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

Toxicidade de inseticidas a *Diatraea saccharalis* (Fabr., 1794) (Lepidoptera: Crambidae) e *Cotesia flavipes* (Cameron, 1891) (Hymenoptera: Braconidae)

Edgar Francisco Gaona Mena

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

**Piracicaba
2010**

Edgar Francisco Gaona Mena
Engenheiro Agrônomo

**Toxicidade de inseticidas a *Diatraea saccharalis* (Fabr., 1794) (Lepidoptera: Crambidae) e
Cotesia flavipes (Cameron, 1891) (Hymenoptera: Braconidae)**

Orientador:
Prof. Dr. **CELSO OMOTO**

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

**Piracicaba
2010**

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

Gaona Mena, Edgar Francisco

Toxicidade de inseticidas a *Diatraea saccharalis* (Fabr., 1794) (Lepidoptera: Crambidae) e *Cotesia flavipes* (Cameron, 1891) (Hymenoptera: Braconidae) / Edgar Francisco Gaona Mena. - - Piracicaba, 2010.
61 p. : il.

Dissertação (Mestrado) - - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", 2010.
Bibliografia.

1. Brocas (Insetos nocivos) 2. Cana-de-açúcar 3. Controle biológico 4. Inseticidas - Toxicidade 5. Insetos parasitóides I. Título

CDD 632.78
G211t

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

Aos meus pais Francisco E. Gaona e Juana Mena de Gaona
OFEREÇO

Aos meus irmãos Elda e Pedro
A Sofia e Thaissa
DEDICO

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Celso Omoto pela orientação, ensinamentos e paciência.

A Dra. Eloisa Salmeron pela orientação e conselhos.

Aos professores do Programa de Pós-Graduação em Entomologia da ESALQ/USP pelos conhecimentos transmitidos.

Ao Instituto de Biotecnologia Del Paraguay (INBIO) pela concessão da bolsa de estudos.

A Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional de Asunción pela oportunidade para a realização do Curso.

A BUG Agentes Biológicos e Centro de Tecnologia Canavieira (CTC) pelo fornecimento do material biológico para a realização do trabalho.

A Heraldo Negri pelo apoio recebido.

Aos meus padrinhos Ireneo Bogado e Basilisa Mena de Bogado

Aos colegas do Laboratório de Resistência de Artrópodes a Pesticidas da ESALQ/USP Danielle Thomazoni, Oscar Arnaldo Batista Neto e Silva, Vitor Antonio Correa Pavinato, Felipe Antonio Domingues, Gislaine A. de Oliveira, Karina Cordeiro Albernaz, Nádia Fernanda Bertan Casarin, Patrick Marques Dourado, Oderlei Bernadi, Alex Poltronieri e Beatriz Maria Ferrari pela amizade, auxílio e companheirismo nestes anos.

Aos colegas do Departamento de Proteção Vegetal, Div. Entomologia, FCA-UNA, Ing. Agr. Victor Gómez, Ing. Agr. Claudia C. Cabral de Rasche, Ing. Agr. Maria. B. de López e Ing. Agr. Osmar R. Arias Ruiz Diaz pelo apoio e companheirismo de sempre.

Aos colegas e amigos da Entomologia da ESALQ/USP, Eliane Grisoto pelo apoio recebido em todo momento, e John Jairo Saldarriaga Ausique pela amizade e os momentos compartilhados.

Ao meu amigo e colega Heriberto Huerta Denis pelo apoio incondicional recebido.

À bibliotecária Sílvia pelo auxílio na revisão da estrutura da dissertação e das referências bibliográficas.

SUMÁRIO

RESUMO.....	9
ABSTRACT.....	11
LISTA DE FIGURAS.....	13
LISTA DE TABELAS.....	15
1 INTRODUÇÃO	17
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	21
2.1 Aspectos bioecológicos de <i>D. saccharalis</i>	21
2.2 Táticas de controle de <i>D. saccharalis</i>	22
2.2.1 Controle químico	23
2.2.2 Controle biológico.....	24
2.3 Efeitos letal e subletal de inseticidas sobre <i>Cotesia</i> spp.....	26
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	29
3.1 Criação e manutenção de <i>D. saccharalis</i>	29
3.1.1 Caracterização das linhas-básicas de suscetibilidade de <i>D. saccharalis</i> a triflumuron, lambda-cyhalothrin e fipronil	30
3.1.2 Monitoramento da suscetibilidade de populações de <i>D. saccharalis</i> a triflumuron, lambda-cyhalothrin e fipronil.....	31
3.2 Efeitos letal e subletal de triflumuron e lambda-cyhalothrin sobre <i>C. flavipes</i>	32
3.3 Efeito indireto de lambda-cyhalothrin, triflumuron e fipronil sobre <i>Cotesia flavipes</i>	33
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	35
4.1 Caracterização das linhas-básicas de suscetibilidade de <i>D. saccharalis</i> a triflumuron, lambda-cyhalothrin e fipronil.....	35
4.2 Monitoramento da suscetibilidade de populações de <i>D. saccharalis</i> a triflumuron, lambda-cyhalotrin e fipronil.....	39
4.3 Efeitos letal e subletal de triflumuron e lambda-cyhalothrin sobre <i>C. flavipes</i>	41
4.4 Efeito indireto de lambda-cyhalothrin, triflumuron e fipronil sobre <i>C. flavipes</i>	45
5 CONCLUSÕES	53
REFERÊNCIAS	55

RESUMO

Toxicidade de inseticidas a *Diatraea saccharalis* (Fabr., 1794) (Lepidoptera: Crambidae) e *Cotesia flavipes* (Cameron, 1891) (Hymenoptera: Braconidae)

A magnitude do problema de *Diatraea saccharalis* (Fabricius) tem aumentado nos últimos anos, principalmente nas culturas de cana-de-açúcar e milho no Brasil. Tradicionalmente, *D. saccharalis* tem sido controlado com agentes de controle biológico, principalmente na cultura da cana-de-açúcar. No entanto, a intervenção química tem sido necessária para o controle de *D. saccharalis* em ambas as culturas. Visando estabelecer estratégias proativas para o manejo da resistência de *D. saccharalis* a inseticidas e integrar as táticas de controle químico e biológico, objetivou-se nesse trabalho avaliar a toxicidade de alguns inseticidas (triflumuron, lambda-cyhalothrin e fipronil) a *D. saccharalis* e ao parasitóide *Cotesia flavipes* (Cameron). A caracterização das linhas-básicas de suscetibilidade de *D. saccharalis* a esses inseticidas foi realizada com bioensaio de ingestão, mediante contaminação da superfície da dieta artificial com o inseticida, utilizando-se lagartas de 2º instar. Baseado nas curvas de concentração-mortalidade da população suscetível de referência, foram definidas as concentrações diagnósticas de 320 µg de triflumuron /mL de água [I.A.(ppm)], 32 µg de fipronil /mL de água, e 3,2 µg de lambda-cyhalothrin/mL de água, correspondentes à CL₉₉, para o monitoramento da resistência. Foram verificadas diferenças significativas na suscetibilidade a inseticidas em populações de *D. saccharalis* coletadas em diferentes regiões produtoras de milho no Brasil e uma no Paraguai. Para triflumuron, as sobrevivências variaram de 0,85 e 34,2%; para fipronil de 0,21 e 2,71%; e para lambda-cyhalothrin de 0,21 a 7,9%. A toxicidade desses inseticidas sobre *C. flavipes* foi avaliada mediante determinações de efeitos letal e subletal desses inseticidas sobre adultos do parasitóide. Inicialmente foram avaliadas as concentrações recomendadas de 0,08 mg de triflumuron/L de água e 0,075 mg de lambda-cyhalothrin/L de água, além de 10 e 50% da concentração recomendada, mediante bioensaio de contato residual em discos de folha de cana-de-açúcar de resíduos com 0, 24 e 48 h de idade. A maior toxicidade foi observada com lambda-cyhalothrin (mortalidade de até 100%). Triflumuron causou mortalidade de no máximo 32%. Observou-se também uma redução da longevidade de *C. flavipes* em todas as concentrações e idade de resíduos para ambos inseticidas. Posteriormente, para avaliar os efeitos indiretos de inseticidas sobre *C. flavipes*, lagartas sobreviventes de *D. saccharalis* a CL₂₅ de triflumuron, lambda-cyhalothrin e fipronil foram expostas a *C. flavipes* para parasitismo. A capacidade de parasitismo foi também avaliada para a geração F₁ do parasitóide. Nenhum dos inseticidas afetou a emergência de adultos, a mortalidade de larvas e pupas, e a razão sexual do parasitóide. Por outro lado, lambda-cyhalothrin e fipronil afetaram negativamente a taxa instantânea de crescimento de *C. flavipes*. Portanto, as estratégias de uso destes inseticidas para o controle de *D. saccharalis* devem ser implementadas com cautela para preservar a vida útil desses importantes inseticidas em programas de manejo integrado de pragas.

Palavras chaves: Inseticidas, Parasitóides, Cana-de-açúcar, *Diatraea saccharalis*, *Cotesia flavipes*

ABSTRACT

Toxicity of insecticides to *Diatraea saccharalis* (Fabr., 1794) (Lepidoptera: Crambidae) and *Cotesia flavipes* (Cameron, 1891) (Hymenoptera: Braconidae)

The magnitude of *Diatraea saccharalis* (Fabricius) problem has increased in the past years, mainly in sugarcane and maize crops in Brazil. Traditionally, *D. saccharalis* has been controlled with biological control agents. However, chemical intervention has been necessary to control *D. saccharalis* in both crops. For establishing a proactive insecticide resistance management of *D. saccharalis* and integrating chemical and biological control tactics, the major objective of this work was to evaluate the toxicity of some insecticides (triflumuron, lambda-cyhalothrin e fipronil) to *D. saccharalis* and to the parasitoid *Cotesia flavipes* (Cameron). The baseline susceptibility of *D. saccharalis* to these insecticides was characterized with diet surface treatment bioassay by using 2nd instar larvae. Based on concentration-mortality response of the susceptible reference population, diagnostic concentrations of 320 µg of triflumuron/mL of water [A.I. (ppm)], 32 µg of fipronil/mL of water, and 3.2 µg de lambda-cyhalothrin/mL of water, corresponding to LC₉₉, were defined for monitoring resistance. Significant differences in susceptibilities to insecticides were found in populations of *D. saccharalis* collected from major maize-production regions and one population from Paraguay. For triflumuron, the survivorship varied from 0.8 to 34.2%; for fipronil, from 0.2 to 2.7%; and for lambda-cyhalothrin, from 0.2 to 7.9%. The toxicity of these insecticides to *C. flavipes* was evaluated by determining the lethal and sublethal effects of the insecticides to the adults of this parasitoid. Initially, commercial rates of 0.08 mg triflumuron/ L of water and 0.075 mg lambda-cyhalothrin / L of water, and 10% and 50% of commercial rates, were evaluated with residual contact bioassay by using sugarcane leaf disks of 0, 24 and 48 h-old residues. The highest toxicity was detected to lambda-cyhalothrin (mortality up to 100%). Triflumuron caused mortality up to 32%. Reduction in the longevity of *C. flavipes* was detected in all concentrations and residue ages of both insecticides. Then, to evaluate the indirect effect of the insecticides, *D. saccharalis* larvae that survived at LC₂₅ of triflumuron, lambda-cyhalothrin and fipronil were exposed to *C. flavipes*. The parasitism capacity of F₁ generation of the parasitoid was also evaluated. None of the insecticide affected the adult emergence, pupal and larval mortality, and sexual ratio of the parasitoid. On the other hand, lambda-cyhalothrin e fipronil negatively affect the instantaneous rate of growth of *C. flavipes*. Therefore, the strategies of the use of these insecticides for controlling *D. saccharalis* should be carefully designed to preserve their lifetime in integrated pest management programs.

