram colocados diretamente nas plantas, independente da distância do ponto de liberação dos parasitoides e quando foram consideradas todas as distâncias em conjunto (Tabela 1), sendo o parasitismo médio de *Trichogramma galloi* Zucchi, 1988 (Hymenoptera: Trichogrammatidae) sobre ovos de *D. sacharalis* nas plantas, cerca de duas vezes maior do que nas posturas colocadas sobre as folhas de papel sulfite e artificialmente fixadas nas plantas de milho.

Tabela 1 - Parasitismo (%) ($\pm$ EPM) de ovos de *D. saccharalis* por *T. galloi* colocados naturalmente (ovos na planta) e artificialmente (ovos no papel) nas plantas de milho em diferentes distâncias do ponto de liberação, Piracicaba-SP

Distância do ponto de liberação (m)	Parasitismo (%)	
	Ovos na planta	Ovos no papel
5	50,87 $\pm$ 10,24*	22,63 $\pm$ 2,55
10	51,56 $\pm$ 10,15*	20,72 $\pm$ 1,40
15	20,51 $\pm$ 4,81*	10,56 $\pm$ 0,91
20	22,73 $\pm$ 4,15*	11,44 $\pm$ 0,64
Média	31,20 $\pm$ 3,74*	14,19 $\pm$ 2,39

* diferença significativa pelo teste t ($P < 0,05$); gl = 1 e F = 14,71 para 5 m; gl = 1 e F = 21,92 para 10 m; gl = 1 e F = 8,40 para 15 m; gl = 1 e F = 15,21 para 20 m; gl = 1 e F = 50,51 para todos os raios.

Lopes et al. (1989) também verificaram redução no parasitismo para *T. galloi* e *Trichogramma distinctum* Zucchi, 1988 quando os ovos de *D. saccharalis* foram obtidos em folhas de papel sulfite e fixados em folhas de cana-de-açúcar; no entanto, essa pesquisa foi realizada em casa-de-vegetação com os parasitoides confinados em gaiolas de náilon (60 x 30 x 30 cm).

O maior parasitismo dos ovos colocados diretamente pelas fêmeas confinadas nas folhas de milho se deve, provavelmente, às pistas químicas (caiomônios) deixadas pelas mariposas durante a oviposição. Fêmeas de *Trichogramma evanescens* Westwood, 1833 são mais frequentemente encontradas sobre plantas que tiveram a presença de *Mamestra brassicae* Linnaeus, 1758 (Lepidoptera: Noctuidae) independente da presença ou não de ovos da praga (SMITS, 1982). Esse efeito arrestante das mariposas ocorre devido à presença de substâncias como o tricosano, existente nas escamas e que provoca intensificação das buscas por ovos hospedeiros pelos parasitoides (LEWIS; JONES; SPARKS, 1972; NORDLUND et al., 1977; BEEVERS et al., 1981).

Além das escamas, diversos outros caiomônios são pistas importantes utilizadas pelos parasitoides do gênero *Trichogramma* para encontrar os ovos de seus hospedeiros (FATOUROS et al., 2008).

Apesar de tais estudos ainda não terem sido realizados para *T. galloi* se espera que estes caiomônios também sejam importantes, devido à especificidade hospedeira observada para esta espécie de *Trichogramma* (ZUCCHI; QUERINO; MONTEIRO, 2010).

Ainda segundo Lopes et al. (1989) as diferenças nas porcentagens de parasitismo também podem estar relacionadas ao ressecamento das posturas obtidas em folhas de papel sulfite e que inviabilizam o desenvolvimento dos parasitoides. No entanto, na presente pesquisa, não foi verificado ressecamento das posturas retiradas do campo, possivelmente devido ao menor intervalo de parasitismo permitido em campo (24 h), tempo insuficiente para que ocorresse o ressecamento de tais posturas.

Vários estudos visando verificar a dispersão de parasitoides, especialmente aqueles do gênero *Trichogramma*, utilizam armadilhas de cola adesiva, ovos de hospedeiros alternativos ou ovos dos hospedeiros naturais obtidos em substrato para oviposição (geralmente papel sulfite) e artificialmente fixados nas plantas (SUVERKROPP; BIGLER; LENTEREN, 2009; CHAPMAN et al., 2009; BUENO; PARRA; BUENO, 2012; GARDNER et al., 2013), no entanto, estes métodos podem subestimar a capacidade dos parasitoides, pois não consideram os cairomônios envolvidos durante o processo de busca hospedeira.