Keywords: Insecticides, Parasitoids, Sugarcane, *Diatraea saccharalis*, *Cotesia flavipes*

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Curva de concentração-resposta de lagartas de segundo ínstar da população de laboratório (D/Lab) e da Bahia (BA) de <i>Diatraea saccharalis</i> a triflumuron, com bioensaio de tratamento superficial de dieta artificial	37
Figura 2	Curva de concentração-resposta de lagartas de segundo ínstar da população de laboratório (D/Lab) e da Bahia (BA) de <i>Diatraea saccharalis</i> a lambda-cyhalothrin com bioensaio de tratamento superficial de dieta artificial.	38
Figura 3	Curva de concentração-resposta de lagartas de segundo ínstar da população de laboratório (D/Lab) e da Bahia (BA) de <i>Diatraea saccharalis</i> a fipronil, com bioensaio de tratamento superficial de dieta artificial.	39

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Procedência, data de coleta e código das populações de <i>D. saccharalis</i> coletadas na cultura do milho nas diferentes regiões do Brasil e de Paraguai (2009-2010).	30
Tabela 2	Respostas de lagartas de 2 ^o instar das populações de <i>Diatraea saccharalis</i> de laboratório (D/Lab) e da Bahia (D/BA) a triflumuron, lambda-cyhalothrin e fipronil, após infestação em bioensaio de tratamento superficial na dieta artificial.	36
Tabela 3	Porcentagem média de sobrevivência ($\pm$ erro padrão) a triflumuron, fipronil e lambda-cyhalothrin em populações de <i>D. saccharalis</i> coletadas em diferentes regiões do Brasil, com exposição a concentrações equivalentes a CL ₉₉ da população de laboratório (D/Lab).	41
Tabela 4	Porcentagem de mortalidade ($\pm$ erro padrão da média) de <i>Cotesia flavipes</i> após 24h de exposição a resíduos de 0 h de idade de triflumuron e lambda-cyhalothrin em discos de folha de cana-de-açúcar pulverizados em Torre de Potter nas concentrações de 100, 50 e 10% da concentração recomendada para cada inseticida	42
Tabela 5	Porcentagem de mortalidade ($\pm$ erro padrão da média) de <i>Cotesia flavipes</i> após 24h de exposição a resíduos de 24 h de idade de triflumuron e lambda-cyhalothrin em discos de folha de cana-de-açúcar pulverizados em Torre de Potter nas concentrações de 100, 50 e 10% da concentração recomendada para cada inseticida	42
Tabela 6	Porcentagem de mortalidade ($\pm$ erro padrão da média) de <i>Cotesia flavipes</i> após 24h de exposição a resíduos de 48 h de idade de triflumuron e lambda-cyhalothrin em discos de folha de cana-de-açúcar pulverizados em Torre de Potter nas concentrações de 100, 50 e 10% da concentração recomendada para cada inseticida	43
Tabela 7	Porcentagem de mortalidade ($\pm$ erro padrão da média) de <i>Cotesia flavipes</i> após 24h de exposição a resíduos de 48 h de idade de triflumuron e lambda-cyhalothrin em discos de folha de cana-de-açúcar pulverizados em Torre de Potter nas concentrações de 100, 50 e 10% da concentração recomendada para cada inseticida	44
Tabela 8	Longevidade média em dias ($\pm$ erro padrão da média) de fêmeas de <i>Cotesia flavipes</i> após 24h de exposição a resíduos de triflumuron e lambda-cyhalothrin, após 0, 24 e 48 h após da pulverização dos discos de folha de cana-de-açúcar em Torre de Potter nas concentrações de 100, 50 e 10% da concentração recomendada para cada inseticida.	45

Tabela 9	Porcentagem de emergência de adultos ($\pm$ erro padrão da média) da geração parental de <i>C. flavipes</i> provenientes de lagartas de <i>D. saccharalis</i> submetidas a CL ₂₅ de triflumuron, lambda-cyhalothrin e fipronil.	46
Tabela 10	Porcentagem de emergência de adultos ($\pm$ erro padrão da média) da geração F ₁ de <i>C. flavipes</i> provenientes de lagartas de <i>D. saccharalis</i> submetidas a CL ₂₅ de triflumuron, lambda-cyhalothrin e fipronil.	47
Tabela 11	Porcentagem de mortalidade de lagartas e pupas ($\pm$ erro padrão da média) da geração parental de <i>C. flavipes</i> provenientes de lagartas de <i>D. saccharalis</i> submetidas a CL ₂₅ de triflumuron, lambda-cyhalothrin e fipronil.	47
Tabela 12	Porcentagem de mortalidade de lagartas e pupas ($\pm$ erro padrão da média) da geração F ₁ de <i>C. flavipes</i> provenientes de lagartas de <i>D. saccharalis</i> submetidas a CL ₂₅ de triflumuron, lambda-cyhalothrin e fipronil	48
Tabela 13	Razão sexual ($\pm$ erro padrão da média) da geração parental e da F ₁ de <i>C. flavipes</i> provenientes dos de lagartas de <i>D. saccharalis</i> submetidas a CL ₂₅ de triflumuron, lambda-cyhalothrin e fipronil	49
Tabela 14	Crescimento populacional de <i>C. flavipes</i> provenientes de lagartas de <i>D. saccharalis</i> expostas a CL ₂₅ de triflumuron, lambda-cyhalothrin e fipronil, após período de 21 dias de início do experimento.	50

1. INTRODUÇÃO

A broca da cana-de-açúcar, *Diatraea saccharalis* (Fabr., 1794) (Lepidoptera: Crambidae), é considerada uma praga de grande importância na cultura da cana-de-açúcar, devido a prejuízos diretos mediante quebra dos colmos ou morte de plantas mais jovens com sintoma de “coração morto” e prejuízos indiretos pela ação de fungos que causam a podridão vermelha do colmo o que ocasiona a perda na qualidade da produção e teor de açúcar de plantas (SEGATO et al., 2006).

Nos últimos anos, *D. saccharalis* tem sido um problema cada vez mais crescente na cultura do milho no Brasil, podendo ocasionar danos, como a quebra das plantas de milho pelo broqueamento do interior do colmo das plantas e sintomas de “coração morto”, que podem provocar até 26% de perdas de produtividade (GARCIA et al., 2006; CRUZ, 2007). Já em plantas adultas, os danos provocados causam brotações laterais, enraizamento aéreo, perdas de peso, afinamento e quebra do colmo, redução de entrenós e morte da planta, o que leva a uma acentuada queda da produção (PARRA, 1993). Podem ocasionar quebra de plantas maduras de milho, quando as lagartas atacam o interior do colmo da planta, podendo acarretar perdas entre 10 e 50% nos rendimentos em grãos. Em relação a perdas ocasionadas na produção de grãos de milho, estas são oriundas de ataques nos entrenós mais próximos à espiga, pois produzem interferência na circulação de nutrientes elaborados pela planta, que são carregados para uma maior produção de folhas, em vez da produção de grãos, em comparação com os ataques verificados nos entrenós mais distantes (CRUZ, 2007). As perdas em rendimentos do milho também podem ser atribuídas a um aumento da esterilidade, redução no tamanho da espiga e do grão, assim como uma interferência na colheita mecânica, podendo chegar a 27% de perdas na produção de grãos (FLOYD, 1966).

O ataque por *D. saccharalis* tem sido uma séria ameaça à cultura do milho no Brasil, especialmente nas regiões Sul, Sudeste e Centro-Oeste (CRUZ, 2007). Nos estágios iniciais da cultura, as lagartas atacam o cartucho, alimentando-se do tecido jovem em desenvolvimento. Em baixas infestações, causam uma série de furos na lâmina foliar. Por outro lado, em ataques mais severos, o ponto de crescimento da planta pode ser morto. Em plantas mais desenvolvidas, as lagartas penetram no colmo e fazem galerias. Lagartas mais desenvolvidas, ao intensificarem o dano, enfraquecem as plantas, que ficam propensas ao quebramento. Danos na espiga também podem ser observados (RODRIGUEZ-DEL-BOSQUE et. al., 1990). Independentemente das

variações anuais, as perdas de rendimento são maiores quanto mais se atrasa o plantio do milho. Em plantios de primeira safra de milho, as perdas podem atingir a 10 a 20%. Já em cultivos de segunda safra (“safrinha”), os prejuízos são maiores podendo ocasionar quebras superiores a 50% da produção (IANNONE, 2002).

O controle químico tem sido a tática de controle mais comumente utilizada para a manutenção da população de *D. saccharalis* abaixo do nível de dano econômico nas culturas da cana-de-açúcar e de milho. Os inseticidas devem ser aplicados nos dois primeiros instares larvais, procurando evitar que as lagartas penetrem o interior do colmo. Entretanto, existe também a possibilidade de controle quando a lagarta já está dentro da planta, sabendo-se que as lagartas podem deixar o túnel durante o processo de retirada dos seus excrementos para fora do colmo (CRUZ, 2007).

Dentre os inseticidas registrados para o controle de *D. saccharalis* na cultura da cana-de-açúcar no Brasil estão triflumuron (inibidor da síntese de quitina), fipronil (antagonista de canais de cloro mediados pelo GABA) e carbofuran (inibidor da acetilcolinesterase). Para a cultura do milho, o único inseticida registrado é lambda-cyhalothrin (modulador de canais de sódio) (MAPA/Agrofit, 2010), mas os outros inseticidas pulverizados para o controle de *Spodoptera frugiperda* (J.E Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) nessa cultura tem promovido controle de *D. saccharalis*. Portanto, a possibilidade de evolução da resistência de *D. saccharalis* a inseticidas e possíveis impactos ao ambiente e à saúde dos produtores, são fatores que podem ameaçar a vida útil de vários inseticidas registrados para o controle dessa praga.

Outra tática de controle utilizada para *D. saccharalis* tem sido o controle biológico mediante a liberação de parasitóides como *Cotesia flavipes* (Cameron, 1891) (Hymenoptera: Braconidae) (PARRA et al., 2002). A existência de relatos de sucesso de controle desta praga, mediante o uso deste parasitóide poderia beneficiar o controle da praga mediante a ação conjunta do controle químico e biológico. No entanto, caso os inseticidas utilizados não sejam seletivos, há possibilidade da ocorrência de efeitos negativos sobre a atuação deste parasitóide no manejo de *D. saccharalis*.

Visando o estabelecimento de estratégias proativas para o manejo da resistência de *D. saccharalis* a inseticidas, nas culturas de milho e de cana-de-açúcar e a possível integração das táticas de controle químico e biológico desta praga, objetivou-se determinar as linhas-básicas de suscetibilidade de *D. saccharalis* a triflumuron, lambda-cyhalothrin e fipronil para o

monitoramento da resistência e avaliar os efeitos letal e subletal destes inseticidas sobre adultos de *C. flavipes*.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Aspectos bioecológicos de *D. saccharalis*

Originária da América Central e do Sul, a broca da cana-de-açúcar, *Diatraea saccharalis* (Fabr., 1794) (Lepidoptera: Crambidae), pode ser encontrada atacando os canaviais de Argentina, Bolívia, Colômbia, EUA, Guiana, Suriname, Guiana Francesa, Costa Rica, Cuba, Equador, México, Panamá, Peru, Haiti, Jamaica, Paraguai, República Dominicana, Venezuela e Antilhas Menores (GUAGLIUMI, 1972; MENDONÇA, 1996). Em relação à atratividade de plantas, dentre 17 gramíneas avaliadas em Porto Rico, o milho e a cana-de-açúcar foram as plantas preferidas para oviposição de *D. saccharalis*, sendo que as culturas do milho, cana-de-açúcar e sorgo foram as plantas mais atrativas e preferidas pelas lagartas de primeiro instar (QUINTANA-MUNIZ & WALKER, 1970).

Os ovos de *D. saccharalis* são lisos, de forma oval e de aproximadamente 1,16 milímetros de comprimento e 0,75 milímetros de largura. Os ovos são depositados em grupos e sobrepostos como as escamas de um peixe. Uma postura pode conter de dois a 50 ovos, com deposição nas superfícies abaxial e adaxial das folhas. Os ovos são de coloração branca no início, tornando-se alaranjados com a idade até adquirir coloração enegrecida, pouco antes da eclosão de lagartas. A duração da fase de ovo é de quatro a seis dias e a fecundidade média é de cerca de 700 ovos por fêmea, quando as lagartas foram criadas com plantas de milho ou cana-de-açúcar, mas apenas de 425 ovos por fêmea quando alimentados com capim massambará (BESSIN; REAGAN, 1990).

Segundo Capineira (2007), as lagartas eclodem dentro de uma massa na mesma época, ou pelo menos dentro de poucas horas uma das outras. As lagartas tendem a se reunir no ápice de plantas de milho e começam a alimentar-se logo após a eclosão. O número de instar é bastante variável (de três a 10), mas em média de 5 a 6 instares. Quando criados em dieta artificial, a maioria das lagartas tendem a apresentar seis instares.

A fase de pupa ocorre dentro do colmo da cana, em um túnel criado pela lagarta. A lagarta limpa e expande um túnel antes da pupação, deixando apenas uma fina camada de tecido vegetal para a mariposa para romper na emergência. A pupa é alongada e fina, e marrom amarelado ao mogno na cor marrom e com tubérculos proeminentes apontado nos segmentos distais. As pupas

medem aproximadamente 16 a 20 mm de comprimento. A duração da fase pupal é de oito a nove dias, mas em clima frio pode estender por até 22 dias (CAPINEIRA, 2007).

A ocorrência temporal desta praga se caracteriza pela sucessão de três a cinco gerações de adultos durante o ano. As fêmeas ovipositam nas folhas e as lagartas alimentam-se do parênquima da folha logo após a eclosão para perfurar e penetrar no colmo ao atingir o terceiro estágio larval. O estágio de ovo e os primeiros ínstaes larvais até o início do terceiro ínstar são os mais suscetíveis a fatores bióticos e abióticos, uma vez que as lagartas estarão mais protegidas dentro do colmo (CRUZ, 2007).

A broca da cana-de-açúcar tem de três a quatro gerações anuais, de acordo com a região (ARAGON, 1996). As populações desta praga aumentam desde o plantio até a colheita de milho (PARISI; DAGOBERTO, 1979; DAGOBERTO; LECUONA, 1982 apud FAVA; IMWINKELRIED; TRUMPER, 2004). A primeira geração, na região da província de Córdoba, Argentina, é proveniente de adultos que emergem em outubro e novembro infestando gramíneas selvagens e cultivadas. A segunda geração de adultos, geralmente reduzida, afeta o milho na floração (primeiro plantio). Durante a terceira e quarta gerações ocorrem ataques generalizados afetando principalmente as parcelas de plantio tardio que estão na etapa de maturação fisiológica dos grãos de milho (ARAGON, 1996).

O plantio direto tem favorecido o crescimento da população de *D. saccharalis* e a retenção de restolho promove a sobrevivência de lagartas de inverno, nas regiões de produção de milho (ARAGON, 2000). A densidade de lagartas observada em sementes de milho de primeira semeadura oscilou abaixo de 0,2 lagartas por plantas, mostrando uma ligeira diminuição ao longo do tempo. Em caules de semeadura tardia, densidade de lagartas de inverno foi maior, variando entre 0,4 e 0,6 lagartas por caule, de milho que ficou no campo, em junho a meados de setembro (BUENO, 2004).

2.2 Táticas de controle de *D. saccharalis*

O controle de *D. saccharalis* é realizado através de diversas táticas que auxiliam na redução da população da broca, tais como o plantio da cana-de-açúcar em épocas desfavoráveis ao desenvolvimento da praga, o emprego de variedades mais resistentes, o uso de armadilhas de

feromônio com fêmeas virgens (SEGATO et al., 2006). Dentre as táticas de controle mais utilizadas, destaca-se o controle químico e o controle biológico. No caso do controle químico são usados inseticidas de diferentes modos de ação assim como diferentes princípios ativos e no controle biológico são utilizados principalmente parasitóides de ovos (por exemplo, *Trichogramma galloi* Zucchi, 1988) e de lagartas (por exemplo, *C. flavipes*). Como o fator-chave de crescimento populacional de *D. saccharalis* é a fase de ovo (BOTELHO, 1985), este parasitóide tem se mostrado eficiente no controle da praga. Os resultados de pesquisa mostraram que quando *T. galloi* é liberado na base de 200.000 parasitóides por hectare, a intervalos semanais, em um total de três liberações e associado a *C. flavipes*, a redução da intensidade de infestação chegou a 60% (BOTELHO et al., 1999).

O parasitóide *T. galloi*, já foi liberado em cerca de 150.000 hectares, preferencialmente em regiões onde *C. flavipes* não seja eficiente ou em áreas em que a predação de ovos seja baixa. O controle biológico é eficiente no combate a *D. saccharalis*, desde que seja feito quando se atingir o nível de controle de 3% de intensidade de infestação para *C. flavipes* e com as primeiras posturas de *D. saccharalis* para liberações de *T. galloi*, o que ocorre, em geral, aos 50-60 dias após o plantio da cana (LOPES, 1988).

2.2.1 Controle químico

A maioria dos estudos sobre o controle químico de *D. saccharalis* tem sido na cultura da cana-de-açúcar. Em estudos realizados nos Estados Unidos, a pulverização foliar de inseticidas para o controle de *D. saccharalis* resultou em aumento significativo nos rendimentos, até mesmo na presença de predação e variedades resistentes (BESSIN et al., 1990).

Devido ao hábito críptico, o controle químico de *D. saccharalis*, além de ser oneroso, torna-se inviável já que esta passa a maior parte de sua fase larval dentro do colmo, ficando difícil o contato com inseticidas (GALLO et al., 2002). Para a eficiência de inseticidas, estes devem ser aplicados enquanto as lagartas são ainda jovens e antes das mesmas penetrarem no interior do colmo. Algum controle pode ser também obtido até mesmo quando a lagarta está dentro do colmo, considerando que as lagartas deixam o túnel durante o processo de retirada dos seus excrementos para fora do colmo (CRUZ, 2007).

Dentre os inseticidas e dosagens registrados no Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA) para uso em cana-de-açúcar visando o controle da broca *D. saccharalis* pode-se citar triflumuron, fipronil, e carbofuran. Para o controle de *D. saccharalis* em milho o inseticida registrado é lambda-cyhalothrin, (MAPA/Agrofit, 2010). O inseticida triflumuron é um regulador de crescimento pertencente ao grupo das benzoiluréias e atua inibindo a biossíntese de quitina dos lepidópteros. O fipronil pertence ao grupo dos phenylpyrazóis e atua como antagonista dos canais de cloro. Lambda-cyhalotrin pertence aos piretróides e atua como modulador dos canais de sódio. O carbofuran pertence ao grupo dos carbamatos e atua como inibidor da acetilcolinesterase (IRAC, 2009).

Segundo Macedo (2006), *D. saccharalis* pode ser controlada com produtos do grupo dos reguladores de crescimento (por exemplo, triflumuron), quando a infestação atingir 3% ou mais de canas com presença de lagartas vivas, independente do número de lagartas por colmo, sendo que as lagartas devem ser pequenas até 1 cm e que não tenham penetrado na interior do colmo.

Segundo Hall, Nuessly e Gilbert (1991), o controle químico de *D. saccharalis* é mais eficaz antes que as lagartas entrem no colmo, sendo os inseticidas que podem ser utilizados são lambda-cyhalothrin, cyfluthrin e tebufenozide, além de outros como inseticidas à base de *Bacillus thuringiensis* subespécie *kurstaki*.

Reay-Jones et al. (2005) relataram que a suscetibilidade a tebufenozide foi reduzida em comparação aos anos anteriores, sendo verificada uma maior heterogeneidade dentro das populações. Mediante uso de bioensaio com concentração discriminatória de 0,5 ppm para estimar a frequência de resistência, esses autores verificaram populações com altas frequências de resistência (próximas de 50%) no estado de Louisiana, Estados Unidos da América.

2.2.2 Controle biológico

Fatores como a exposição dos ovos e das lagartas neonatas de *D. saccharalis* tornam esta praga muito suscetível aos efeitos adversos do clima (GODFREY; HOLTZER, 1991) e ao controle natural por inimigos naturais (MOULTON et al., 1992).

Dentre os inimigos naturais eficientes no controle de *D. saccharalis*, destacam-se os parasitóides, especialmente das espécies que atuam sobre os ovos, como *Trichogramma galloi* (Hymenoptera: Trichogrammatidae), Outros parasitóides associados à praga são *Agathis stigmaterus* (Hymenoptera: Braconidae); *Lixophaga diatraeae* (Diptera: Tachinidae), com

grande potencial, por causar naturalmente níveis altos de parasitismo, embora não muito persistente no campo. O parasitóide larval *Cotesia flavipes* (Hymenoptera: Braconidae) é um dos inimigos mais utilizados em cana-de-açúcar com eficiente controle em condições de campo (CRUZ, 2007).

Segundo Botelho (1992), o controle biológico da *D. saccharalis*, ao longo de 15 anos de pesquisa, na região que abrange os estados do Paraná, São Paulo, Minas Gerais, Mato Grosso do Sul e Mato Grosso, correspondendo a uma área de 2,3 milhões de hectares, era realizado com os principais parasitóides larvais dessa praga, as moscas *Metagonistylum minense*, *Paratheresia claripalpis* (espécies nativas) e a vespa *Apanteles flavipes* (espécie introduzida).

Cotesia flavipes (Cameron, 1891) é uma vespa endoparasitóide originária de Trinidad e Tobago que foi introduzida no Brasil em 1974, para ser utilizada no controle de lagartas da broca-da-cana., principalmente quando as lagartas já se encontram dentro dos colmos da cana-de-açúcar. Trata-se de um parasitóide gregário, haplodiplóide, onde as fêmeas originam-se de ovos fertilizados, enquanto que os machos são produzidos por partenogênese arrenótoca, ou seja, de ovos não fertilizados (VETORELLI et al., 1999).

O ciclo de vida de *C. flavipes* é de aproximadamente de 20 dias, dependendo da temperatura e a idade do hospedeiro, uma iluminação adequada favorece a cópula e emergência das larvas. Os ovos são redondos alongados de 0,09 mm de longitude; a quantidade depositada pelas fêmeas é variável, e em 3 a 4 dias eclodem as larvas, alimentando-se do interior das lagartas dos lepidópteros, passam por 3 ínstaras em um período de 3 a 12 dias (PARRA et al., 2002).

O controle biológico de *D. saccharalis* é realizado a partir de liberações inundativas do parasitóide larval *C. flavipes* no Brasil. A liberação desta vespinha é realizada em uma única vez ou de forma parcelada sempre que a população atingir o mínimo de 800 a 1000 lagartas por hectare (PARRA et al., 2002; SEGATO et al., 2006).

O controle biológico com *C. flavipes* é eficiente, mas não atinge a totalidade das lagartas, permanecendo uma parcela não controlada. Estudos de transformações genéticas da cana-de-açúcar com genes que codificam inibidores de proteinases ou a toxinas de *Bacillus thuringiensis* (Bt) podem ser uma opção viável de manejo de *D. saccharalis* (FALCO; SILVA-FILHO, 2003; BRAGA et al., 2003), mas a eficiência destas táticas de controle ainda precisa ser confirmada e disponibilizada.

Observaram-se em estudos com supressão de inseticidas, que o complexo de artrópodes predadores de *D. saccharalis* pode ter um impacto na redução da infestação desta praga (HENSLEY et al., 1961, REAGAN et al. 1972 apud BEUZELIN et al, 2009). Uma redução de 16% dos danos causados por *D. saccharalis* foi observado em estudo de campo, replicados para comparar os efeitos da depredação, resistência dos cultivares de cana-de-açúcar e as aplicações de inseticidas (BESSIN et al., 1990).

2.3 Efeitos letal e subletal de inseticidas sobre *Cotesia* spp.

Existem dois métodos de exposição do inimigo natural ao inseticida, visando à obtenção de resultados sobre a letalidade do produto ao agente de controle biológico. Segundo Stapel; Cortesero; Lewis (2000), medir os níveis de mortalidade por exposição direta aos inseticidas é um método muito comum de avaliação, e os possíveis efeitos subletal como consequência indireta de qualquer exposição indireta ou direta, seguem sendo relativamente desconhecidas. O impacto dos efeitos subletal de inseticidas no sucesso do controle biológico pode comprometer essa tática de controle.

Segundo Hill; Foster (2000), em alguns sistemas de manejo de pragas, alguns pesticidas tem se mostrado seletivos por apresentar impacto negativo sobre inimigos naturais. Geralmente organofosforados, carbamatos e piretídeos são considerados altamente tóxicos para agentes de controle biológico (CROFT, 1990).

A compatibilidade de agentes de controle biológico com inseticidas tem sido uma preocupação central no programa de manejo integrado de pragas e ocorre principalmente em função da seletividade dos inseticidas aplicados aos inimigos naturais (PARRA et al., 2002). O procedimento mais comum das avaliações tem sido as comparações de toxicidade aguda entre as espécies de pragas e seleção dos agentes de biocontrole (STARK; VARGAS; BANKS, 2007).

Os métodos clássicos de laboratório para estimar o efeito de pesticidas em artrópodes benéficos por vários anos têm sido a estimativa da dose letal média (DL_{50}) ou da concentração letal (CL_{50}) e o desenvolvimento de testes de seletividade para identificar produtos com baixa atividade em organismos não-alvos. Entretanto, a estimativa da seletividade era baseada em valores de DL_{50} , e os efeitos subletal de pesticidas nos organismos benéficos não eram estudados. O impacto de pesticidas em inimigos naturais não está limitado apenas à mortalidade, pois podem

causar efeitos subletal na fisiologia e no desenvolvimento de organismos que sobrevivem à exposição de pesticidas, dependendo da dose/concentração o efeito poderá ser letal ou subletal (DESNEUX; DECOURTYE; DELPUECH, 2007).

A exposição direta de inimigos naturais a inseticidas pode ocasionar uma ampla gama de efeitos no organismo, incluindo a manifestação simultânea de múltiplos efeitos subletal. Por exemplo, além da morte, a exposição a uma substância tóxica pode promover a redução de longevidade, redução da prole, mudanças no tempo para reprodução, número de gerações, perda de peso e vigor, e mutações na descendência (STARK; BANKS, 2003).

A exposição de adultos de *Cotesia plutellae* a aos inseticidas carbofuran, cartap, mevinphos e quinalphos apresentaram alta mortalidade do parasitóide (100%). Quando expostos a outros inseticidas comomethomyl, metamidophos e deltamethrin foram também verificadas mortalidades próximas de 100%. Fenvalerate (40 ppm) causou 30,1% de mortalidade. Teflubenzuron (25 ppm) e Fenvalerate (33,3 ppm) não causaram mortalidade. Não foram observadas diferenças significativas na mortalidade entre sexos para todos os inseticidas testados (KAO; TZENG, 1992).

Há relatos de que os piretróides são inócuos para os adultos de *C. plutellae* (KAO; TZENG, 1992), *Apanteles* sp. (WADDILL, 1978), *A. murginiventris* (WILKINSON et al., 1979), *C. plutellae* (MANI; KRISHNAMOORTHY, 1984; FENG; WANG, 1984), e *A. taragamae* (PETER; DAVID, 1988). No entanto, o deltamethrin (28 ppm), causou 100% de mortalidade de adultos de *C. plutellae* (KAO; TZENG, 1992), Peter; David (1988) demonstraram que deltamethrin (2 ppm) causou 14% de mortalidade em adultos de *A. taragamae*. Mani; Krishnamoorthy (1984) reportou que deltamethrin (1,4 ppm) causou 10% de mortalidade de adultos de *C. plutellae*.

Os inseticidas do grupo dos reguladores de crescimento de insetos promovem alterações no desenvolvimento de inimigos naturais por meio da interrupção do processo de ecdise ou na formação da cutícula, além de atuar no sistema endócrino de insetos (DHADIALLA et al. (1998) apud DESNEUX; DECOURTYE; DELPUECH, 2007). Deformações no ovário também foram observadas em parasitóides expostos a inseticidas reguladores de crescimento por Schneider et al. (2004). Reguladores do crescimento de insetos, incluindo teflubenzuron, chlorfluazuron e teflubenzuron foram seletivos para adultos de *C. plutellae*. *B. thuringiensis* subsp. *kurstaki*

também não apresentou nenhum efeito negativo sobre adultos de *C. plutellae* (KAO; TZENG, 1992).

Os inseticidas do grupo das spinosinas também apresentam efeitos negativos sobre inimigos naturais. Li et al. (2005) demonstraram spinosad aplicado sobre lagartas de *Plutella xylostella*, causa mortalidade de ovos e larvas do endoparasitóide *C. plutellae*. Em outro experimento, com auxílio de líquidos de alto rendimento cromatografia, Li et al. (2006) demonstraram que spinosad aplicado sobre larvas do hospedeiro pode afetar as larvas desse parasitóide.

A via de entrada de um inseticida a um parasitóide imaturo pode ocorrer de duas formas: o inseticida pode ser consumido pelo parasitóide que se alimenta de seu hospedeiro e o composto tóxico ingressa por difusão desde os tecidos e fluídos do hospedeiro diretamente através da cutícula e as traquéias do parasitóide (STARK, et al., 1992). O parasitóide adulto pode entrar em contato com o inseticida ao se alimentar de néctar de flores e ao limpar seu copo com suas pernas, contaminando-o com os resíduos em seus tarsos (GRATWICK, 1957).