Devido ao maior parasitismo verificado quando a oviposição ocorre diretamente nas plantas, nos estudos seguintes de dispersão optou-se por utilizar este método para as infestações das plantas de milho.

No estádio v4-6 a porcentagem média de parasitismo foi menor com o aumento do raio da circunferência 62, 47, 33 e 31%, para 5, 10, 15 e 20 m, respectivamente. Para o estádio v6-8 também foi observada relação inversa da porcentagem de parasitismo com o aumento do raio de dispersão, sendo de 62, 51, 45 e 30% para 5, 10, 15 e 20 m, respectivamente. A equação linear foi a que melhor representam essa relação (porcentagem de parasitismo x distância) ($F = 18,71$; $P < 0,05$ e $F = 209,6$; $P < 0,05$) nos dois estádios fenológicos do milho estudados (Figura 2). Através da equação foi possível prever a distância máxima de dispersão de 31 e 34 m nos estádios v4-6 e v6-8, respectivamente, considerando-se que o parasitismo médio obtido no limite destas distâncias seja de 1%.

Em cana-de-açúcar a porcentagem de parasitismo foi de 51, 41 e 21% para 5, 10 e 15 m do ponto de liberação (LOPES, 1989), estes valores próximos aos observados na presente pesquisa, demonstraram que, aparentemente, as plantas envolvidas nos estudos, cana-de-açúcar e milho, não proporcionaram diferenças importantes que pudessem afetar a capacidade de parasitismo de *T. galloi* nas diferentes distâncias. Também os diferentes estádios fenológicos de milho

estudados (v4-6 e v6-8) não proporcionaram grandes diferenças no parasitismo, apesar do aumento da superfície foliar ter grande efeito no parasitismo (BURBUTIS; KOEPKE, 1981); entretanto, é provável que com o aumento de tamanho das plantas e o contato direto entre elas são criadas “pontes” ligando uma planta a outra favorecendo o deslocamento destes inimigos naturais (ROMEIS et al., 2005).

Figura 2 – Relação entre o raio de dispersão de *T. galloi* e a porcentagem de ovos de *D. saccharalis* parasitados, nos estádios (A) v4-6 e (B) v6-8, em milho, Piracicaba-SP

A diminuição do parasitismo com a distância do ponto de liberação é normalmente verificada nos diversos estudos de dispersão, pois à medida que se aumenta a distância há um aumento da área de busca hospedeira e ocorre mortalidade natural dos parasitoides ao longo da dispersão.

Os raios e as áreas de dispersão de *T. galloi* em milho foram de 11,9 e 12,1 m e 176 e 187 m² para os estádios v4-6 e v6-8, respectivamente (Tabela 2). Estes valores foram obtidos avaliando-se a dispersão 24h após a liberação dos parasitoides. Como em laboratório, *T. galloi* concentra 90% do parasitismo nos três primeiros dias após a emergência (LOPES, 1988), sugere-se que trabalhos futuros possam verificar a dispersão e a permanência dos parasitoides na área de liberação por maior período de tempo, embora possa levar a grandes erros, pois a predação dos ovos em região tropical é muito alta (SÁ; PARRA; SILVEIRA NETO, 1993).

Tabela 2 – Distância média (DM) e área de dispersão (S²) de *T. galloi* nos estádios v4-6 e v6-8 de milho em ovos de *D. saccharalis*, Piracicaba-SP

Estádio fenológico	Dispersão (m)	Área de dispersão (m ²)
v4-6	11,88	176,09
v6-8	12,12	187,04

Na cultura da cana-de-açúcar, também visando ao controle de *D. saccharalis*, a dispersão de *T. galloi* foi de 10 m (LOPES, 1988). Em milho, sobre ovos de *Helicoverpa zea* (Boddie, 1850) (Lepidoptera: Noctuidae) *Trichogramma pretiosum* Riley, 1879 apresentou um raio de dispersão de 9,4 m, 36 horas após a liberação dos parasitoides (SÁ; PARRA; SILVEIRA NETO, 1993). Esta mesma espécie apresenta dispersão de 8 m na cultura da soja, visando ao controle de *Anticarsia gemmatilis*, Hübner, 1818 (Lepidoptera: Noctuidae) e *Chrysodeixis includens* (Walker, 1858) (Lepidoptera: Noctuidae) (ZACHRISSON; PARRA, 1998; BUENO; PARRA; BUENO, 2012).