3 MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Resistência de Artrópodes a Pesticidas, Departamento de Entomologia e Acarologia Agrícola, Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” (ESALQ), Universidade de São Paulo (USP), Piracicaba/SP, no período de Agosto de 2008 a Maio de 2010.

3.1 Criação e manutenção de *D. saccharalis*

Uma população suscetível de referência de *D. saccharalis* (D/Lab) foi obtida no Laboratório de Resistência de Artrópodes a Pesticidas (ESALQ/USP). As populações de *D. saccharalis* oriundas de campo foram coletadas nas culturas de milho nas safras agrícolas de 2009/2010 nas principais regiões agrícolas do Brasil e uma população do Paraguai (Tabela 1). As lagartas foram mantidas em tubos de vidro (2,5 cm de diâmetro $\times$ 8,5 cm de altura), contendo dieta artificial (MACEDO et al., 1983), seguido de técnicas assépticas de criação de insetos descrita por Parra (1999). Em cada tubo foram inoculadas de 10 a 15 lagartas, as quais permaneceram até a fase de pupa. Por ocasião da pupação, as pupas foram retiradas e acondicionadas em placas de Petri (10 cm de diâmetro $\times$ 1,5 cm de altura) forradas com papel filtro e cobertas com um copo plástico (150 ml) invertido, até a emergência dos adultos. Por ocasião da emergência, os adultos foram repassados para gaiolas cilíndricas de PVC (20 cm altura $\times$ 15 cm de diâmetro), revestidas internamente com papel sulfite branco e fechadas na parte superior com placas de Petri. O alimento foi uma solução aquosa de mel a 10%. Sob a gaiola foi colocada uma camada de folha absorvente com papel de filtro a qual foi embebida com água destilada para manter alta umidade e mantidas em sala de criação a temperatura de $25\pm 1^{\circ}\text{C}$, umidade relativa de $70\pm 10\%$ e fotofase de 14 horas. Os ovos foram coletados e tratados com sulfato de cobre a 1%, e uma vez secos, foram acondicionados em potes de plástico (10 cm de diâmetro $\times$ 8 cm de altura) contendo algodão embebido com água destilada para a manutenção da umidade e incubados em câmara climatizada a $25\pm 1^{\circ}\text{C}$ e fotofase de 14 horas. Após a eclosão, parte das lagartas foram inoculadas em dieta artificial para a manutenção da criação e o restante foi utilizado para realização dos bioensaios.

Tabela 1 - Procedência data de coleta e código das populações de *D. saccharalis* coletadas na cultura do milho nas diferentes regiões do Brasil e de Paraguai (2009-2010)

Região	Município	Data de Coleta	Código da população	Latitude	Longitude
Bahia	São Desidério-BA	09/03/2009	BA	12° 20'46.35"S	44°59'50.67"O
Goiás	Catalão-GO	17/03/2009	GO	18° 09'25.97"S	48°02'48.92"O
Paraná	Ponta Grossa-PR	02/02/2009	PR	25°05'45.06"S	50°13'30.32"O
Mato Grosso	Sorriso-MT	14/07/2009	MT	12°32'01.72"S	55°47'21.18"O
São Paulo	Itaberá-SP	31/03/2009	SP	23°51'24.35"S	49°07'03.22"O
Paraguai	San Lorenzo-PY	17/02/2010	PY	25°20'10.21"S	57°34'06.91"O

3.1.1 Caracterização das linhas-básicas de suscetibilidade de *D. sacharalis* a triflumuron, lambda-cyhalothrin e fipronil

A caracterização das linhas-básicas de suscetibilidade de *D. saccharalis* foi realizada para a população suscetível de referência (D/Lab) e uma população coletada na região da Bahia (D/BA) para os inseticidas: triflumuron (Certero, solução concentrada [480 g I.A./L], Bayer S.A. São Paulo/SP); lambda-cyhalothrin (Karate Zeon, suspensão encapsulada [50 g I.A./L], Syngenta Proteção de Cultivos Ltda. São Paulo/SP) e fipronil (Regent, granulado dispersível [800 g I.A./kg], BASF S.A. São Paulo/SP).

Foi utilizado como bioensaio padrão de ingestão mediante o tratamento superficial de dieta artificial com inseticida. Cada célula da placa plástica (Costar[®], Cambridge, Massachusetts, EUA), contendo um total de 24 células, foi preenchida com 1,25 mL de dieta artificial e mantida em câmara de fluxo laminar com luz ultravioleta até a geleificação da dieta. As diferentes concentrações dos inseticidas foram obtidas mediante a diluição em água de osmose reversa com adição de 0,1% (v/v) do surfactante Triton[®] a cada concentração testada. Com auxílio de uma micropipeta foram transferidos 30 µL da solução inseticida para cada célula da placa com a concentração a ser testada. As placas do tratamento testemunha receberam apenas surfactante a 0,1% (v/v). Após a contaminação da superfície da dieta com inseticida, as placas foram mantidas em câmara de fluxo laminar até a secagem da solução inseticida. Para o triflumuron foram testadas concentrações de 0,1; 0,32; 1,0; 3,2; 10; 32; 100 e 320 ppm; para o inseticida lambda-cyhalothrin foram testadas concentrações de 0,1; 0,32; 1,0; 3,2 e 10 ppm, e para o inseticida fipronil foram testadas as concentrações de 0,1; 0,32; 1,0; 3,2; 10,0 e 32,0 ppm.

Após a secagem do inseticida aplicado na superfície de cada célula, foi inoculada uma lagarta segundo instar com o auxílio de um pincel fino. As placas foram fechadas com lâminas de transparências fixadas por filme plástico transparente furado com alfinetes que permite as trocas gasosas com o ambiente externo. As placas com as lagartas foram mantidas a $25\pm 2^{\circ}\text{C}$, fotoperíodo 14:10 (L:D) h por um período de 120 h para o triflumuron, 24 h para lambda-cyhalothrin e 96 h para fipronil. Após esse período, foi realizada a avaliação dos bioensaios, considerando-se mortos os indivíduos que ao serem tocados com a ponta de um estilete nos últimos segmentos abdominais não respondiam com movimentos coordenados.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com 5 repetições por concentração (24 lagartas/repetição), totalizando 120 indivíduos por concentração de cada inseticida. Os dados de mortalidade foram submetidos à análise de Probit utilizando o programa POLO-PC (LeORA Software, 1987). A mortalidade foi corrigida pela fórmula de Abbott (Abbott, 1925). A partir da curva de concentração-resposta de *D. saccharalis* para cada inseticida testado, foram estimadas a CL_{50} e CL_{90} (CL = Concentração Letal), respectivos intervalo de confiança (IC 95%) e valores de coeficiente angular.

3.1.2 Monitoramento da suscetibilidade de populações de *Diatraea saccharalis* a triflumuron, lambda-cyhalothrin e fipronil

A suscetibilidade de populações de *D. saccharalis* aos inseticidas triflumuron, lambda-cyhalothrin e fipronil foram avaliadas em estados produtores de cana-de-açúcar e milho do Brasil: Goiás, Paraná, Minas Gerais, Rio Grande do Sul e uma população de Paraguai (Tabela 1). O monitoramento da suscetibilidade foi realizado utilizando-se bioensaios de concentração diagnóstica de 320, 3,2 e 32 ppm de triflumuron, lambda-cyhalothrin e fipronil respectivamente. Foram utilizadas lagartas de segundo instar. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com r pelo menos 20 repetições (24 lagartas/repetição) para cada população, além da testemunha. Os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas com a resposta da linhagem suscetível (D/Lab) pelo teste bilateral de Dunnett (SAS Institute, 1993). O nível de significância de teste foi de 5%.

3.2 Efeitos letal e subletal de triflumuron e lambda-cyhalothrin sobre *Cotesia flavipes*

Os adultos de *C. flavipes* foram obtidos da empresa BUG Agentes Biológicos e CTC (Centro de Tecnologia Canavieira) em copos contendo casulos dos quais emergiram os adultos do parasitóide. Os inseticidas utilizados para avaliar os efeitos letal e subletal sobre o parasitóide *C. flavipes* foram: triflumuron (Certero, solução concentrada [480 g I.A./L], Bayer S.A. São Paulo/SP) e lambda-cyhalothrin (Karate Zeon, suspensão encapsulada [50g I.A./L], Syngenta Proteção de Cultivos Ltda. São Paulo/SP). Para cada inseticida foram utilizadas as concentrações comerciais recomendadas de 0,08 g i.a de triflumuron por litro de água para a cultura da cana-de-açúcar e de 0,075 g i.a de lambda-cyhalothrin por litro de água para a cultura do milho. Foram avaliadas também as concentrações correspondentes a 10% e 50% das concentrações recomendadas.

O bioensaio utilizado foi de contato residual. Arenas de 3,3 cm foram confeccionadas a partir de folhas de cana-de-açúcar coletadas de plantas sem aplicação de inseticidas

As arenas foram mantidas em algodão umedecido até a pulverização das diferentes concentrações de cada inseticida. A pulverização foi realizada sobre a superfície abaxial dos discos de folha com uso da torre de pulverização Potter (Burkard Manufacturing, Rickmansworth, Herts, Reino Unido) calibrada a pressão de 10 psi (68,95 kPa). Foi utilizado um volume de 2 mL de solução em cada pulverização, para que fosse obtida uma deposição média de resíduo úmido de 1,56 mg /cm² sobre cada arena. Os inseticidas e suas respectivas concentrações utilizadas foram triflumuron (0,8; 4,0 e 8,0 ppm), lambda-cyhalothrin (0,75; 3,75 e 7,5 ppm) valores correspondentes a 10%, 50% e 100% da concentração recomendada. Após a pulverização, as arenas foram transferidas sobre algodão umedecido até a secagem do produto. Posteriormente, as arenas foram acondicionadas em placas acrílicas de 3,5 cm de diâmetro (Falcon 1008, Becton Dickinson Labware, Lincoln Park, NJ, Estados Unidos) contendo 2 ml de uma mistura ainda não geleificada de ágar-água na concentração de 2% (adaptado de BARBER et al., 1999).

Em cada arena foram transferidos 4 parasitóides adultos (machos e fêmeas) em cada arena, em resíduos de 0, 24 e 48 h dias após da aplicação dos inseticidas triflumuron e lambda-cyhalothrin. Em seguida, as placas foram vedadas com filme plástico de PVC (Magipack[®]) e furadas para facilitar as trocas gasosas. Gotículas de mel foram colocadas sobre o filme plástico

para a alimentação dos adultos do parasitóide. Posteriormente, as placas foram tampadas e transferidas para câmara climatizada à temperatura de $25 \pm 1^\circ\text{C}$, umidade relativa de $70 \pm 10\%$ e fotofase de 14 h.

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado. Para cada concentração do inseticida testado, os bioensaios foram repetidos cinco vezes, sendo que cada repetição foi constituída por cinco placas por concentração contendo quatro parasitóides e na testemunha (pulverização com água destilada), totalizando 100 insetos por concentração.

A avaliação da mortalidade foi realizada após 24 h, considerando-se mortos os parasitóides que não apresentam movimentos de seus apêndices e não conseguiram voltar à posição normal e caminhar ao serem tocados com um pincel foram considerados mortos. Os adultos de *C. flavipes* que sobreviveram (geração parental) à exposição de resíduos dos inseticidas triflumuron e lambda-cyhalothrin foram resgatados para avaliação de longevidade.

A avaliação da longevidade realizada na geração parental consistiu da exposição dos parasitóides adultos a resíduos dos inseticidas testados (triflumuron e lambda-cyhalothrin), por um período de 24 h. Uma gotícula de mel foi colocada no interior dos tubos para a alimentação.. A sexagem foi feita baseada nos caracteres das antenas (Wilkinson, 1928).

Os experimentos foram conduzidos em sala climatizada à temperatura de $25 \pm 1^\circ\text{C}$, umidade relativa de $70 \pm 10\%$ e fotofase de 14 h.

Os dados de porcentagem de mortalidade e longevidade de cada tratamento foram submetidos à análise de variância e as médias entre tratamentos foram comparadas pelo teste de Tukey. As análises foram realizadas com o programa estatístico SAS System for Windows versão 9.1. O nível de significância adotado foi de $\alpha=0,05$.

3.3 Efeito indireto de lambda-cyhalothrin, triflumuron e fipronil sobre *Cotesia flavipes*

Lagartas de *D. saccharalis* de 2º ínstar foram expostas a CL_{25} pelo método de aplicação superficial na dieta artificial dos inseticidas lambda-cyhalothrin, triflumuron e fipronil. As lagartas sobreviventes a esta exposição, foram transferidas para placas de plástico (de 7,5 cm de diâmetro) e alimentadas com dieta artificial. As lagartas que foram parasitadas por *C. flavipes* quando atingiram o 4º ínstar (1,5 a 2,0 cm). As lagartas parasitadas foram transferidas para placas

de plástico (de 5 cm de diâmetro) contendo dieta artificial para a alimentação até a formação de pupas do parasitóide ou verificação de mortalidade da lagarta.

Foi avaliada a porcentagem de adultos do parasitóide emergidos, mortalidade de larvas e pupas e o crescimento populacional da F_1 de *C. flavipes* que tinham sucesso no primeiro parasitismo. O delineamento experimental adotado foi o inteiramente casualizado, constituído por 3 tratamentos com 5 repetições constituídas por placas contendo 5 lagartas cada uma.

Os dados de porcentagem de emergência, mortalidade de pupas e larvas do parasitóide de cada tratamento foram submetidos à análise de variância e teste de Tukey para comparação das médias dos tratamentos. A avaliação do crescimento populacional foi realizada no momento de emergência dos adultos de *C. flavipes* (F_1), até 21 dias após o parasitismo. Foi contabilizado o número total de parasitóides/placa (larvas, pupas e adultos). Os dados do número final de parasitóide por tratamento (N_f) foram submetidos à análise de variância, as médias dos tratamentos comparadas com o controle pelo teste de Dunett. As análises foram realizadas com o programa estatístico SAS System for Windows versão 9.1. O nível de significância adotado foi o de $\alpha = 0,05$. Os resultados obtidos para a taxa instantânea de crescimento (r_i) foram interpretados utilizando a seguinte fórmula:

$$r_i = \frac{\ln(N_f/N_0)}{\Delta t}$$

onde: N_f é o número final de formas imaturas (ovos, larvas e pupas) e adultos do parasitóide, N_0 é o número inicial de parasitóides utilizados no parasitismo inicial e Δt é o período de duração do bioensaio, no qual os parasitóides permaneceram em contato com o hospedeiro. De acordo com a equação, se o valor estimado para $r_i = 0$ se observa equilíbrio no crescimento populacional; para tanto, se $r_i > 0$, indica que há crescimento populacional e si $r_i < 0$, indica que a população está sofrendo um declínio que poderá levá-la a extinção, quando $N_f = 0$ (STARK & BANKS, 2003).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Caracterização das linhas- básicas de suscetibilidade de *D. saccharalis* a triflumuron, lambda-cyhalothrin e fipronil

Os resultados da caracterização das linhas-básicas de suscetibilidade das populações de laboratório (D/Lab) e da Bahia (BA) estão expressos na Tabela 2.

Para triflumuron, a CL_{50} (IC 95%) estimada para população de laboratório (D/Lab) foi de 5,85 ppm I.A. (3,62 – 9,03), coeficiente angular ($\pm$ erro padrão da média) de 0,83 ($\pm 0,35$), ($\chi^2 = 30,5$; g.l. = 8; $P > 0,05$). A CL_{50} (IC 95%) estimada para população da Bahia (BA) foi de 15,58 ppm I.A. triflumuron (10,9–21,0), coeficiente angular ($\pm$ erro padrão da média) de 1,41($\pm 0,94$), ($\chi^2 = 7,7$; g.l. = 6; $P > 0,05$). Não foi observada sobreposição dos intervalos de confiança das CL_{50} s entre as populações de laboratório e da Bahia, indicando que as curvas de concentração- resposta são distintas, resultado confirmado pelos testes de igualdade e paralelismo, que foram rejeitados ($\chi^2 = 60,39$; g.l.= 2; $p < 0,05$) e ($\chi^2 = 41,31$; g.l.= 1; $p < 0,05$), respectivamente. A concentração diagnóstica de 320 ppm I.A. triflumuron (CL_{99}) foi definida para programas de monitoramento da suscetibilidade de *D. saccharalis* (Figura1).

Tabela 2 - Respostas de lagartas de 2º instar das populações de *Diatraea saccharalis* de laboratório (D/Lab) e da Bahia (D/BA) a triflumuron, lambda-cyhalothrin e fipronil, após infestação em bioensaio de tratamento superficial na dieta artificial

Produto	População	n ^a	Coeficiente angular (± desvio padrão)	CL ₅₀ (ppm ^b) (I.C. 95%)	CL ₉₀ (ppm ^b) (I.C. 95%)	χ ²	g.l. ^c	h ^d
triflumuron	D/Lab	2358	0,83±0,35	5,85 (3,62–9,03)	200,00 (107,9–462,0)	30,5	8	3,82
	BA	757	1,41±0,94	15,58 (10,9–21,0)	126,6 (89,5–197,6)	7,7	6	1,28
lambda-cyhalothrin	D/Lab	832	3,14±0,261	0,72 (0,61–0,83)	1,85 (1,53–2,42)	5,9	5	1,18
	BA	638	2,84±0,303	0,41 (0,33–0,48)	1,15 (0,96–1,46)	1,9	4	0,64
Fipronil	D/Lab	941	1,93±0,122	0,87 (0,63–1,17)	4,03 (2,71–7,53)	19,6	6	3,27
	BA	660	1,69±0,112	1,64 (0,88–3,12)	9,43 (3,85–131,9)	55,2	5	11,05

^a número de indivíduos testados

^b µg triflumuron, λ-cyhalothrin e fipronil / mL de água

^c graus de liberdade

^d heterogeneidade

Figura 1 - Curva de concentração-resposta de lagartas de segundo ínstar da população de laboratório (D/Lab) e da Bahia (BA) de *Diatraea saccharalis* a triflumuron, com bioensaio de tratamento superficial de dieta artificial

Para lambda-cyhalothrin, a CL_{50} (IC 95%) estimada para população de laboratório (D/Lab) foi de 0,72 ppm I.A. (0,61 – 0,83), coeficiente angular ($\pm$ erro padrão da média) de 3,14 ($\pm 0,26$), ($\chi^2 = 5,9$; g.l. = 5; $P > 0,05$). A CL_{50} (IC 95%) estimada para população da Bahia (D/BA) foi de 0,41 ppm I.A. lambda-cyhalothrin (0,33–0,48), coeficiente angular ($\pm$ erro padrão da média) de 2,84 ($\pm 0,303$), ($\chi^2 = 1,9$; g.l. = 4; $P > 0,05$). Não foi observada sobreposição dos intervalos de confiança das CL_{50} s entre as populações de laboratório e da Bahia, indicando que as curvas de concentração- resposta são distintas, resultado confirmado pelo teste de igualdade que foi rejeitado ($\chi^2 = 40,21$; g.l. = 2; $p < 0,05$) e o paralelismo foi aceito ($\chi^2 = 0,68$; g.l. = 1; $p > 0,05$), respectivamente. A concentração diagnóstica de 3,2 ppm I.A. lambda-cyhalotrin (CL_{99}) foi definida para programas de monitoramento da suscetibilidade de *D. saccharalis* (Figura2).

Figura 2 - Curva de concentração-resposta de lagartas de segundo instar da população de laboratório (D/Lab) e da Bahia (BA) de *Diatraea saccharalis* a lambda-cyhalothrin com bioensaio de tratamento superficial de dieta artificial

Para fipronil, a CL_{50} (IC 95%) estimada para população de laboratório (D/Lab) foi de 0,87 ppm I.A. (0,63 – 1,17), coeficiente angular ($\pm$ erro padrão da média) de 1,93 ($\pm 0,12$), ($\chi^2 = 19,6$; g.l. = 6; $P > 0,05$). A CL_{50} (IC 95%) estimada para população da Bahia (D/BA) foi de 1,64 ppm I.A. para fipronil (0,88–3,12), coeficiente angular ($\pm$ erro padrão da média) de 1,69 ($\pm 0,112$), ($\chi^2 = 55,2$; g.l. = 5; $P > 0,05$). Não foi observada sobreposição dos intervalos de confiança das CL_{50} s entre as populações de laboratório e da Bahia, indicando que as curvas de concentração- resposta são distintas, resultado confirmado pelo teste de igualdade que foi rejeitado ($\chi^2 = 38,07$; g.l. = 2; $p < 0,05$) e o paralelismo foi aceito ($\chi^2 = 2,20$; g.l. = 1; $p > 0,05$), respectivamente. A concentração diagnóstica de 32 ppm I.A. fipronil (CL_{99}) foi definida para programas de monitoramento da suscetibilidade de *D. saccharalis* (Figura3).

Figura 3 - Curva de concentração-resposta de lagartas de segundo instar da população de laboratório (D/Lab) e da Bahia (BA) de *Diatraea saccharalis* a fipronil, com bioensaio de tratamento superficial de dieta artificial

4.2 Monitoramento da suscetibilidade de populações de *D. saccharalis* a triflumuron, lambda-cyhalothrin e fipronil

Pelos resultados obtidos a partir do monitoramento da suscetibilidade das populações de *D. saccharalis* a triflumuron, lambda-cyhalothrin e fipronil (Tabela 3), verifica-se que há diferenças significativas entre as populações testadas na suscetibilidade a estes inseticidas, sendo que as maiores sobrevivências foram observadas para o triflumuron nos estados de Mato Grosso, Paraná e São Paulo, onde provavelmente ocorra uma maior pressão de seleção com esse inseticida. Para lambda-cyhalothrin e fipronil, as sobrevivências foram baixas, com diferenças significativas em relação à população D/Lab somente para a população de Goiás (2,7% de sobrevivência) para fipronil e a população do Paraná para lambda-cyhalothrin (7,9% de sobrevivência).

Pode observar-se na tabela que no caso de triflumuron nos estados em que foram apresentadas diferenças significativas são regiões onde a pressão seletiva pode ser muito grande devido que as culturas de milho e cana-de-açúcar estão próximas, e em aquelas que só têm milho ele é semeado praticamente o ano todo. Além disso, o mesmo produto é utilizado para o controle

da lagarta do cartucho *Spodoptera frugiperda* e a *D. saccharalis*, e também são utilizados outros produtos com o mesmo modo de ação, como lufenuron, o que aumentaria a pressão de seleção. No caso do fipronil, normalmente ele é mais usado na cultura da cana-de-açúcar em aplicações no momento do plantio aplicado no solo. Já no caso de lambda-cyhalothrin é mais usado na cultura de milho também para o controle de *S. frugiperda* e *D. saccharalis* que no caso poderia afetar a suscetibilidade de elas ao produto.

Tabela 3- Porcentagem média de sobrevivência ($\pm$ erro padrão) a triflumuron, fipronil e lambda-cyhalothrin em populações de *D. saccharalis* coletadas em diferentes regiões do Brasil, com exposição às concentrações equivalentes a CL₉₉ da população de laboratório (suscetível)

Produto^a	População	n^b	% Sobrevivência ($\pm$erro padrão)
triflumuron (320 ppm)^a	D/LAB (S)	475	0,85($\pm$ 0,080)
	Goiás	475	4,84($\pm$ 0,212)
	Mato Grosso	461	32,32($\pm$ 0,905)*
	Paraná	471	34,18($\pm$ 0,645)*
	São Paulo	466	18,88($\pm$ 0,665)*
	Paraguai	476	5,89($\pm$ 0,275)
Fipronil (32 ppm)^a	D/LAB (S)	477	0,43($\pm$ 0,060)
	Goiás	479	2,71(0,188)*
	Mato Grosso	468	1,50($\pm$ 0,0115)
	Paraná	473	1,48($\pm$ 0,135)
	São Paulo	462	0,22($\pm$ 0,045)
	Paraguai	472	0,21($\pm$ 0,043)
lambda-cyhalothrin (3,2ppm)^a	D/LAB (S)	477	0,42($\pm$ 0,059)
	Goiás	480	1,67($\pm$ 0,114)
	Mato Grosso	472	0,21($\pm$ 0,043)
	Paraná	479	7,93($\pm$ 0,246)*
	São Paulo	478	1,46($\pm$ 0,155)
	Paraguai	472	0,84($\pm$ 0,080)

a/ CL₉₉ de triflumuron, fipronil e lambda-cyhalothrin na população suscetível

b/ número de lagartas testadas

(*) Médias seguidas por asterisco (dentro de cada produto), diferem da linhagem S, pelo teste de Dunnett ($\alpha = 0,05$).

4.3 Efeitos letal e subletal de triflumuron e lambda-cyhalothrin sobre *Cotesia flavipes*

No teste de contato residual com adultos do parasitóide, o inseticida lambda-cyhalothrin foi muito tóxico a *C. flavipes* em todas as concentrações testadas ($F = 108,9$; g.l. = 19 ; $P < 0,0001$). Por outro lado, triflumuron foi pouco tóxico ($F = 9,7$; g.l. = 19; $P = 0,0007$) (Tabela 4), mesmo quando os parasitóides foram expostos logo da aplicação dos inseticidas (0 h). Entretanto, Peter; David (1988) demonstraram que a deltametrina (2 ppm) causou 14% de mortalidade em adultos de *Apanteles taragamae*. No entanto, três inseticidas baseados em azadiractina (4,8 ppm), (20 ppm) e (20 ppm) causou 11,1, 16,7 e 5,6% de mortalidade em adultos, respectivamente; o lambda-cyhalothrin causou 88,5 % de mortalidade em adultos (HASEEB et al., 2004).

Tabela 4 - Porcentagem de mortalidade ($\pm$ erro padrão da média) de *Cotesia flavipes* após 24h de exposição a resíduos de 0 h de idade de triflumuron e lambda-cyhalothrin em discos de folha de cana-de-açúcar pulverizados em Torre de Potter nas concentrações de 100, 50 e 10% da concentração recomendada para cada inseticida

Tratamento	C.R*(ppm)	Mortalidade Média (%)			
		100% da C.R.	50% da C.R.	10% da C.R.	Testemunha
triflumuron	120	32 $\pm$ 2,75a	29 $\pm$ 2,86ab	17 $\pm$ 2,36bc	4 $\pm$ 0,94c
λ -cyhalothrin	75	100a	100a	67 $\pm$ 3,12b	2 $\pm$ 0,70c

Médias seguidas pela mesma letra, na linha, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de significância

* Concentração recomendada (ppm): triflumuron (120) e lambda-cyhalothrin (75)

A toxicidade de lambda-cyhalothrin para *C. flavipes* foi observada nos testes de contato residual em discos de folha de cana-de-açúcar com resíduos de 24 h de idade paratodas as concentrações testadas ($F = 26,22$; g.l. = 19; $P < 0,0001$). O triflumuron apresentou uma baixa toxicidade ($F = 12,76$; g.l. = 19; $P = 0,0002$), quando adultos de *C. flavipes* foram expostos após 24 h do tratamento dos discos de folha de cana-de-açúcar (Tabela 5). Entretanto, Mani; Krishnamoorthy (1984) divulgou que deltametrina (1,4 ppm) causou o 10% de mortalidade de adultos de *C. plutellae*.