A área de dispersão permite calcular o número de pontos de liberação de parasitoides necessários por hectare para que se tenha uma distribuição homogênea de *T. galloi* em campo. Para o estádio v4-6 são necessários 58 pontos de liberação e para o estádio v6-8 são necessários 54 pontos; estes valores foram bem próximos já que não houve grande diferença na dispersão de *T. galloi*, nos dois estádios fenológicos.

Além da dispersão, o número de pontos de liberação também pode variar em função da quantidade de parasitoides liberados; assim, na China em milho

visando ao controle de *Ostrinia furnacalis* (Guenée, 1854) (Lepidoptera: Crambidae), a liberação de *Trichogramma dendrolimi* (Matsumura, 1926) era feita em 90 pontos por hectare sendo atualmente utilizados 45 pontos, com incremento na quantidade de parasitoides liberados (WANG; KABGLAI; YAN, 2005). Wright et al., (2001) sugerem que um ponto de liberação por hectare pode ser adequado para uma distribuição homogênea de *T. ostrinae* em milho doce.

A quantidade de parasitoides liberados e o número de pontos de liberação também devem levar em conta, a densidade da praga alvo, o nível de controle desejado e critérios econômicos, a fim de que seja viável a utilização de *Trichogramma*, havendo a necessidade de se determinar os custos envolvidos com o aumento no número de pontos de liberação por hectare e/ou com a liberação de quantidades superiores de parasitoides.

Diversos fatores podem afetar a dispersão dos parasitoides em campo como: a espécie e/ou linhagem liberada (FOURNIER; BOIVIN, 2000), o hospedeiro utilizado para a criação dos parasitoides (KÖLLIKER-OTT; BIGLER; HOFFMANN, 2004), a cultura (OLSON; ANDOW, 2006) e seu estágio fenológico (WANG; FERRO; HOSMER, 1997) bem como as condições meteorológicas (HENDRICKS, 1967; WANG; FERRO; HOSMER, 1997; FOURNIER; BOIVIN, 2000). Além desses fatores, os métodos empregados na avaliação dos resultados podem resultar em diferentes interpretações, dificultando a comparação com outros estudos.

Neste estudo ficou demonstrada a viabilidade na utilização de *T. galloi* no controle de *D. saccharalis* em milho. Atualmente este parasitoide é empregado no controle desta praga em cana-de-açúcar, havendo no Brasil algumas empresas que já comercializam este parasitoide o que torna mais fácil o acesso a essa tecnologia pelos produtores. Além disso, outras pragas importantes da cultura do milho como *H. zea* e *S. frugiperda* também podem ser controladas por outras espécies de parasitoides de ovos como *T. pretiosum* e *Trichogramma atopovirilia* (Oatman e Platner, 1983) (PARRA, 2010) e *Telenomus remus* Nixon, 1937 (Hymenoptera: Platygasteridae) (FIGUEIREDO; CRUZ; DELLA LUCIA, 1999). A viabilidade da liberação conjunta desses parasitoides poderá ser avaliada no futuro a fim de diminuir os custos de liberação desses inimigos naturais.

5.4 Conclusões

- a) Ovos colocados diretamente nas plantas de milho por *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794) (Lepidoptera: Crambidae) são mais parasitados por *Trichogramma galloi* Zucchi, 1988 (Hymenoptera: Trichogrammatidae) do que ovos colocados em folhas de papel sulfite e fixados às plantas;
- b) Os raios de dispersão de *T. galloi* são de 11,8 e 12,1m para os estádios fenológicos v4-6 e v6-8 de milho, respectivamente;
- c) As áreas de dispersão de *T. galloi* são de 176 m² e 187 m² para os estádios fenológicos v4-6 e v6-8 de milho, respectivamente;
- d) Recomendam-se 58 e 54 pontos de liberação de *T. galloi* por hectare visando ao controle de *D. saccharalis* em milho, nos estádios v4-6 e v6-8.