Tabela 5 - Porcentagem de mortalidade ($\pm$ erro padrão da média) de *Cotesia flavipes* após 24h de exposição a resíduos de 24 h de idade de triflumuron e lambda-cyhalothrin em discos de folha de cana-de-açúcar pulverizados em Torre de Potter nas concentrações de 100, 50 e 10% da concentração recomendada para cada inseticida

Tratamento	C.R.*(ppm)	Mortalidade Média (%)			
		100% da C.R.	50% da C.R.	10% da C.R.	Testemunha
triflumuron	120	27 $\pm$ 2,4a	22 $\pm$ 1,9a	4 $\pm$ 1,2b	3 $\pm$ 1,1b
λ -cyhalothrin	75	100a	100a	71 $\pm$ 3,8a	7 $\pm$ 1,2b

Médias seguidas pela mesma letra, na linha, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de significância

* Concentração recomendada (ppm): triflumuron (120) e lambda-cyhalothrin (75)

Em resíduos de 48 h de idade, triflumuron apresentou baixa toxicidade em todas as concentrações testadas ($F = 7,64$; g.l. = 19; $P = 0,0022$). Por outro lado, lambda-cyhalothrin mostrou-se ainda bastante tóxico em todas as concentrações ($F = 177,47$; g.l. = 19; $P = 0,0001$) (Tabela 6). Entretanto, a exposição de adultos *Cotesia plutellae* a diferentes inseticidas foi testada em laboratório, sendo que os inseticidas carbofurano, cartap, mevinfos e quinalphos apresentaram alta mortalidade do parasitóide (100%). Quando expostos a metomilo, metamidofós e

deltametrina verificaram-se mortalidade de 99,8%; 99,8% e 99,6% respectivamente. Fenvalerate (40 ppm) causou 30,1% de mortalidade. Entretanto os demais inseticidas testados provocaram menos de 7% de mortalidade, entre os quais teflubenzuron (25 ppm) e fenvalerate (33,3 ppm) não causaram mortalidade. Também não foi observada diferença significativa na mortalidade entre sexos com todos os inseticidas testados (KAO; TZENG, 1992).

Tabela 6 - Porcentagem de mortalidade ($\pm$ erro padrão da média) de *Cotesia flavipes* após 24h de exposição a resíduos de 48 h de idade de triflumuron e lambda-cyhalothrin em discos de folha de cana-de-açúcar pulverizados em Torre de Potter nas concentrações de 100, 50 e 10% da concentração recomendada para cada inseticida

Tratamento	C.R.* (ppm)	Mortalidade Média (%)			
		100% da C.R.	50% da C.R.	10% da C.R.	Testemunha
triflumuron	120	20 $\pm$ 1,8a	20 $\pm$ 2,0a	13 $\pm$ 1,9ab	6 $\pm$ 1,3b
lambda-cyhalothrin	75	100a	97 $\pm$ 0,8 ^a	52 $\pm$ 2,3b	9 $\pm$ 1,6c

Médias seguidas pela mesma letra, na linha, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de significância

* Concentração recomendada (ppm): triflumuron (120) e lambda-cyhalothrin (75)

Na avaliação do efeito do inseticida triflumuron sobre a longevidade, foram verificadas diferenças significativas entre os tratamentos para os machos em resíduos de 0 h ($F = 4,62$; g.l.= 3, 96, $P = 0,0046$) e 24 h de idade ($F = 55,67$; g.l.= 3, 38, $P = 0,0001$). A longevidade na concentração de 10% da concentração recomendada, e 48h ($F = 41,79$; g.l.= 3, 69; $P = 0,0001$) não houve diferença significativa da geração parental do parasitóide *C. flavipes* na concentração recomendada e na concentração de 50% onde se observa valor nulo devido a morte dos parasitóides e 100% da concentração recomendada. No entanto, o inseticida lambda-cyhalothrin promoveu uma redução na longevidade de machos expostos a resíduos de 0 h para todas as concentrações testadas ($F = 1394,3$; g.l.= 3, 57, $P = 0,0001$), bem como para resíduos de 24 h ($F = 77,66$; g.l.= 3, 28; $P = 0,0001$) e de 48 h ($F = 122,48$; g.l.= 3, 49; $P = 0,0001$) (Tabela 7). Os estudos de efeitos na longevidade, após exposições de concentrações subletais de inseticidas, foram realizados em muitas outras espécies de parasitóides, sendo que a redução na longevidade pode ser considerada como efeito subletal ou mortalidade latente. As avaliações desses efeitos podem ser feitas por meio de estudos de tabela de vida (JERVIS et al., 1996 apud DESNEUX; DECOURTYE; DELPUECH, 2007).

Tabela 7 - Longevidade média em dias ($\pm$ erro padrão da média) machos de *Cotesia flavipes* após 24h de exposição a resíduos de 0, 24 e 48 h de idade de triflumuron e lambda-cyhalothrin em discos de folha de cana-de-açúcar pulverizados em Torre de Potter nas concentrações de 100, 50 e 10% da concentração recomendada para cada inseticida

Tratamento	C.R. ^a (ppm)	Tempo ^b (h)	Longevidade Média (dias)			
			100% da C.R.	50% da C.R.	10% da C.R.	Testemunha
triflumuron	120	0	3,61 $\pm$ 0,09ab	3,56 $\pm$ 0,06b	3,71 $\pm$ 0,04ab	3,82 $\pm$ 0,11a
		24	1,36 $\pm$ 0,07b	1,45 $\pm$ 0,13b	0,00c	2,05 $\pm$ 0,12a
		48	0,00b	0,00b	2,25 $\pm$ 0,01a	2,17 $\pm$ 0,11a
lambda-cyhalothrin	75	0	0,00b	0,00b	3,63 $\pm$ 0,13a	3,44 $\pm$ 0,04a
		24	0,00b	0,00b	1,08 $\pm$ 0,17a	1,45 $\pm$ 0,13a
		48	0,00c	0,00c	1,75 $\pm$ 0,50b	2,70 $\pm$ 0,12a

Médias seguidas pela mesma letra, na linha, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de significância

^a/ Concentração recomendada (ppm): triflumuron (120) e lambda-cyhalothrin (75)

^b/ Tempo de espera (em hora) para a exposição dos parasitóides após do tratamento dos discos de folha da cana-de-açúcar

Para o inseticida lambda-cyhalothrin, foram verificadas diferenças significativas para os parâmetros longevidade de fêmeas expostas a resíduos de 0 h após tratamento dos discos folhas de cana-de-açúcar ($F = 2018,28$; g.l. = 3, 80, $P = 0,0001$), 24h do tratamento ($F = 96,80$; g.l. = 3, 67; $P = 0,0001$) e 48 do tratamento ($F = 8,43$; g.l. = 3, 71; $P = 0,0001$) (Tabela 8). No entanto, não foi observada diferença significativa na longevidade de fêmeas do parasitóide *Tamarixia radiata* (Hymenoptera: Eulophidae) expostas a 10, 50 e 100% da concentração recomendada de lambda-cyhalothrin verificada por Ferrari (2009). Entretanto que uma redução na longevidade do parasitóide *Aphidius uzbekistanicus* Luzhetzki (Hymenoptera: Aphidiidae) foi verificado por Krespi et al. (1991) em diferentes fases do seu desenvolvimento quando expostos a deltamethrin, lambda-cyhalothrin e dimethoate. Além disso, Garcia et al. (2009) observaram que os inseticidas deltamethrin e lambda-cyhalothrin reduziram as taxas de emergência ($< 25\%$) do parasitóide *Trichogramma cordubensis* Vargas & Cabello (Hymenoptera: Trichogrammatidae) quando comparado com o controle (água), com valores variando em até 89%. Lambda-cyhalothrin foi o mais tóxico, com taxa de emergência variando de 7% a 15% para os adultos, além de o produto afetar a longevidade e fecundidade do parasitóide.

Tabela 8 - Longevidade média em dias ($\pm$ erro padrão da média) de fêmeas de *Cotesia flavipes* após 24h de exposição a resíduos de triflumuron e lambda-cyhalothrin, após 0, 24 e 48 h após da pulverização dos discos de folha de cana-de-açúcar em Torre de Potter nas concentrações de 100, 50 e 10% da concentração recomendada para cada inseticida

Produto	C.R. ^a (ppm)	Tempo ^b (h)	Longevidade Média (dias)			
			100% da C.R.	50% da C.R.	10% da C.R.	Testemunha
triflumuron	120	0	3,68 $\pm$ 0,03a	3,64 $\pm$ 0,04ab	3,67 $\pm$ 0,03a	3,54 $\pm$ 0,03b
		24	1,5 $\pm$ 0,07b	1,5 $\pm$ 0,07b	0,00c	1,97 $\pm$ 0,04a
		48	2,10 $\pm$ 0,05a	0,00b	2,13 $\pm$ 0,04a	1,84 $\pm$ 0,08a
lambda-cyhalothrin	75	0	0,00c	0,00c	3,66 $\pm$ 0,04a	3,44 $\pm$ 0,08b
		24	0,00c	0,00c	0,95 $\pm$ 0,12b	1,65 $\pm$ 0,13a
		48	1,98 $\pm$ 0,12ab	1,75 $\pm$ 0,50b	1,84 $\pm$ 0,11b	2,39 $\pm$ 0,07a

Médias seguidas pela mesma letra, na linha, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de significância

^a/ Concentração recomendada (ppm): triflumuron (120) e lambda-cyhalothrin (75)

^b/ Tempo de espera (em hora) para a exposição dos parasitóides após do tratamento dos discos de folha da cana-de-açúcar

4.4 Efeito indireto de lamba-cyhalothrin, triflumuron e fipronil sobre *Cotesia flavipes*

Na avaliação dos efeitos subletais quando larvas de *D.saccharalis* submetidas a CL₂₅ dos inseticidas triflumuron, lambda-cyhalothrin e fipronil, não se observaram diferença significativa na porcentagem de emergência de adultos da geração parental emergidos, tanto nos machos (F= 0,52; g.l.= 3, 13; P= 0,67861) e nas fêmeas (F= 2,15; g.l.= 3, 13; P= 0,1433), quando comparadas com a testemunha (Tabela 9). Kaspi e Parrella (2005) observaram que a porcentagem de emergência (0,0%) de adultos do parasitóide *Diglyphus disaea* foi afetada por abamectin na concentração recomendada, após o contato direto do produto com as larvas do parasitóide.

Tabela 9 - Porcentagem de emergência de adultos ($\pm$ erro padrão da média) da geração parental de *C. flavipes* provenientes de lagartas de *D. saccharalis* submetidas a CL₂₅ de triflumuron, lambda-cyhalothrin e fipronil

Produto	CL ₂₅ ^a (ppm)	n*	Emergência Média (%)	
			Macho	Fêmea
triflumuron	1	17	28,2 $\pm$ 4,19a	57,2 $\pm$ 4,75a
lambda-cyhalothrin	0,32	19	22,9 $\pm$ 4,55a	61,6 $\pm$ 4,92a
fipronil	1	21	18,4 $\pm$ 2,80a	36,0 $\pm$ 10,0a
testemunha	0	45	30.2 $\pm$ 0,83a	69.0 $\pm$ 0,86a

Médias seguidas pela mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de significância

^a/ Concentração letal 25 de cada produto testado

*(n): número de lagartas de *D. saccharalis* testados

Para a geração F₁, a porcentagem de adultos de *C. flavipes* emergidos não apresentou diferença significativa tanto para machos (F=0,84; g.l.= 3, 13; P= 0,4960) como para fêmeas (F=0,35; g.l.= 3, 13; P= 0,7925), quando comparadas com a testemunha (Tabela 10). No entanto, os efeitos dos inseticidas diflubenzuron e lambda-cyhalothrin foram avaliados sobre os parâmetros de emergência larval, período de desenvolvimento e emergência de adultos, razão sexual e mortalidade de adultos de *C. flavipes*, assim como também o efeito sobre a sobrevivência larval do hospedeiro *Chilo partellus*. Foi verificado que lambda-cyhalothrin provocou 100% de mortalidade de lagartas parasitadas após três dias da aplicação do inseticida Muzeyi e Jembere (2005).

Tabela 10 - Porcentagem de emergência de adultos ($\pm$ erro padrão da média) da geração F₁ de *C. flavipes* provenientes de lagartas de *D. saccharalis* submetidas a CL₂₅ de triflumuron, lambda-cyhalothrin e fipronil

Produto	CL ₂₅ ^a (ppm)	n*	Emergência Média (%)	
			Macho	Fêmea
triflumuron	1	20	29,58 $\pm$ 3,51a	61,02 $\pm$ 4,09a
lambda-cyhalothrin	0,32	21	17,45 $\pm$ 3,41a	70,98 $\pm$ 6,90a
fipronil	1	21	28,89 $\pm$ 0,14a	56,68 $\pm$ 0,31a
testemunha	0	39	30,35 $\pm$ 0,90a	69,24 $\pm$ 0,92a

Médias seguidas pela mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de significância

^a/ Concentração letal 25 de cada produto testado

*(n): número de lagartas de *D. saccharalis* testados

Para a porcentagem de larvas e pupas emergidas e mortas de *C. flavipes* provenientes de *D. saccharalis* expostas a CL₂₅ de triflumuron, lambda-cyhalothrin e fipronil, na geração parental não apresentaram diferenças significativas para larvas (F= 2,55; g.l.= 3, 13; P=0,1010), mas pode se observar que mortalidade alta sendo de 29,59 % para lambda-cyhalothrin, e nas pupas (F= 1,37; g.l.= 3, 13;P=0,2963) não foram observadas diferenças significativas (Tabela 11).

Tabela 11 - Porcentagem de mortalidade de lagartas e pupas ($\pm$ erro padrão da média) da geração parental de *C. flavipes* provenientes de lagartas de *D. saccharalis* submetidas a CL₂₅ de triflumuron, lambda-cyhalothrin e fipronil

Produto	CL ₂₅ ^a (ppm)	n*	Mortalidade Média (%)	
			Larvas	Pupas
triflumuron	1	17	4,31 $\pm$ 1,74a	10,34 $\pm$ 2,71a
lambda-cyhalothrin	0,32	19	4,05 $\pm$ 0,86a	11,41 $\pm$ 0,89a
fipronil	1	21	29,59 $\pm$ 7,42a	16,05 $\pm$ 4,27a
testemunha	0	45	0,60 $\pm$ 0,09a	0,22 $\pm$ 0,05a

Médias seguidas pela mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de significância

^a/ Concentração letal 25 de cada produto testado

*(n): número de larvas de *D. saccharalis* testados

Para mortalidade de *C. flavipes* da F₁ emergidas de larvas de *D. saccharalis* expostas as CL₂₅, não foram observadas diferenças significativas para larvas (F= 0,79; g.l.= 3, 13; P= 0,5183), e para as pupas (F= 1,13; g.l.= 3, 13; P= 0,3732) não houve diferença significativa para os diferentes inseticidas (Tabela 12).

Tabela 12 - Porcentagem de mortalidade de lagartas e pupas ($\pm$ erro padrão da média) da geração F₁ de *C. flavipes* provenientes de lagartas de *D. saccharalis* submetidas a CL₂₅ de triflumuron, lambda-cyhalothrin e fipronil

Produto	CL ₂₅ ^a (ppm)	n*	Mortalidade Média (%)	
			Larvas	Pupas
triflumuron	1	20	6,76 $\pm$ 1,01a	2,63 $\pm$ 0,62a
lambda-cyhalothrin	0,32	21	7,25 $\pm$ 1,88a	1,06 $\pm$ 0,27a
fipronil	1	21	11,83 $\pm$ 3,87a	2,59 $\pm$ 0,79a
testemunha	0	39	0,33 $\pm$ 0,05a	0,09 $\pm$ 0,03a

Médias seguidas pela mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de significância

^a/ Concentração letal 25 de cada produto testado

*(n): número de lagartas de *D. saccharalis* testados

Para a geração parental e a F₁ de *C. flavipes* emergidos de larvas de *D. saccharalis* submetidas a CL₂₅ de triflumuron, lambda-cyhalothrin e fipronil em aplicação superficial na dieta, não se apresentaram diferenças significativas na razão sexual da geração parental (F=0,10; g.l.= 3, 13; P= 0,9612). Adicionalmente, para a geração F₁ (F= 0,34; g.l.= 3, 13; P= 0,7990) também não houve diferença significativa entre os tratamentos (Tabela 13)

Tabela 13 - Razão sexual ($\pm$ erro padrão da média) da geração parental e da F_1 de *C. flavipes* provenientes dos de lagartas de *D. saccharalis* submetidas a CL_{25} de triflumuron, lambda-cyhalothrin e fipronil

Produto	CL_{25}^a (ppm)	Média da Razão sexual			
		n*	Geração Parental	n*	F_1
triflumuron	1	17	0,68 $\pm$ 0,05a	20	0,67 $\pm$ 0,04a
lambda-cyhalothrin	0,32	19	0,73 $\pm$ 0,05a	21	0,77 $\pm$ 0,06a
fipronil	1	21	0,72 $\pm$ 0,05a	21	0,62 $\pm$ 0,06a
Testemunha	0	45	0,70 $\pm$ 0,01a	39	0,70 $\pm$ 0,01a

Médias seguidas pela mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de significância

^a/ Concentração letal 25 de cada produto testado

*(n): número de larvas de *D. saccharalis* testados

Na avaliação do crescimento populacional de *C. flavipes* que parasitaram lagartas de *D. saccharalis* submetidas a CL_{25} de triflumuron ($r_i = 0,08$), lambda-cyhalothrin ($r_i = 0,07$) e fipronil ($r_i = 0,06$) foram positivas em todos os casos, mas a lambda-cyhalothrin e o fipronil apresentaram diferenças significativas comparadas com a testemunha ($r_i = 0,11$) pelo teste de Dunnett ($p < 0,05$), o que indica que os inseticidas afetaram o crescimento populacional de *C. flavipes* (Tabela 14). Segundo Stark e Banks (2003), r_i estima o impacto de inseticidas no crescimento populacional de um determinado organismo e não apenas a toxicidade sobre um estágio de desenvolvimento. Uma das vantagens de avaliar o impacto de pesticidas no crescimento por meio de r_i é devido ao tempo de avaliação, sendo necessária só uma avaliação final, contudo para r_m , devem ser realizadas avaliações diárias (WALTHALL, W.; STARK, J.D., 1997).

Tabela 14 - Crescimento populacional de *C. flavipes* provenientes de lagartas de *D. saccharalis* expostas a CL₂₅ de triflumuron, lambda-cyhalothrin e fipronil, após período de 21 dias de início do experimento

Produto	CL ₂₅ ^a (ppm)	N _f ^a	r _i ^b
triflumuron	1	124,4±16,7*	0,08±0,005 ^{ns}
lambda-cyhalothrin	0,32	114,75±8,8*	0,07±0,005*
fipronil	1	89,75±4,9*	0,06±0,003*
Testemunha	0	509,5±6,28	0,11±0,0006

^a Número médio de parasitóides (larvas, pupas e adultos) por tratamento, vinte e um dias após a exposição (F = 58,54; g.l. = 3, 13; P = 0,0001).

^b Taxa intrínseca de crescimento (F= 5,74; g.l.=3, 13; P= 0,0100).

*significativo, diferiu significativamente do controle (Dunnett, p<0,05).

^{ns} não significativo, não diferiu significativamente do controle (Dunnett, p<0,05).

Embora alguns estudos tenham documentado efeitos subletal dos pesticidas sobre os inimigos naturais, os julgamentos só de mortalidade quando se considera a escolha entre vários pesticidas, deve ser feito no contexto de manejo integrado de pragas. Para avaliar plenamente os riscos, é essencial estabelecer uma ligação entre a toxicidade de um determinado produto em testes de laboratório e os riscos associados com a exposição em condições de campo (incluindo os efeitos letal e subletal) (DESNEUX; DECOURTYE; DELPUECH, 2007).

No presente trabalho foram avaliados os produtos sobre *D. saccharalis* e o impacto deles no seu inimigo natural *C. flavipes*. Os inseticidas amplamente utilizados no controle de *D. saccharalis* em cana-de-açúcar e no milho são os reguladores de crescimento (IGR's) del grupo das benzoylureas, sendo neste caso o triflumuron. Também o fipronil do grupo dos phenylpyrazoles, e o lambda-cyhalothrin do grupo dos piretróides. . Os métodos de bioensaio empregados nesse estudo foram o de contato residual, mediante a pulverização de discos de folhas de cana-de-açúcar em Torre de Potter, assim como o parasitismo de lagartas de *D. saccharalis* sobreviventes de exposição a CL₂₅ dos produtos utilizados, avaliando os efeitos letal e subletal respectivamente. As metodologias foram utilizadas com a intenção de simular condições de campo reais quando os parasitóides entram em contato com a folha com inseticidas, assim como quando a lagarta é parasitada dentro da cana por a fêmea do parasitóide. Com base nos

testes com discos de folhas de cana-de-açúcar pulverizados, verificou-se que lambda-cyhalothrin foi muito tóxico apresentando uma mortalidade de 67% para 10% da concentração recomendada assim como 100% de mortalidade para 50 e 100% da concentração recomendada respectivamente. Triflumuron causou uma mortalidade de 17% de adultos de *C. flavipes* a 10% da concentração recomendada e 29 e 32 % de mortalidade para 50 e 100% da recomendada quando expostos a resíduos de inseticidas de 0h de idade. Já nos resíduos de 48 h de idade, a mortalidade para o triflumuron foi de 13, 20 e 20 % para 10, 50 e 100% da concentração recomendada. Lambda-cyhalothrin causou mortalidade de 52, 97 e 100% de mortalidade para 10, 50 e 100% da concentração recomendada. Houve diferenças significativas na longevidade dos adultos para 0, 24 e 48 horas de idade dos inseticidas machos e fêmeas para as concentrações de 10, 50 e 100% dos inseticidas triflumuron e lambda-cyhalothrin.

Os inseticidas triflumuron, lambda-cyhalotrin e fipronil não apresentaram diferenças significativas na emergência da geração parental e nem da F₁; não apresentaram diferença significativa na mortalidade larval e pupal dos parasitóides emergidos das lagartas de *D. saccharalis*. No entanto, os inseticidas lambda-cyhalothrin e fipronil afetaram negativamente a sobrevivência, a longevidade e o crescimento populacional de *Cotesia flavipes*.

O presente estudo pode contribuir para fornecer subsídios para a implementação de programas de manejo de pragas tanto na cana-de-açúcar como no milho, de maneira que a utilização de produtos químicos seja realizada de forma cuidadosa para ter um melhor proveito dos agentes de controle biológico.

5 CONCLUSÕES

As concentrações diagnósticas definidas para o monitoramento da resistência de *D. saccharalis*, baseadas nas CL₉₉, foram de 320 µg de triflumuron /mL de água [I.A.(ppm)], 32 µg de fipronil /mL de água, e 3,2 µg de lambda-cyhalothrin/mL de água;

Diferenças significativas na suscetibilidade de populações de *D. saccharalis* foram observadas para triflumuron, lambda-cyhalothrin e fipronil;

Os inseticidas lambda-cyhalothrin e fipronil afetaram negativamente a sobrevivência, a longevidade e o crescimento populacional de *Cotesia flavipes*. Por outro lado, triflumuron não apresentou toxicidade sobre adultos de *C. flavipes*; mas afetou negativamente a longevidade do parasitóide.

REFERÊNCIAS

- ABBOTT, W.S. A method for computing the effectiveness of an insecticide. **Journal of Economic Entomology**, College Park, v.18, p.265-267, 1925.
- ALMEIDA, L.C.; STINGEL, E. **Curso de monitoramento e controle de pragas da cana-de-açúcar**. Piracicaba: Centro de Tecnologia Canavieira, 2005. 32 p.
- ARAGÓN, J. **Las principales plagas del cultivo. Métodos de control**. CREA: Maíz. Argentina. Cuaderno de actualización técnica., v.57, p.51-61, 1996.
- ARAGÓN, J.. Sistema de alarma de plagas agrícolas con trampas de luz y observaciones de campo Disponible em: http://www.mjuarez.inta.gov.ar/zoo/Sap_1298.htm Acesso em: 27 jul.2010
- BARBER, M.D.; MOORES G.D.; TATCHELL, G.M.; VICE, W.E.; DENHOLM, I. Insecticide resistance in the currant-lettuce aphid, *Nasonovia ribisnigri* (Hemiptera: Aphididae) in the UK. **Bulletin of Entomological Research**, Farnham Royal, v. 89, p. 17-23, 1999.
- BESSIN, R. T.; REAGAN, T. E. Fecundity of sugarcane borer (Lepidoptera: Pyralidae), as affected by larval development on gramineous host plants. **Environmental Entomology**, College Park, v. 19, p. 635-639, 1990.
- BESSIN, R. T.; REAGAN, T. E.; MOSER, E. B. Integration of control tactics for management of the sugarcane borer (Lepidoptera: Pyralidae) in Louisiana sugarcane. **Journal of Economic Entomology**, College Park, v. 83, p. 1563-1569, 1990.
- BEUZELIN, J. M.; REAGAN, T. E.; AKBAR, W.; CORMIER, H. J.; FLANAGAN, J. W.; BLOUIN, D. C. Impact of Hurricane Rita Storm Surge on Sugarcane Borer (Lepidoptera: Crambidae) Management in Louisiana. **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v.102, n.3, p. 1054-106, 2009.
- BUENO, D. **Dinámica poblacional de larvas invernantes de *Diatraea saccharalis* (Fab.) bajo distintas prácticas de manejo**. 2004. Tesina para optar al título de (Ingeniero Agrónomo)- Instituto de Ciencias Básicas y Aplicadas, Centro Universitario Mediterráneo, Universidad Nacional de Villa María, Córdoba, Argentina, 2004.
- BRAGA, D.P.V.; ARRIGONI, E.D.B.; SILVA-FILHO, M.C.; ULIAN, E.C. Expression of the Cry1Ab protein in genetically modified sugarcane for the control of *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae), **Journal of New Seeds**, Philadelphia, v. 5, p.209-222, 2003.
- BOTELHO, P.S.M. **Tabela de vida ecológica e simulação da fase larval da *Diatraea saccharalis* (Fabr., 1794) (Lep., Pyralidae)**. 1985. 110p. Tese (Doutorado em Ciências. Área de Concentração: Entomologia) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1985.

BOTELHO, P. S. M. Quinze anos de controle biológico da *Diatraea saccharalis* utilizando parasitóides. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v. 27, p. 255-262, 1992.

BOTELHO, P.S.M.; PARRA, J.R.P.; NETO, J.F.C.; 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, n.2, p.491-496, 1999.

BUG Agentes Biológicos. Disponível em: <<http://www.bugagentesbiologicos.com.br>>. Acesso em: 30 ago. 2008.

CAMPOS-FARINHA, A.E. de C. Biologia reprodutiva de *Cotesia flavipes* (Hymenoptera: Braconidae). 1996. 97p. Tese (Doutorado) - Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Rio Claro, 1996.

CAMPOS-FARINHA, A.E. de C. Biologia reprodutiva de *Cotesia flavipes* (Cameron) (Hymenoptera: Braconidae) V. avaliação do número de posturas, prole e razão sexual do parasitóide em relação ao tamanho do hospedeiro *Diatraea saccharalis* Fabricius (Lepidoptera: Pyralidae). **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v.67, n.2, p.249-252

CAPINERA, J.L., Sugarcane Borer, *Diatraea saccharalis* (Fabricius) (Insecta: Lepidoptera: Pyralidae). University of Florida, IFAS, 2007.