Referências

- BEEVERS, M.; LEWIS, W.J.; GROSS, JR., H.R.; NORDLUND, D.A. Kairomones and their use for management of entomophagous insects. X. Laboratory studies on manipulation of host-finding behavior of *Trichogramma pretiosum* Riley with a kairomone extracted from *Heliothis zea* (Boddie) moth scales. **Journal of Chemical Ecology**, New York, v. 7, p. 635-648, 1981.
- BIGLER, F. Mass production of *Trichogramma maidis* Pint. Et Voeg. and its field application against *Ostrinia nubilalis* Hbn. in Switzerland. **Journal of Applied Entomology**, Berlin, v.101, p. 23-29, 1986.
- BOTELHO, P.M.S.; PARRA, J.R.P.; CHAGAS NETO, J.F. das; OLIVEIRA, C.P.B. Associação do parasitóide de ovos *Trichogramma galloi* Zucchi (Hymenoptera: Trichogrammatidae) e do parasitóide larval *Cotesia flavipes* (Cam.) (Hymenoptera: Braconidae) no controle de *Diatraea saccharalis* (Fabr.) (Lepidoptera: Crambidae) em cana-de-açúcar. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Jaboticabal, v. 28, p. 491-496, 1999.
- BOWEN, W.R.; STERN, V.M. Effect of temperature on the production of males and sexual mosaics in a uniparental race of *Trichogramma semifumatum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae). **Annals of the Entomological Society of America**, Lahan, v.59, n. 4, p. 823-834, 1966.

BUENO, R.C.O.F.; PARRA, J.R.P.; BUENO, A.F. *Trichogramma pretiosum* parasitism and dispersal capacity: a basis for developing biological control programs for soybean caterpillars. **Bulletin of Entomological Research**, London, v.102, n. 1, p. 1-8, 2012.

BURBUTIS, P.P.; KOEPKE, C.H. European corn borer control in peppers by *Trichogramma nubilale*. **Journal of Economic Entomology**, College Park, v.74, n. 2, p. 246-247, 1981.

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

CHAPMAN, A.V.; KUHAR, T.P.; SCHULTZ, P.B.; BREWSTER, C.C. Dispersal of *Trichogramma ostriniae* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) in potato fields. **Environmental Entomology**, College Park, v. 38, n. 3, p. 677-685, 2009.

CRUZ, I. **A broca da cana-de-açúcar, *Diatraea saccharalis*, em milho, no Brasil**. Sete Lagoas: Embrapa-CNPMS, 2007. 12p. (Embrapa-CNPMS. Circular Técnica 90).

DOBZHANSKY, T.; WRIGHT, S. Genetics of natural population x dispersion rates in *Drosophila pseudoobscura*. **Genetics**, Bethesda, v. 28, p. 304-340, 1943.

FATOUROS, N.E.; DICKE, M.; MUMM, R.; MEINERS, T.; HILKER, M. Foraging behavior of egg parasitoids exploiting chemical information. **Behavior Ecology**, Oxford, v.19, n.3, p. 677-689, 2008.

FIGUEIREDO, M.L.C.; CRUZ, I.; DELLA LUCIA, T.M.C. Controle biológico integrado de *Spodoptera frugiperda* (SMITH & ABBOTT) utilizando-se o parasitoide *Telenomus remus* Nixon. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 34, n. 11, p. 1975-1982, 1999.

FOURNIER, F.; BOIVIN, G. Comparative dispersal of *Trichogramma evanescens* and *Trichogramma pretiosum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) in relation to environmental conditions. **Environmental Entomology**, College Park, v.29, n.1, p. 55-63, 2000.

GARDNER, J.; WRIGHT, M.G.; KUHAR, T.P.; PITCHER, S .A.; HOFFMANN, M.P. Dispersal of *Trichogramma ostriniae* in field corn. **Biocontrol Science and Technology**, London, v. 22, n. 10, p. 1221-1233, 2013.

HASSAN, S. A. Mass-production and utilization of *Trichogramma*: 3. Results of some research projects related to the practical use in the Federal Republic of Germany. In: Les Trichogrammes, Antibes, 20-30 abril 1982. INRA (Ed.) – **Les Colloques de l'INRA**, Paris, n.9, p. 213-218, 1982.

HENDRICKS, D.E. Effect of wind on dispersal of *Trichogramma semifumatum*. **Journal of Economic Entomology**, College Park, v.60, n.5, p. 1367-1373, 1967.

- HENSLEY, S.D.; HAMMOND, A.M. Laboratory techniques for rearing the sugar cane borer on an artificial diet. **Journal of Economic Entomology**, College Park, v. 61, p. 1742-1743, 1968
- HUANG, F.; LEONARD, B.R.; BALDWIN, J. Corn borers and transgenic Bt corn technology. **Louisiana Agriculture**, Los Angeles, n. 49, p. 25-26, 2006.
- KÖLLIKER-OTT, U.M.; BIGLER, F.; HOFFMANN, A.A. Field dispersal and host location of *Trichogramma brassicae* is influenced by wing size but not wing shape. **Biological Control**, Orlando, v.31, p. 1-10, 2004.
- LENTEREN, J.C.; BUENO, V.H.B.P. Augmentative biological control of arthropods in Latin America. **BioControl**, Helsinki, v. 48, n.2, p.123-139, 2003.
- LEWIS, W.J.; JONES, R.L.; SPARKS, A.N. A host-seeking stimulant for the egg parasite *Trichogramma evanescens*: its source and a demonstration of its laboratory and field activity. **Annals of the Entomological Society of America**, College Park, v.65, n.5, p.1087-1089, 1972.
- LOGAN, M. **Biostatistical design and analysis using R a practical guide**. Oxford: Wiley-blackwell: , 2010. 546p.
- LOPES, J.R.S. **Estudos bioetológicos de *Trichogramma galloi* (Zucchi, 1988) (Hymenoptera: Trichogrammatidae) para controle de *Diatraea saccharalis* (Fabr., 1794) (Lep., Pyralidae)**. 1988. 141p. Dissertação (Mestrado em Entomologia) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1988.
- LOPES, J.R.S., PARRA, J.R.P.; JUSTI, J.Jr., OLIVERIA, H.N. 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**. Piracicaba, v. 46, n. 2, p. 375 - 390, 1989.
- MAGALHÃES, P.C.; DURÃES, F.O.M. **Fisiologia da produção de milho**. EMBRAPA Milho e Sorgo: Sete Lagoas, 2006. (Circular Técnica, 76.).
- MAREDIA, K.M.; MIHM, J.A. Sugarcane borer (Lepidoptera: Pyralidae) damage to maize at four plant growth stages. **Environmental Entomology**, College Park, v. 20, n. 4, p. 1019-1023, 1991.
- MILLS, N. Egg parasitoids in biological control and integrated pest management. In: CÔNSOLI, F.L.; PARRA, J.R.P.; ZUCCHI, R.A. (Ed.). **Egg parasitoids in agroecosystems with emphasis on *Trichogramma***. Dordrecht: Springer, 2012. cap. 15, p. 389-411, 2010.
- NORDLUND, D.A.; LEWIS, W.J.; TODD, J.W.; CHALFANT, R.B. Kairomones and their use for management of entomophagous insects: VII. The involvement of various stimuli in the differential response of *Trichogramma pretiosum* Riley to two suitable hosts. **Journal of Chemical Ecology**, New York, v. 3, p. 513-518, 1977.

OLSON, D.M.; ANDOW, D.A. Walking pattern of *Trichogramma nubilale* Ertle & Davis (Hymenoptera: Trichogrammatidae) on various surfaces. **Biological Control**, Orlando, v.39, p. 329-335. 2006.

PARRA, J.R.P.; MILANO, P.; CÔNSOLI, F.L.; GRACIANO, N; HADDAD, M.L. Efeito da nutrição de adultos e da umidade na fecundidade de *Diatraea saccharalis* (Fabr.) (Lepidoptera: Crambidae). **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Jaboticabal, v. 28, n.1, p. 49-57, 1999.

PARRA, J.R.P.; BOTELHO, P.S.M.; CORRÊA-FERREIRA, B.S.; BENTO, J.M.S. Controle Biológico uma visão inter e multidisciplinar. In: PARRA, J.R.P.; BOTELHO, P.S.M.; CORRÊA-FERREIRA, B.S.; BENTO, J.M.S. (Ed.). **Controle biológico no Brasil: parasitóides e predadores**. São Paulo: Manole, 2002. cap. 8, p. 125-142.