CONAB-Companhia Nacional do Abastecimento, Disponível em: <www.conab.com.br>. Acesso em: 21 ago 2008.

CINSOLI, F.L.; PARRA, J.R.P.; HASSAN, S.A. Side-effects of insecticides used in tomato fields on the egg parasitoid *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae), a natural enemy of *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae). **Journal of Applied Entomology**, Berlin, v.122, p. 43-47, 1998.

CROF, B.A. **Artropod biological control agents and pesticides**. New York: Wiley Interscience, 1990. 723p.

CRUZ, I. 2007. A Broca da Cana-de-Açúcar, *Diatraea saccharalis*, em Milho, no Brasil. Disponível em: <www.cnpms.embrapa.br/publicacoes/publica/2007/circular/Circ_90.pdf> Acesso em: 28 ago 2008.

DESNEUX, N.; DECOURTUE, A.; DELPUECH, J.M. The sublethal Effects of Pesticides on Beneficial Artropods. **Annual Review of Entomology**, Stanford, v.52, p. 81-106, 2007.

EMBRAPA Milho e Sorgo. **Cultivo do Milho**. 2.ed. . 2006. Disponível em: <http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Milho/CultivodoMilho_2ed/-k>. Acesso em: 13 set. 2008.

FALCO, M.C.; SILVA FILHO, M.C. Expression of soybean proteinase inhibitors in transgenic sugarcane plants: Effects on natural defense against *Diatraea saccharalis*. **Plant Physiology and Biochemistry**, Paris, v.41, p. 761-766. 2003.

FENG, H.T.; WANG, T.C. Selectivity of insecticide to *Plutella xylostella* (L.) and *Apanteles plutellae* Kurdj. **Plant Protection Bulletin**, Taichung, v.26, p.275-284, 1984.

FERRARI, B.M. **Efeitos letais e subletais de inseticidas sobre *Tamarixia radiata* (Waterston, 1922) (Hymenoptera: Eulophidae)**. 2009.76p. (Mestre em Ciências. Área de Concentração: Entomologia)- Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2009.

FLOYD, E.H. Survival of the sugarcane borer overwintering in cornstalks in Louisiana. **Journal of Economic Entomology**, College Park, v. 59, p. 825-827, 1966.

GALLO, D.; NAKANO, O.; SILVEIRA, N.S.; CARVALHO, R.P.L.; BAPTISTA, G.C. DE; BERTI FILHO, E.; PARRA, J.B.P.; ZUCCHI, R.A.; ALVES, S.B.; VENDRAMIN, J.D.; MARCHINI, L.C.; LOPES, J.R.S.; OMOTO, C. **Manual de entomologia agrícola**. 10.ed. Piracicaba: FEALQ. 2002. 920p.

GARCIA, J.F.; BOTELHO, P.S.M.; PARRA, J.R.P. Biology and fertility life table of *Mahanarva fimbriolata* (Stål) (Hemiptera: Cercopidae) in sugarcane. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v.63, n.4, p.1-6, 2006.

GARCIA, P.V.; PEREIRA, N.; OLIVEIRA, L.M. Side-effects of organic and synthetic pesticides on cold-stored diapausing prepupae of *Trichogramma cordubensis*. **BioControl**, Dordrecht, v. 54, p. 451-459, 2009.

GODFREY, L.D.; HOLTZER, T.O. Influence of temperature and humidity on european corn borer (Lepidoptera: Pyralidae) egg hatchability. **Environment Entomology**, College Park, v. 20, n. 1, p. 8-14, 1991.

GUAGLIUMI, P. Pragas da cana-de-açúcar. Nordeste do Brasil. Serviço de documentação do Instituto do Açúcar e do Alcool (Atualmente UFSCAR/Campus Araras/SP). **Coleção Canavieira**, Rio de Janeiro, n.10, p. 281-521, 1972.

GRATWICK, M. The contamination of insects of different species exposed to dust deposits. **Bulletin Entomological Research**, Farnham Royal, v.48, p.741-753, 1957.

HALL, D.G.; NUESSLY, G.S.; GILBERT, R.A.. **Sugarcane borer in Florida**. EDIS. <http://edis.ifas.ufl.edu/SC011> 4 Apr2007.

HILL, T.A.; FOSTER, R.E. Effect of insecticides on the diamondback moth (Lepidoptera: Plutellidae) and its parasitoid *Diadegma insulare* (Hymenoptera: Ichneumonidae). **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v.93, n.3, p. 763-768, 2000.

HASEEB, M; LIU, T. X.; JONES, W.A. Effects of selected insecticides on *Cotesia plutellae*, endoparasitoid of *Plutella xylostella*. **BioControl**, Dordrecht, v. 49, p33–46, 2004.

IANNONE, N., 2002. **Servicio técnico** *Diatraea* en maíz. INTA Pergamino. www.elsitioagricula.com/plagas/intapergamino/diatraea20020502.asp

INOVABRASIL: 29 Jul2008. Disponível em:
<http://inovabrasil.blogspot.com/2008_07_29_archive.html >. Acesso em: 8 set.2008.

INSETICIDE RESISTANCE ACTION COMMITTEE. **The IRAC e-Classification**: an interactive mode of action (MoA) tool. Disponível em: <http://www.irac-online.org/eclassification/>. Acesso em: 25 nov. 2009.

KAO, S.-S. ;TZENG, C.-C. Toxicity of insecticides to *Cotesia plutellae*, a parasitoid of diamondback moth. In: N.S. Talekar (ed), *Diamondback moth and other crucifer pests-INTERNATIONAL WORKSHOP*, 2., 10-14 Dec.1990. Tainan. **Proceedings...** Tainan: Asian Vegetable Research and Development Center, 1992. p. 287–296.

KASPI, R.; PARRELLA, M.P. Abamectin compatibility with the leafminer parasitoid *Diglyphus isaea*. **Biological Control**, Orlando, v. 35, p. 172-179, 2005.

KRESPI, L.; RABASSE, J.M.; DEDRYVER, C.A.; NENON, J.P. Effect of three insecticides on the lyfe cycle of *Aphidius uzbekistanicus* Luz. (Hymenoptera: Aphidiidae). **Journal of Applied Entomology**, Berlin, v. 111, p. 113-119, 1991.

LEORA SOFTWARE,. **POLO-PC**: Probit and Logit analysis. Berkeley, :LeOra Software, 1997.

LI, Z.M., LIU, Y.Q.,; LIU, S.-S. Lethal and sublethal effects of spinosad on the parasitoid *Cotesia plutellae*. **Chinese Journal Pesticide Sciences**, Beijing, v.7, p.24–28, 2005

LI, Z.M., WANG, W.L., WU, H.M., LIU, S.S., LIU, Y.Q., TANG, Z.H. Detection and analysis of spinosad residue in the body Xuid of *Cotesia plutellae* larvae with HPLC. **Acta Entomologica Sinica**. Beijing, v.49,p. 137–141, 2006.

LIU, S.-S.; LI, Z.-M.; LIU, Y.-Q.; FENG, M.-G., TANG, Z.-H. Promoting selection of resistance to spinosad in the parasitoid *Cotesia plutellae* by integrating resistance of hosts to the insecticide into the selection process. **Biological Control**, Orlando, v. 41, p.246–255, 2007.

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

MACEDO, N.; BOTELHO, P.S.M.; DEGASPERI, N.; ALMEIDA, L.C.; ARAÚJO, J.R.; MAGRINI, E.A. **Controle biológico da broca da cana-de-açúcar**: manual de instrução. Piracicaba: IAA, Planalsucar, 1983. 22p.

MANI, M.; KRISHNAMOORTHY, A. Toxicity of some insecticides to *Apanteles plutellae*, a parasite of diamondback moth. **Tropical Pest Management**, Wellington, v.30, p.130-132, 1984.

MAPA /SPAEE, 2007. Balanço Nacional de cana -de - açúcar e Agroenergia, Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br/>>.Cana-de-Açúcar e Agroenergia/Estatística. Acesso em: 4 ago. 2008.

MAPA /Agrofit, 2010. Sistema de Agrotóxicos Fitossanitários, Disponível em: <http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons>.Coordernacao-Geral de Agrotóxicos e Afins. Acesso em: 16 fev. 2010.

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

MOULTON, M. E., R. A. HIGGINS, S. M. WELCH, A; F. L. POSTON. 1992. Mortality of second-generation immatures of the southwestern corn borer (Lepidoptera: Pyralidae). **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v.85, p.963-966,1992.

MUZEYI, S.S. ; JEMBERE, B. Effects of botanicals, a synthetic insecticide and an insect growth regulator on survival and development of the parasitoid wasp *Cotesia flavipes* parasitising the stem-boring moth *Chilo partellus*. **International Journal of Pest Management**, London, v.51, n.1,p. 25-30 2005.

PARRA, J.R.P. Controle das principais pragas da cana de açúcar. In: CÂMARA, G.M.S.; OLIVEIRA. E.M. de (Ed.). **Produção de cana de açúcar**. Piracicaba: FEALQ. 1993. p. 184-197.

PARRA, J.R.P. **Técnicas de criação dos insetos para programas de controle biológico**. Piracicaba: FEALQ, 1999. 137p.

PARRA, J.R.P.; BOTELHO, P.; CORRÊA-FERREIRA, B.S.; BENTO, J. **Controle Biológico no Brasil**: Parasitoides e Predadores. São Paulo:Manole, 2002. 586 p.

PETER, C.; DAVID, B.V. Comparative toxicity of some insecticides to *Apanteles taragamae* (Hymenoptera: Braconidae). **Tropical Pest Management**, Wellington,v. 34, p.402-403,1988.

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

REAY-JONES, F.P.F.; AKBAR, W.; MCALLISTER, C.D.; REAGAN, T.E.; OTTEA, A.J. Reduced Susceptibility to Tebufenozide in Populations of the Sugarcane Borer (Lepidoptera : Crambidae) in Louisiana. **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v.98, n.3,p.955-960, 2005.

RICHARDS, O.W.; DAVIES, R.G. **Imm's general textbook of entomology**. London: Chapman & Hall, v.1, 1977.418 p.

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

RODRIGUEZ-DEL-BOSQUE, L. A.; SMITH JR, J. W.;BROWNING, H. W. 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, p. 850-855, 1990.

ROE, R.M.; HAMMOND, JR. A.M., SPARKS,T.C. Growth of larval *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Pyralidae) on an artificial diet and synchronization of the last larval stadium. **Annals of the Entomological Society of America**, Lanham, v.75, p.421-429, 1982.

SAS INSTITUTE. **User's manual, version 8.0**. Cary, NC :SAS Institute,. 1999.

SCHNEIDER, M.I. SMAGGHE, G.; PINEDA, S.; VINUELA, E. Action of insect growth regulator insecticides and spinosad on life history parameters and absorption in third-instar larvae of the endoparasitoid *Hyposoter didymator*. **Biological Control**, Orlando, n.30, p. 127-133, 2004.

SEGATO, S.V.; PINTO, A de S.; JENDIROBA, E.; NÓBREGA, J.C.M de. (Org.). **Atualização em produção de cana-de-açúcar**. Piracicaba: Alexandre de Sene Pinto, 2006, 415p.

STAPEL, J.O., CORTESERO, A.M., LEWIS, W.J. . Disruptive sublethal effects of insecticides on biological control: altered foraging ability and life span of a parasitoid after feeding on extrafloral nectar of cotton treated with systemic insecticides. **Biological Control**, Orlando,v. 17, p.243–249, 2000.

STARK, J.D.;BANKS, J.E. Population-level effects of pesticides and other toxicants on arthropods. **Annual Review Entomology**, Palo Alto, v.48:p.505-519, 2003.

STARK, J.D.; VARGAS,R.; BANKS, J.E. Incorporating ecologically relevant measures of pesticide effect for estimating the compatibility of pesticides and biocontrol agents. **Journal of Economic Entomology**, Lanham,v.100, n.4, p.1027-1032, 2007.

STARK, J.D., WONG T.T.Y, VARGAS, R.I., THALMAN, R.K.. Survival, longevity, and reproduction of tephritid fruit by parasitoids (Hymenoptera: Braconidae) reared from fruit bies exposed to azadirachtin. **Journal of Economic Entomology**, Lanham,v. 85, p.1125-1129, 1992.

VETORELLI, M.P.; MASCHIO, L.R.; ALMEIDA, J. C.B. Dados parciais sobre as diferenças entre a razão sexual da prole de *Cotesia flavipes* Cameron, 1981 (Hymenoptera, Braconidae) em condições laboratoriais: **Resumo. Anais do simpósio de pesquisa: Biológicas**. 05 a 07 out. 1999. Disponível em: <<http://www.unirpnet.com.br/Pesquisa/Anais/bio.html>>. Acesso em: 28 ago. 2008.

WALTHALL, W.K.; STARK, J.D. Comparison of two population-level ecotoxicological endpoints: the intrinsic (r_m) and instantaneous (r_i) rates of increase. **Environmental Toxicology and Chemistry**, New York, v. 16, n. 5, p. 1068-1073, 1997.

WADDILL, V.H. Contact toxicity of four synthetic pyrethroids and methomyl to some adult insect parasites. **Florida Entomologist**., Jupiter Beach, v. 61, p.27-30,1978.

WILKINSON, J.D.;BIEVER, K.D.;IGNOFFO, C.N. Synthetic pyrethroid and organophosphate insecticides against the parasitoid *Apanteles marginiventris* and the predators *Geocoris punctipes*, *Hippodamia convergens* and *Podisus maculiventris*. **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v.72, p.473-475, 1979.