PARRA, J.R.P. Egg parasitoid commercialization in the New World. In: CÔNSOLI, F.L.; PARRA, J.R.P.; ZUCCHI, R.A. (Ed.). **Egg parasitoids in agroecosystems with emphasis on *Trichogramma***. Dordrecht: Springer, 2012. cap. 14, p. 373-388, 2010.

R DEVELOPMENT CORE TEAM. **R**: A language and environment for statistical computing. Vienna: R Foundation for Statistical Computing, 2007. Disponível em: <<http://www.R-project.org>>. Acesso em: 13 jun. 2010.

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

SÁ, L.A.N.; PARRA, J.R.P.; SILVEIRA NETO, S. Capacidade de dispersão de *Trichogramma pretiosum* Riley, 1879 para controle de *Helicoverpa zea* (Boddie, 1850) em milho. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 50, p. 226-231, 1993.

SALLAM, M.N.; OVERHOLT, W.A.; KAIRU, E. Dispersal of the exotic parasitoid *Cotesia flavipes* in a new ecosystem. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, Dordrecht, v.98, p. 211-217, 2001.

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

SMITS, P.H. The influence of kairomones of *Mamestra brassicae* L. on the searching behavior of *Trichogramma evanescens* Westwood. In: SYMPOSIUM INTERNATIONAL SUR LES TRICHOGRAMMES, 1., 1982. Antibes, **Proceedings...** Paris, INRA, 1982. p. 139-150. (Les Colloques de l'INRA, 9).

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

- SUVERKROPP, B.P.; BIGLER, F. van LENTEREN, J.C. Dispersal behavior of *Trichogramma brassicae* in maize fields. **Bulletin of Insectology**, Bologna, v. 62, n. 1, p. 113-120, 2009.
- YONG, T.; HOFFMANN, M.P. Habitat selection by the introduced biological control agent *Trichogramma ostrinae* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) and implications for nontarget effects. **Environmental Entomology**, College Park, v.35, n.3, p. 725-732, 2006.
- WALKER, D.W. Bionomics of the sugarcane borer *Diatraea saccharalis* (Fab) I. A description of the mating behavior. **Proceedings of the Entomological Society of Washington**, Washington, v. 67, n.2, p. 80-83, 1965.
- WANG, B.; FERRO, D.N.; HOSMER, D.W. Importance of plant size, distribution of egg masses, and weather conditions on egg parasitism of European corn borer, *Ostrinia nubilalis* by *Trichogramma ostrinae* in sweet corn. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, Dordrecht, v.83, p. 337-345, 1997.
- WANG, Z.; KANGLAI, H.E.; YAN, S. Large-scale augmentative biological control of asian corn borer using *Trichogramma* in China: a success story. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON BIOLOGICAL CONTROL OF ARTHROPODS, n. 2, 2005, Davos. **Proceedings...**, Davos: USDA Forest Service Publications, 2005. Disponível em: <<http://www.bugwood.org/arthropod2005/vol2/10b.pdf>>. Acesso em 15 jan. 2012.
- WRIGHT, M.G.; HOFFMANN, M.P.; CHENUS, S.A.; GARDNER, J. Dispersal behavior of *Trichogramma ostrinae* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) in sweet corn fields: implications for augmentative releases against *Ostrinia nubilalis* (Lepidoptera: Crambidae). **Biological Control**, Orlando, v. 22, p. 29-37, 2001.
- ZACHRISSON, B.S.A.; PARRA, J.R.P. Capacidade de dispersão de *Trichogramma pretiosum* Riley, 1879, para o controle de *Anticarsia gemmatilis* Hübner, 1818 em soja. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 55, n.1, p. 133-137, 1998.
- ZUCCHI, R.A.; PARRA, J.R.P.; SILVEIRA NETO, S. *Trichogramma* species associated with some lepidopterous in Brazil. **Colloques-de-l'INRA**, Paris, n. 56, p. 131-134, 1991.
- ZUCHHI, R.A.; QUERINO, R.B., MONTEIRO, R.C. Diversity and hosts associations of *Trichogramma* in the new world with emphasis in South America. In: CÔNSOLI, F.L.; PARRA, J.R.P.; ZUCCHI, R.A. (Ed.). **Egg parasitoids in agroecosystems with emphasis on *Trichogramma***. Dordrecht: Springer, 2012. cap. 8, p. 219-236, 2010.